



VETERINÁRNÍ MEDICÍNA

8

ROČNÍK 19 (XLVII)
PRAHA
SRPEN 1974
CENA 10 Kčs

ČESKOSLOVENSKÁ AKADEMIE ZEMĚDĚLSKÁ
ÚSTAV VĚDECKOTECHNICKÝCH INFORMACÍ

VETERINÁRNÍ MEDICÍNA

Řídí redakční rada

Prof. MVDr. Emanuel Král (předseda), prof. MVDr. Koloman Boďa, DrSc., doc. MVDr. Jan Čarvaš, CSc., prof. MVDr. Jaroslav Dražan, CSc., MVDr. Miroslav Dvořák, CSc., MVDr. Miloš Halaša, CSc., prof. MVDr. Antonín Holub, DrSc., doc. MVDr. Jozef Hrušovský, DrSc., MVDr. Jaromír Lát, CSc., MVDr. Andrej Mačička, CSc., doc. MVDr. Ladislav Polák, CSc., MVDr. Jiří Srna, prof. MVDr. Jaroslav Vrtiak, DrSc.

Vedoucí redaktorka ing. Jovanka Václavíčková

© Ústav vědeckotechnických informací, Praha 1974

Vědecký časopis VETERINÁRNÍ MEDICÍNA uveřejňuje studie, rozbor a vědecká pojednání o vyřešených úkolech výzkumu z oboru veterinární medicíny. Vydává Ústav vědeckotechnických informací. Vychází měsíčně. Redakce: 120 56 Praha 2, Slezská 7, telefon 257541. Celoroční předplatné Kčs 120,—.

Научный журнал VETERINÁRNÍ MEDICÍNA публикует обзоры, анализы и научные статьи о разрешенных задачах по научному исследованию в области ветеринарии. Издает Институт научно-технической информации. Выход в свет ежемесячно. Редакция 120 56 Прага 2, Слезска 7.

The scientific journal VETERINÁRNÍ MEDICÍNA publishes studies, analyses and scientific treatises about the solved research tasks in the line of the veterinary medicine. Published by the Institute of Scientific and Technical Information. Issued monthly. Editorial office 120 56 Prague 2, Slezská 7.

Die wissenschaftliche Zeitschrift VETERINÁRNÍ MEDICÍNA veröffentlicht Studien, Analysen und wissenschaftliche Abhandlungen über die gelösten Forschungsaufgaben auf dem Gebiete der Veterinärmedizin. Herausgegeben von Institut für wissenschaftlich-technische Informationen. Erscheint monatlich. Redaktion 120 56 Prag 2, Slezská 7.

Le journal scientifique VETERINÁRNÍ MEDICÍNA publie les études, analyses et traités scientifiques concernant les tâches de recherches résous dans le domaine de médecine vétérinaire. Publié par l'Institut des Informations Scientifiques et Techniques. Paraît und fois par mois. Rédaction 120 56 Prague 2, Slezská 7.

CELOROČNÁ PUFRÁCIA KŔMNEJ DÁVKY MONTMORILLONITOM (BENTONITOM) U DOJNÍC A JEJ VPLYV NA ZDRAVOTNÝ STAV, HEMATOLOGICKÉ A BIOCHEMICKÉ UKAZOVATELE

L. Slanina, J. Sokol, J. Lehocký, I. Rosival

Vysoká škola veterinárska, Košice

SLANINA L., SOKOL J., LEHOCKÝ J., ROSIVAL I. Celoročná pufrácia kŕmnej dávky montmorillonitom (bentonitom) u dojníc a jej vplyv na zdravotný stav, hematologické a biochemické ukazovatele. Vet. Med. (Praha) 19 (8) : 463-472, 1974.

V priebehu jedného hospodárskeho roka sa u dojníc sledoval vplyv pufrácie kŕmnej dávky montmorillonitom (bentonitom) vo forme 2%, resp. 3% prísady v kŕmnej zmesi dojníc za účelom prevencie acidobázických porúch. Skrmovanie sme previedli v piatich chovoch u slovenského strakatého a čiernostrakatého dobytky s úžitkovosťou 2800 až 4000 l na 566 pokusných a 385 kontrolných dojniciach. Celoročná pufrácia mala pozitívny vplyv na výskyt ulahnutí po pôrode, na graviditu dojníc a natalitu teliec. Z metabolických ukazovateľov sa pufrácia pozitívne (významne) prejavila na hladinách alkalickrej rezervy krvnej plazmy a zabránila výskytu hypokalcémii a hypomagneziemií. Pozitívny regulačný vplyv sa ukázal pri letnej hyperfosfatémii, ktorá sa u pokusných zvierat buď nevyskytovala, alebo bola štatisticky významne znížená. Výsledky klinického, hematologického a biochemického sledovania pufrácie kŕmnej dávky poukazujú na jej pozitívny efekt a potrebu celoročnej aplikácie v našich chovoch dojníc.

pufrácia kŕmnej dávky dojníc; montmorillonit; bentonit; acidobázická rovnováha; hypokalcémia; hypomagneziemia; hyperfosfatémia

V predchádzajúcich prácach (Slanina a kol. 1973a, b) sme poukázali na doterajšie výsledky experimentálnych metód pufrácie kŕmnej dávky u hovädzieho dobytky v zahraničí a u nás. Naše krátkodobé experimenty potvrdili, že montmorillonit v 2 a 3% koncentrácii v kŕmnej zmesi u dojníc a výkrmového dobytky nemal nepriaznivý vplyv na zdravotný stav a vhodne upravoval bachorové prostredie, najmä bachorovú mikroflóru, bachorovú aciditu a hodnoty prchavých mastných kyselín. Súčasne zlepšoval retenciu dusíka a hodnoty sérového vápnika. Širšie využitie pufrácie kŕmnej dávky u dobytky v prevádzke z literatúry nám nie je známe.

Sľubné výsledky našich experimentov s pufráciou ako aj krátkodobé (2 mesiace) skrmovanie pufru v terénnych podmienkach u dojníc nás viedli k sledovaniu celoročnej pufrácie kŕmnej dávky u dojníc v chovoch s rôznou úžitkovosťou, u rozličných rás, ako aj v rozdielnych geografických oblastiach SSR.

MATERIÁL A METÓDY

Pufráciu kŕmnej dávky montmorillonitom (bentonitom) sme prevádzali v piatich chovoch Východoslovenského a Stredoslovenského kraja, celkove u 566 dojníc, pričom ďalších 385 dojníc sa kŕmilo kŕmnymi zmesami toho istého zloženia, ale bez prídavku pufru; tieto dojnice slúžili ako kontroly. Bentonit sa pridával k bežnej kŕmnej zmesi podľa návodu receptúry na rok 1971 v 2 a 3 % koncentrácii; kŕmne zmesi sa pripravovali vo VKZ. Skrmovanie týchto zmesí s prídavkom bentonitu u pokusných zvierat sa prevádzalo kontinuálne v priebehu celého hospodárskeho roku od 1. septembra 1972 do 31. augusta 1973 (s výnimkou chovu C). Zloženie pufru a jeho vlastnosti uvádzame v predchádzajúcej práci (S l a n i n a a kol. 1973b).

Odber krvi s cieľom sledovať ukazovatele zdravotného stavu sme previedli štyrikrát, každý štvrtý raz, od tých istých zvierat. V každom chove sme sledovali 7 kusov z pokusnej a 7 kusov z kontrolnej skupiny. Z biochemických ukazovateľov hodnotíme: sérový vápnik, horčík, anorganický fosfor, alkalickú rezervu, alkalickú fosfatázu, transaminázy (GOT, GPT), glutamátdehydrogenázu, celkové bielkoviny, amoniak a močovinu a z krvného obrazu hemoglobín a hematokrit. Použili sme metodiky uvedené v predchádzajúcej práci (S l a n i n a a kol. 1973a).

Z klinických ukazovateľov bol sledovaný v priebehu celého roka vplyv podávaného bentonitu na všeobecný zdravotný stav, chuť do žrania a prípadný výskyt nežiadúcich príznakov u pokusných zvierat v porovnaní s kontrolami.

Pred započatím pokusu bol pufer vyšetrený bakteriologicky na prítomnosť anaerobných baktérií.

CHARAKTERISTIKA CHOVŮ

A. J R D B u z i c a

Dojnice slovenské strakaté, rôzneho veku v počte 166 bolo rozdelených na dve skupiny — 83 pokusných a 83 kontrolných. Kŕmenie: bielkovinová kŕmna zmes DOB 3 kg/kus a deň, kukuričná siláž (II. tr.) 30 kg, pastva máj — august, v zime 1 kg lucerkovej múčky. Úžitkovosť v r. 1971: 6,1 l kontrolná a 6,9 l pokusná skupina, v r. 1972 7,7 l kontrolná a 7,2 l pokusná skupina.

U pokusnej skupiny bol bentonit pridávaný v 3 % koncentrácii.

B. J R D D r i e n o v e c

Dojnice slovenské strakaté, rôzneho veku, 49 pokusných a 40 kontrolných. Kŕmenie: kŕmna zmes DOB 4 kg/kus a deň, kukuričná siláž, seno a repné skrojky *ad libitum*, v lete pastva. Úžitkovosť v r. 1972: 12,4 l kontrolná a 8,2 l pokusná skupina.

Bentonit u pokusnej skupiny pridávaný v 2 % koncentrácii.

C. Š M V a l a l i k y

Dojnice dánske, čiernostrakaté, rôzneho veku. Pokus prevádzaný v dvoch maštaliach u 140 pokusných a 140 kontrolných zvierat. Kŕmenie: vysokoprodukčná kŕmna zmes DOVT 4 kg/kus a deň, kukuričná siláž s vyšším obsahom sušiny 40 kg a lucerková múčka 1 kg. Sezónne repa 7—8 kg, repné skrojky.

Úžitkovosť v chove v r. 1971 a 1972 9—12 l. U pokusných zvierat bola použitá 3 % koncentrácia bentonitu.

Pokus prebehol z technických príčin od 7. septembra 1972 do 13. novembra 1973.

D. J R D P o n i k y

Dojnice slovenské strakaté, rôzneho veku. Pokusné v počte 270 kusov, ustajnené v troch kravínoch, kontrolné v počte 98 v jednom kravíne. Kŕmenie: kŕmna zmes DOB 2,5 kg/kus a deň, lúčne seno 10 kg, senáž (kukuričná, ďatelinová) 15 kg, pivovarské mláto 5 kg. Úžitkovosť v chove v r. 1972 3400 l.

U pokusných zvierat bola použitá 3% koncentrácia bentonitu.

E. J R D R o k y t n í k

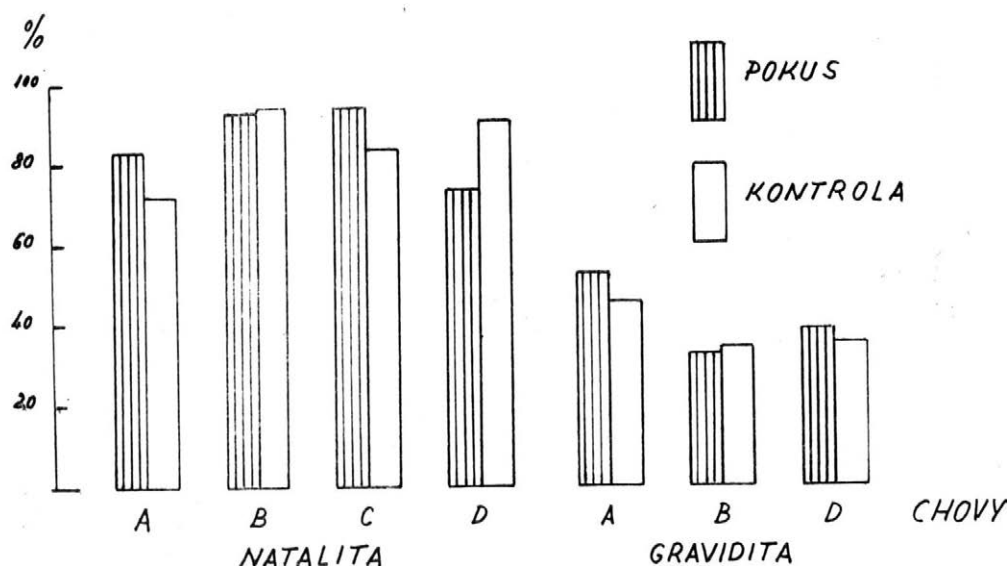
Dojnice slovenské strakaté, rôzneho veku, držané dva roky na kukuričnej monodiéte. Z celého chovu vybrané 23 pokusných a 23 kontrolných kráv. Kŕmenie: kŕmna zmes DOB 2,5 kg/kus a deň a 36 kg kukuričnej siláže s močovinou (25 % sušiny), monodiéta po celý rok.

Úžitkovosť stáda v r. 1972 3250 l.

U pokusných zvierat bola použitá 3% koncentrácia bentonitu v kŕmnej zmesi.

V Ý S L E D K Y

Natalita teliec a gravidita dojníc je znázornená na obr. 1; hodnoty hematokritu, hemoglobínu a celkových sérových bielkovín na obr. 2. Hodnoty alkalické rezervy vidieť z obr. 3, hodnoty sérového vápnika, horčíka a anorganického fosforu na obr. 4, hodnoty transamináz GOT a GPT a alkalické fosfatázy na obr. 5. Koncentrácia amoniaku, močoviny a aktivita dehydrogenázy kyseliny glutámovej v krvnej plazme a krvi dojníc je zachytená v tab. I.

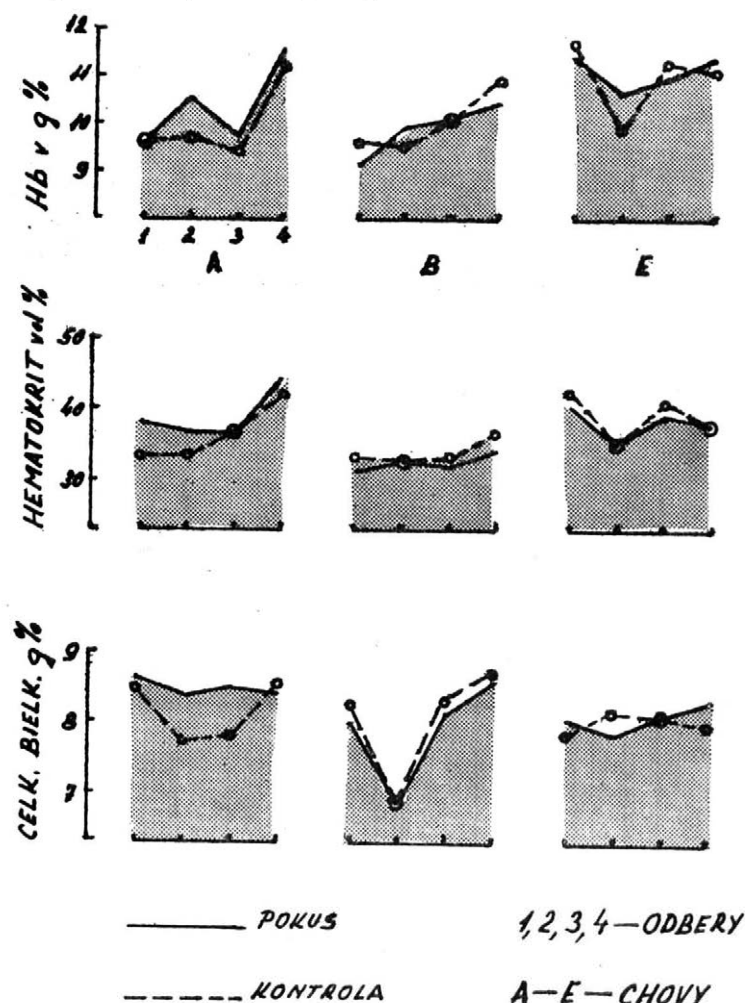


1. Natalita teliec a gravidita dojníc ku koncu ročného sledovania

I. Koncentrácie amoniaku, močoviny a aktivita dehydrogenázy kyseliny glutamovej

JRD Buzica (3 % bentonitu)			
Pokusné $n = 7$	dátum	NH_3^+	močovina ⁺⁺
	24. 1. 1973	0,19 0,13–0,21	20,3 14,6–27,1
	26. 6. 1973	0,17 0,14–0,21	15,5 12,1–19,8
Kontrolné $n = 7$	24. 1. 1973	0,18 0,11–0,20	19,7 13,3–20,9
	26. 6. 1973	0,19 0,14–0,23	13,0 11,0–18,4

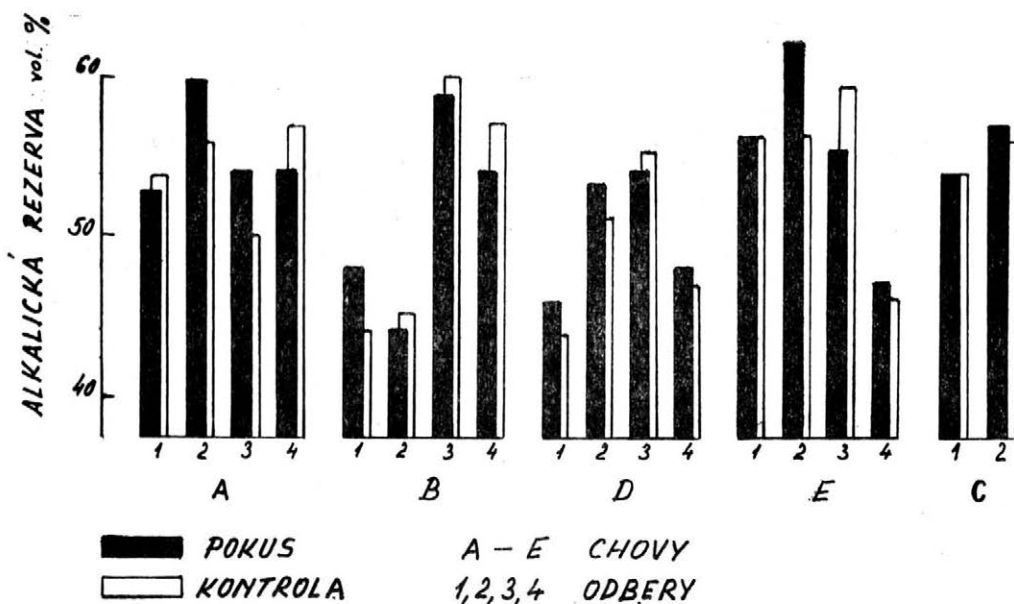
+ mg $\text{NH}_3\text{-N}$ 100 ml⁻¹ krvi

++ mg N-močoviny 100 ml⁻¹ plazmy


2. Hodnoty hemoglobínu, hematokritu a celkových bielkovín krvného séra v priebehu jednoročného skrmovania pufru

JRD Drienovec (2 % bentonitu)				
	dátum	NH ₃ ⁺	močovina ⁺⁺	dehydrogenáza kyseliny glutamovej ⁺⁺⁺
Pokusné <i>n</i> = 5	16. 1. 1973	0,10 0,09–0,15	16,7 13,0–19,8	0,4 0,2–0,4
	27. 6. 1973	0,19 0,16–0,22	18,0 14,1–21,7	
Kontrolné <i>n</i> = 5	16. 1. 1973	0,12 0,08–0,15	18,2 14,1–20,4	0,4 0,2–0,6
	27. 6. 1973	0,20 0,16–0,23	18,6 14,8–25,2	

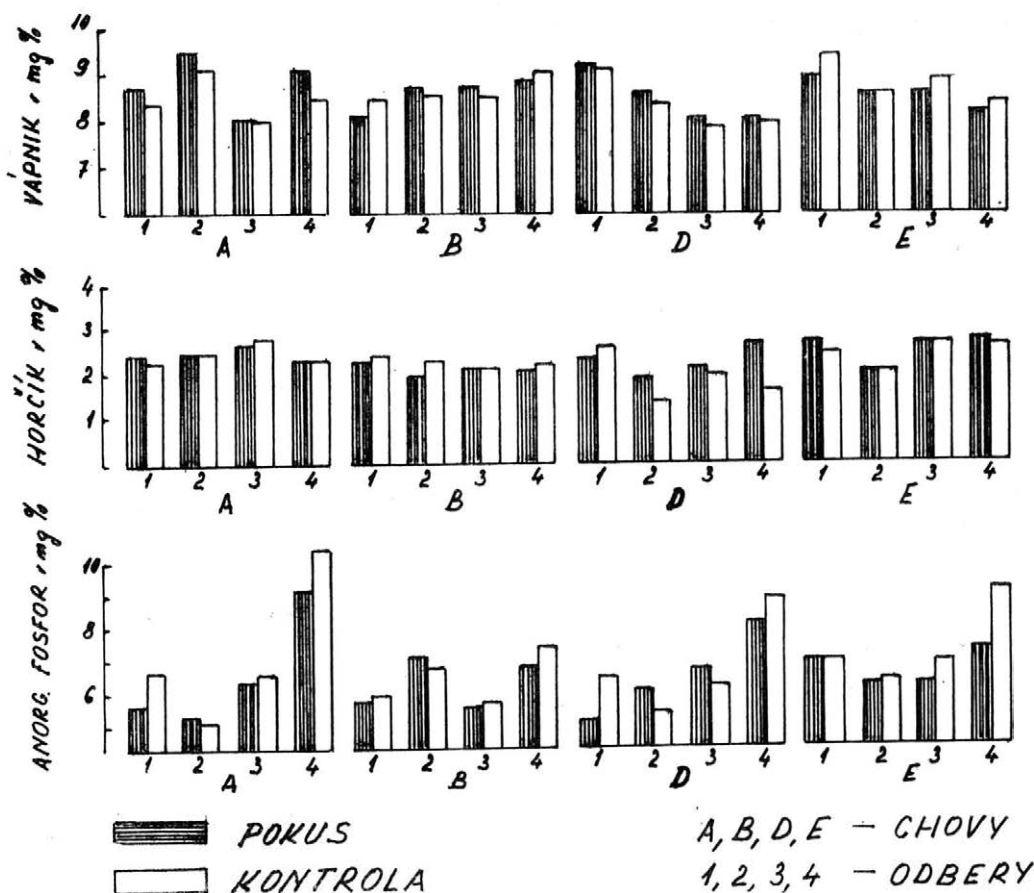
+++ μ Mol/min. 100 ml⁻¹ plazmy



3. Hodnoty alkalické rezervy krvnej plazmy

ZHODNOTENIE A DISKUSIA

Sezónne kolísanie kŕmnej dávky dojnic, najmä vysokoúžitkových v našich podmienkach, vedie v určitých ročných obdobiach ku kolísaniu živín, k rozdielnym koncentráciám bachorových metabolitov (Slanina, Cabada 1967) a k narušeniu acidobázických pomerov v bachore a v krvi (Slanina 1967, 1970, Lebeda 1971, Poulsen 1972 a iní). V priebehu roka sú to najmä tri kritické obdobia: 1. september–december (obdobie skrmovania ľahkostraviteľných glycidov), 2. február–apríl (obdobie skrmovania siláží v nižšej kvali-

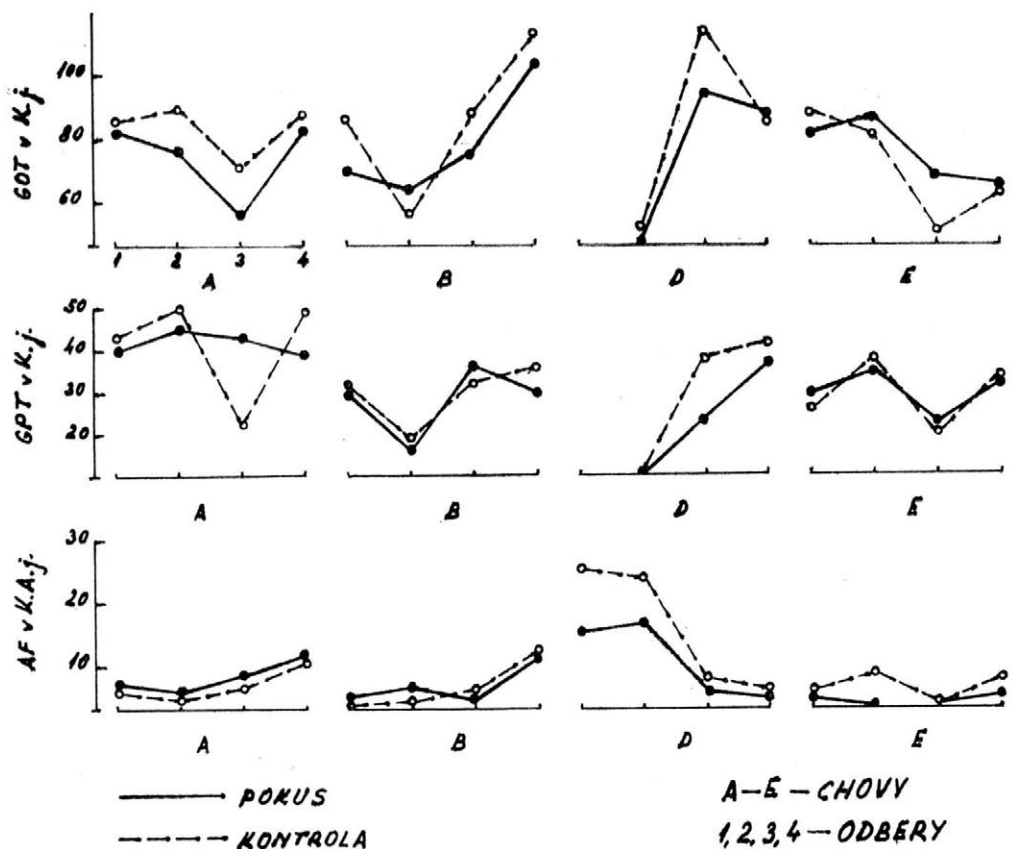


4. Hodnoty sérového vápníka, horčíka a anorganického fosforu

te), 3. máj (prechodné obdobie na pastvu alebo zelené). U dojnic s aktuálnou dojivosťou nad 10 až 15 l ani pastevné obdobie nevedie k homeostáze (Poulsen 1972). To potvrdili aj naše kontrolné skupiny dojnic, že i pri pastve v auguste a septembri tieto zvieratá vykazujú odchýlky v acidobázických pomeroch.

Tieto skutočnosti nás viedli k sledovaniu celoročnej pufrácie kŕmnej dávky dojnic montmorillonitom, ktorý v experimentálnych a krátkodobých prevádzkových podmienkach mal priaznivý vplyv na ich zdravotný stav. Aplikácia cestou krmivárskeho priemyslu vo forme 2–3% prímеси do kŕmnych zmesí vyhovovala priemyselným podmienkam chovu. Výberom chovov v nížinnej i podhorskej oblasti s rozdielnou úžitkovosťou (hodnotenie v ďalšom zdelení) a u rozdielnych rás a výživy sme sledovali možnosť jeho uplatnenia v rozdielnych podmienkach chovu dobytka na Slovensku.

Všeobecný zdravotný stav za celý rok nevybočil z fyziologických medzí a oproti kontrolám neboli v štyroch z piatich chovov zistené nijaké rozdiely. V jednom chove (D) so značným výskytom ťažkosti dojnic po pôrode bol v pokusnej skupine výskyt o 51 % nižší ako u kontrolnej. Sledovaná natalita teliec a gravidita dojnic (obr. 1) bola v troch zo štyroch sledovaných chovov priaznivejšia u pokusných, vo dvoch z nich veľmi výrazne (až o 16 %).



5. Hodnoty transamináz GOT a GPT a alkalickéj fosfatázy

Zdravotný stav kontrolovaný hematologickým a biochemickým sledovaním ukázal, že pufrácia kŕmnej dávky mala zvlášť pozitívny vplyv na hladiny alkalickéj rezervy (obr. 3), hodnoty sérového vápnika, horčíka a anorganického fosforu.

Hladiny alkalickéj rezervy mali u pokusných skupín v priebehu roka v porovnaní s kontrolnými priaznivejší priebeh. V štyroch chovoch (A, B, D, E) došlo k zreteľnému vzostupu priemerných hodnôt už v druhom kvartáli a ďalších štatisticky preukazne na 2% hladine významnosti (A, E) oproti kontrolám. Jedine chov B vykazoval nepriaznivejšiu tendenciu ako kontroly.

Hematologické ukazovatele (obr. 2) z chovov A, B, E vykazovali kolísanie vo fyziologickom rámci tak u pokusných ako aj u kontrol. Mierne priaznivejší trend u pokusných zaznamenal hemoglobín, hoci rozdiely neboli výrazné. Celkové bielkoviny krvného séra vo dvoch chovoch mali rovnakú tendenciu v oboch skupinách, kým v jednom chove (A) pokusné zvieratá zaznamenali zreteľne priaznivejší priebeh.

Fermenty odrážajúce funkciu pečene a kostotvorného systému nevykazovali v skupinách a chovoch podstatnejšie odchýlky. Hladiny transamináz GOT i GPT

(obr. 5), GLDH (tab. I) sa v podstate nelíšili v skupinách, len transaminázy GOT a GPT v chove B a D v treťom, resp. štvrtom kvartáli v oboch skupinách stúpili nad fyziologickú medzu, výraznejšie u kontrol. Alkalická fosfatáza u kontrol a pokusných sa v podstate nelíšila.

Sérový vápnik v troch chovoch (A, B, D) mal počas sledovania priaznivejší priebeh oproti kontrolám, v jednom chove (C) sme rozdiely nezaznamenali (na obr. neuvedené) a v jednom chove (E) boli priemerné hodnoty nepatrne nižšie (štatisticky nevýznamne) u pokusných ako u kontrol v troch kvartáloch. Kritické jarné obdobie sa prejavilo všeobecnou zostupnou tendenciou v hladinách pokusných i kontrolných, ktoré však boli priaznivejšie u pokusných. U kontrol sa dostavili v jarnom a letnom období aj hypokalcémie.

Sérový horčík v troch chovoch (A, B, C) (posledný chov nepodchytený graficky) mal rovnakú tendenciu v priebehu roka u kontrol a pokusných zvierat, v jednom chove (D) mal u pokusných po celý rok vyrovnanú hladinu, kým u kontrol došlo v 2., 3. a 4. kvartáli k štatisticky významnej hypomagneziémii (na 2% hladine), spojenej s vysokým výskytom klinického uľahnutia. V piatom chove (E) mal horčík u pokusných priaznivejší priebeh ako u kontrolných (nevýznamne).

Anorganický fosfor v jednotlivých chovoch a skupinách nezaznamenal pokles pod dolnú fyziologickú normu. V chovoch A, D, E v poslednom kvartáli (pastva) enormne stúpol nad fyziologickú hranicu. Hyperfosfatémia bola zvlášť výrazná u kontrol (A, D, E), kým u pokusných sa vyskytla len v chove A. Rozdiely v hladinách v tomto období boli medzi kontrolnými a pokusnými štatisticky významné (A, E) na 2% hladine významnosti.

Metabolizmus dusíka, súdiac podľa hodnôt jednoduchých dusíkatých látok, amoniaku a močoviny, nebol nijako nepriaznivo ovplyvnený, nakoľko hodnoty u pokusných i kontrolných zvierat nevykazovali odchýlky od fyziologických medzí, ani navzájom sa významne nelíšili.

Prevedené jednorôčné sledovanie pufrácie kŕmnej dávky u dojnic potvrdili výsledky experimentálnych pokusov a krátkodobej pufrácie (Slanina a kol. 1973a, b) v celej šírke. Takéto dlhodobé sledovanie dávalo možnosť odhaliť nepriaznivé, ako aj posúdiť pozitívne vplyvy pufrácie na zdravotný stav, najmä v kritickom jarnom období (tretí sledovaný kvartál), kde tak klinické, ako aj hematologické a biochemické ukazovatele boli priaznivejšie u pokusných. Vysokopozitívny efekt pufrácie kŕmnej dávky bentonitom v užitočnosti bude predmetom ďalšieho zdelenia.

Pri celkovom zhodnotení pufrácie sa táto ukázala byť pozitívnou v natalite a gravidite, vo vplyve na výskyt uľahnutia dojnic a v metabolických ukazovateľoch na hladiny sérového vápnika, horčíka a fosforu. Významný vplyv na alkalickú rezervu má zvláštny význam pri súčasne vysokom výskyte acidóz v našich podmienkach (podľa Lebedu 1973 60 % vyšetrení).

Do tejto súvislosti možno zaradiť aj pozitívny regulačný vplyv na hyperfosfatémiu, ktorá u pokusných sa buď nevyskytla, alebo bola na podstatne nižších úrovniach (štatisticky významných).

Z uvedených zistení vyplývajú aj indikácie pufrácie kŕmnej dávky, ako aj názor na potrebu jej celoročného prevádzania v našich podmienkach u dojnic.

Zatiaľ otvorenou otázkou ostáva koncentrácia pufru v kŕmnej zmesi dojnic. Nami použitá koncentrácia 2–3% pufru v zmesi po predchádzajúcom experimentálnom a celoročnom terénnom preskúšaní sa ukázala byť vhodnou.

Literatúra

- LEBEDA M., 1971, Acidobazická fyziologie a patofyziologie hospodárskych zvierat se základy detekce a terapie poruch. Pardubice.
- LEBEDA M., 1973, Hypomagneziémie u skotu. Veterinárství 23 : 540-542.
- POULSEN J. S. D., 1972, Variations in the Metabolic Acid-Base Balance in Dairy Herds During the Year. Nord. VetMed. 1-12.
- SLANINA L., 1967, Biochemizmus bachora a jeho využitie v klinickej diagnostike. II. Experimentálne štúdium bachorovej acidity pri krmovaní ľahkostrávitelných glycidov močoviny. Folia vet., Košice, 11, 2 : 67-76.
- SLANINA L., 1970, Klinická fyziológia a patológia zložitého predžalúdka prežúvavcov. Doktorská diz. práca, Košice.
- SLANINA L., CABADA J. R., 1967, Biochemizmus bachora a jeho využitie v klinickej diagnostike. I. Bachorová acidita pri bežných krmných dávkach. Folia vet., Košice, 11, 2 : 59-66.
- SLANINA L., LEHOCKÝ J., SOKOL J., ROSIVAL I., BURDOVÁ O., 1973a, Pufrácia krmnej dávky montmorillonitom (bentonitom) u prežúvavcov v experimentálnych podmienkach. Vet. Med. (Praha) 18, 8 : 465-474.
- SLANINA L., SOKOL J., LEHOCKÝ J., ROSIVAL I., ŽUREK A., 1973b, Krátkodobá pufrácia bachora montmorillonitom u výkrmového dobytka v terénnych podmienkach. Vet. Med. (Praha) 18, 12 : 725-732.

Došlo dne 21. 1. 1974

СЛАНИНА Л., СОКОЛ Я., ЛЕГОЦКИ Я., РОСИВАЛ И. (Ветеринарный институт, Кошице, Чехословакия). Круглогодичная буферация кормового рациона монтмориллонитом (бентонитом) у дойных коров и ее влияние на состояние здоровья, на гематологические и биохимические показатели. Vet. Med. (Praha) 19 (8) : 463-472, 1974.

На протяжении одного хозяйственного года у дойных коров наблюдали за буферацией кормового рациона монтмориллонитом (бентонитом) в форме 2 % или 3 % добавки в кормовую смесь коров в целях предупреждения кислотно-щелочных расстройств. Эта добавка применялась в пяти стадах у словацкой пестрой и черно-пестрой пород с продуктивностью 2800—4000 литров, а именно у 566 подопытных и 385 контрольных коров. Круглогодичная буферация оказала положительное влияние на забеременевание после отела, на стельность коров и рождаемость телят. Из метаболических показателей буферация весьма значительно отразилась на уровнях щелочного резерва кровяной плазмы и предупредила случаи гипокальциемии и гипомagneзиемии. Положительное регулирующее влияние проявилось при летней гиперфосфатемии, которая у подопытных животных или вовсе не появилась, или была статистически весьма существенно понижена. Результаты клинического, гематологического и биохимического изучения буферации кормового рациона свидетельствуют о ее положительном эффекте и о необходимости ее круглогодичного применения в наших стадах дойных коров.

буферация кормового рациона дойной коровы; монтмориллонит; бентонит; кислотно-щелочное равновесие; гипокальциемия; гипомagneзиемия; гипофосфатемия

SLANINA L., SOKOL J., LEHOCKÝ J., ROSIVAL I. (University School of Veterinary Medicine, Košice, Czechoslovakia). *The All-year Buffering of the Feed Ration by Means of Montmorillonite (Bentonite) for Dairy Cows and its Effect on the State of Health and on the Hematological and Biochemical Indices*. Vet. Med. (Praha) 19 (8) : 463-472, 1974.

In the course of one year dairy cows were investigated with regard to the effect of a buffering of the feed ration with montmorillonite (bentonite) in the form of a 2 p. c. or 3 p. c. supplement to the feed mixture of dairy cows, and that with the purpose of preventing acidobasic disturbances. The mixture was fed to five herds of Slovak pied and black-pied cattle with an efficiency of 2800—4000 litres of milk, and that to 566 experimental and 385 control dairy cows. The all-year buffering exercised a positive effect on the occurrence of lying down after calving, on the gravidity of dairy cows, and on the natality of calves. Of the metabolical

indices the levels of the alkaline reserve of blood plasm showed a positive (significantly) effect of the buffering, which prevented the occurrence of hypocalcemia and hypomagnesemia. A positive regulatory effect was observed in the case of summer hyperphosphatemia, which, in the experimental animals, either did not occur at all, or it was statistically significantly lowered. The results obtained in the clinical, hematological, and biochemical investigation of the buffering of the feed ration indicate its positive effect and the need for an all-year application in our herds of dairy cows.

buffering of the feed ration of dairy cows; montmorillonite; bentonite; acidobasic equilibrium; hypocalcemia; hypomagnesemia; hyperphosphatemia

SLANINA L., SOKOL J., LEHOCKÝ J., ROSIVAL I. (Veterinärmedizinische Hochschule, Košice, Tschechoslowakei). *Ganzjährige Pufferung der Futterration mit Montmorillonit (Bentonit) bei Kühen und deren Einfluß auf den Gesundheitszustand und die hämatologischen sowie biochemischen Kennwerte.* Vet. Med. (Praha) 19 (8): 463-472, 1974.

Im Verlaufe eines Jahres wurde bei Milchkühen der Einfluß der Pufferung der Futterration mit Montmorillonit (Bentonit) in Form eines 2%, bzw. 3% Zusatzes zur Futtermischung zur Prävenz azidobasischer Störungen untersucht. In fünf Zuchten des slowakischen Fleck- und schwarzbunten Niederungsviehs mit 2800 bis 4000 Liter Milchleistung wurden Montmorillonit an insgesamt 566 Versuchskühe verabreicht. Die Kontrollgruppe umfaßte 385 Kühe. Die ganzjährige Pufferung der Futterrationen hatte einen hemmenden Einfluß auf das Vorkommen von Gesundheitsstörungen bei Kühen nach dem Kalben und günstigen Einfluß auf die Gravidität der Kühe und Natalität der Kälber. Von den Kennwerten des Metabolismus hatte die Pufferung einen signifikant günstigen Einfluß auf das Niveau der Blutplasma-Alkalireserve und verhinderte das Auftreten von Hypokalzämie und Hypomagnesiämie. Ein positiver Regulationseinfluß zeigte sich bei der sommerlichen Hyperphosphatämie, die bei den Versuchstieren entweder überhaupt nicht, oder wesentlich verringert vorkam. Die Ergebnisse der klinischen, hämatologischen und biochemischen Untersuchungen über die Wirkungen der Futterrationspufferung bezeugten einen positiven Effekt derselben und die Notwendigkeit einer ganzjährigen Applikation dieser Maßnahme in unseren Milchkuhzuchten.

Pufferung der Futterrationen für Milchkühe; Montmorillonit; Bentonit; azidobasisches Gleichgewicht; Hypokalzämie; Hypomagnesiämie; Hyperphosphatämie

Adresa autorov:

Doc. MVDr. L. Slanina, CSc., MVDr. J. Sokol, CSc., MVDr. J. Lehocký, CSc., MVDr. I. Rosival, CSc., Vysoká škola veterinárska, Komenského 71, 041 81 Košice

ZMĚNY FRAGILITY ERYTROCYTŮ V PRŮBĚHU NUTRIČNÍ SVALOVÉ DYSTROFIE U TELAT

J. Kursá, V. Kroupová

Vysoká škola zemědělská, Praha, provozně ekonomická fakulta, České Budějovice

KURSA J., KROUPOVÁ V. *Změny fragility erytrocytů v průběhu nutriční svalové dystrofie u telat*. Vet. Med. (Praha) 19 (8): 473-480, 1974.

U telat českého strakatého plemene ve stáří 2 až 14 týdnů, vykrmovaných k ja-
tečným účelům krmnou směsí Biosan, došlo k opakovanému spontánnímu
výskytu nutriční svalové dystrofie (NSD). V terénních pokusech byla studována
osmotická rezistence červených krvinek podle hemolýzy v 0,588% NaCl a je-
jich odolnost vůči oxidační hemolýze. Telata klinicky nemocná NSD, stejně
jako telata ohrožená onemocněním vykazovala osmotickou rezistenci v prů-
měru $74,33 \pm 18,75 \%$, respektive $76,58 \pm 18,60 \%$. U souboru 24 klinicky zdra-
vých zvířat s nutriční dotací vitamínu E byla zaznamenána statisticky prů-
kazně vyšší osmotická odolnost: hemolýza dosáhla jen $55,93 \pm 12,67 \%$. Kliničtí
pacienti s probíhajícím myodystrofickým syndromem a jedinci ohrožení cho-
robným stavem prokázali značný stupeň narušení erytrocytů vůči oxidační
hemolýze, projevující se vysoce pozitivními hodnotami peroxidového testu
 $12,40 \%$ a $12,92 \%$. Červené krvinky telat s doplňkem vitamínu E v dietě byly
vůči oxidační hemolýze maximálně odolné s nulovými hodnotami peroxido-
vého testu. Výsledky vyšetření fragility erytrocytů, odrážející změnu permeabi-
lity buněčných membrán, přispívají k vysvětlení patofyziologické stránky lézí,
ke kterým dochází v průběhu nutriční svalové dystrofie a charakterizují úlohu
vitamínu E v patogenезi těchto změn. Současně ověřují použitelnost testů
k diagnostice klinických i preklinických forem NSD u skotu.

telata; white muscle disease; erytrocyty; osmotická rezistence; oxidační hemo-
lýza; vitamín E

Fyziologická a hematologická sledování hospodářských zvířat nevěnovala
zatím příliš mnoho pozornosti osmotické odolnosti červených krvinek, přestože
permeabilita buněčných membrán je v těsné souvislosti s celkovým stavem orga-
nismu. Výhoda studia stavu buněčných membrán organismu na modelu erytro-
cytů spočívá především v tom, že každá závažnější porucha permeability je pa-
trná stupněm hemolýzy.

Práce o etiopatogenezi a patofyziologii nutričních myopatií u zvířat, vzni-
kajících při přímých nebo potencionálních karencích tokoferolů a jejich syner-
gistů (Se), studovaly vztah vyvolávajících faktorů k erytrocytům převážně na
úrovni experimentálních prací. Většinou je upozorňováno na chování červených
krvinek při oxidační hemolýze (G y ö r g y a kol. 1952, C h r i s t e n s e n a kol.
1956, W a l k e r a K u m e r o w 1964) v pokusech biologicky ověřujících u la-
boratorních zvířat úlohu vitamínu E. Výsledky prokázaly protektivní účast to-
hoto vitamínu. Zvyšování odolnosti erytrocytů vůči oxidační hemolýze přitom-

ností vitamínu E bylo tak významné, že metoda byla doporučována za test vhodný pro určování tokoferolových dotací u lidí (H o r w i t a kol. 1956, D a m a S o n d e r g a a r d 1967). Z hospodářských zvířat byla oxidační hemolýza sledována B o y d e m (1968) při NSD u jehňat. O osmotické rezistenci erytrocytů u skotu byly získány dílčí informace při diagnostice jarních enzootií NSD u mladého skotu (K u r s a a kol. 1972, K u r s a 1974).

M A T E R I Á L A M E T Ó D Y

Osmotickou rezistenci erytrocytů a jejich odolnost vůči oxidační hemolýze jsme studovali u telat, sledovaných v průběhu výzkumu terénního výskytu NSD. S výjimkou několika kříženců se jednalo o telata českého červenostrakatého plemene z různých jihočeských chovů, ve stáří od 2 do 14 týdnů, zařazená do rychlovýkrmu krmnou směsí Biosan, která v různých fázích výkrmu onemocněla NSD. Klinické určení choroby bylo potvrzováno laboratorně (enzymatické nálezy — K u r s a a T e s a ř í k 1971), patomorfologicky a patohistologicky. Krev k laboratorním analýzám byla získána z *vena jugularis* při prvním vyšetření pacientů, které se uskutečňovalo v různém stadiu nemoci.

Druhý soubor (B) — kontrolní — jsou telata klinicky zdravá z provozního biologického pokusu, ve kterém byl ověřován zdravotní a produkční vliv fortifikace Biosanu vitamínem E (K u r s a a kol. 1971). Zkrmovaný Biosan obsahoval v 1 kg suché směsi 30 mg vitamínu E. Krev pokusných telat byla získána stejným způsobem na konci výkrmu před jatečným vyskladněním telat.

Třetí skupina (C) jsou telata z chovů s výskytem NSD (ze stejných skupin a kotců jako telata skupiny A), u kterých se při výskytu onemocnění neprojevovaly klinické příznaky nemoci. V původním záměru jsme chtěli výsledky vyšetření těchto klinicky bezpříznakových telat ze stejných chovů použít ke kontrole při interpretaci laboratorních nálezů. Zjišťovali jsme však, že v interieru těchto zvířat byly v jednotlivých ukazatelích rozšířeného metabolického testu odchylky, které vylučovaly použít výsledků k diferenciálnímu průkazu.

I. Statistické zhodnocení rozdílů osmotické rezistence erytrocytů u telat s NSD (A), u telat klinicky zdravých (B), a u telat s výskytem NSD — (% hemolýzy)

Soubor		<i>n</i>	$\bar{x}$	<i>s_x</i>	A : B	
A	NSD	36	74,33	18,75	<i>t</i> skutečné	statistická významnost
					4,20	++
B	b. p. n.	24	55,93	12,67	<i>A_x</i> — <i>B_x</i> 18,40	
C	praeklin.	60	76,58	18,60	B : C	
					<i>t</i> skutečné	statistická významnost
					4,98	++
					<i>B_x</i> — <i>C_x</i>	20,64

Osmotická rezistence erytrocytů byla stanovena podle hemolýzy v 0,588 % NaCl (Kroupová 1970), peroxidový test metodou uváděnou Boydem (1968). Získané nálezy jsou zaznamenány v tab. I a II. Byly statisticky vyhodnoceny *t*-testem podle Studenta. Statistická významnost mezi skupinami je v tabulkách vyjádřena pro $P < 0,01^{++}$, pro $P < 0,05^{+}$.

II. Statistické zhodnocení rozdílů peroxidového testu u telat s NSD (A), u telat klinicky zdravých (B) a u telat z chovů s výskytem NSD (C) (‰)

Soubor		<i>n</i>	$\bar{x}$	<i>s_x</i>	A : B	
A	NSD	50	12,14	5,23	<i>t</i> skutečné	statistická významnost
					4,41	++
B	b. p. n.	24	0,00	0,00	<i>A_x - B_x</i>	12,14
C	praeclin.	36	12,92	6,01	B : C	
					<i>t</i> skutečné	statistická významnost
					6,62	++
					<i>B_x - C_x</i>	12,92

VÝSLEDKY

Vyšetření osmotické odolnosti červených krvinek směřovalo ke zjištění, jak je v průběhu NSD ovlivňován jejich membránový systém. Ze statistického hodnocení vyplývají významné závislosti. Zatímco skupinový průměr stupně hemolýzy u intaktních zdravých kusů byl 55,93 % ($\pm 12,67$ %), došlo u 36 nemocných telat ke zvýšení hemolýzy až na 74,33 % ($\pm 18,75$ %), u preklinických forem byla odolnost erytrocytů inhibována ještě významněji – 76,58 % ($\pm 18,60$ %). I když se u tohoto ukazatele setkáváme s poměrně značnou variabilitou, jsou rozdíly v odolnosti erytrocytů mezi klinickými a subklinickými pacienty a mezi telaty zdravými statisticky vysoce významné (*t* skutečné = 4,2, resp. 4,9).

Rovněž průzkum odolnosti vůči H₂O₂ přinesl u sledovaných skupin rozdílné výsledky. Jestliže jsme u 24 telat přijímajících Biosan fortifikovaný vitamínem E získali při této zkoušce nulové hodnoty, přinášela vyšetření vzorků od telat s klinickými formami i u většiny bezpříznakových telat z chovů s probíhající nemocností pozitivní nálezy. Stupeň narušení systému rezistence vůči oxidační hemolýze je u zvířat s klinickými i subklinickými formami zřejmý a odráží se ve statistickém zhodnocení rozdílů mezi oběma těmito skupinami a zdravými telaty jednoznačně (*t* skutečné = 4,4 resp. 6,6). Na těchto výsledcích je pozoruhodné, že odolnost erytrocytů vůči oxidačnímu ataku u zvířat s manifestní formou NSD se téměř nelišila od nálezů jedinců, žijících ve shodných podmínkách a neprojevujících klinicky odchylky zdravotního stavu, naopak byla u nich v průměru nepatrně vyšší. Při porovnání diagnostického významu

osmotické i peroxidové rezistence zjišťujeme, že přes významnost rozdílů průměrných hodnot u obou rezistencí je spodní hranice variačního rozpětí jak ve skupině s NSD (A), tak ve skupině preklinických pacientů (C) na stejné úrovni jako u zdravých, což znamená, že jedinec postižený NSD nevykazuje vždy snížení osmotické odolnosti. U peroxidové reakce naopak postižený jedinec vykazuje vždy snížení odolnosti.

DISKUSE

Sledování osmotické rezistence erytrocytů bylo zařazeno do výzkumu na základě předchozích zkušeností (K u r s a a kol. 1972). Naznačily, že u mladého skotu v oblastech s výskytem NSD dochází na vrcholu zimního období k významnému poklesu osmotické rezistence. Vzestup procenta hemolýzy u našich pacientů je pozoruhodný. I když je spojen s velkým variačním rozpětím ve skupině, je rozdíl mezi soubory statisticky průkazný. Hledání souvislostí mezi snižující se osmotickou rezistencí červených krvinek u moribundních zvířat s NSD a mezi podstatou onemocnění se opírá o názory, přisuzující tokoferolům a jejich synergistům významnou úlohu pro permeabilitu a odolnost buněčných membrán (K ö r n e r a K l e i n e 1968, B l a ž e k a kol. 1971, S t r o h m e y e r 1973). Disproporce v permeabilitě membránových systémů jsou uváděny jako patogenetická složka různých syndromů tokoferol-selénového komplexu (encephalomalacie a exsudativní diatéza u drůbeže — D a m a S o n d e r g a a r d 1967, sklon k transsudacím při NSD skotu — O k s a n e n 1965). Za vážný symptom poškozených membrán, při jehož vzniku se za disbalance biologických antioxidantů uplatňuje vliv nenasycených mastných kyselin, považují T s e n a C o l l i e r (1960) právě sklon erytrocytů k hemolýze. Popisovaný atak, postihující i jiné buňky a jejich intracelulární útvary — mitochondrie, mikrosomy, lysosomy — může vést nejen k funkčním poruchám, ale přímo k poškození až zániku buňky (L a m a n d 1965). Funkční poškození až destrukce vedou mezi jinými k uvolňování enzymů do extracelulární tekutiny a k hyperenzymemiím, které jsou pravidelnou složkou obrazu NSD (O k s a n e n 1965, K u r s a a kol. 1972).

G r e e n a kol. (1967) uvažují také o jiných než oxidačních procesech, kterými nenasycené mastné kyseliny poškozují erytrocyty, svalové a nervové buňky. B o y d (1968) se domnívá, že patofyziologické důsledky jsou určovány zastoupením jednotlivých mastných kyselin. Tento poznatek přispívá k vysvětlení nejen našich nálezů, ale i zjištění B e d r n o v é (1971), která nalezla u telat vyživovaných plnotučným kravským mlékem hodnoty osmotické rezistence erytrocytů téměř shodné s výsledky našeho souboru B (b. p. n. = Biosan + + vit. E). Naopak u vyskladňovaných jatečných telat vykrmovaných nefortifikovaným Biosanem se nález citované autorky přibližoval našim skupinám A a C (klinické a preklinické formy NSD), zatímco u telat krmených odstředěným mlékem s přídavkem 2 % kafilerického tuku a Galacidu nacházela nejnižší osmotickou odolnost — $78,62 \% \pm 19,01 \%$. Také M e l a n o v á (1970) zjistila u telat přijímajících Biosan bez tokoferolů vysoké procento hemolýzy. Její nález ($88,4 \% \pm 8,3 \%$) převyšuje hodnoty, které charakterizovaly naše nemocná zvířata, přičemž je významné, že v její pokusné skupině byla rovněž zaznamenána NSD. I když bereme v úvahu, že srovnávané hodnoty osmotické rezistence byly získány v terénních pokusech, v nichž nelze vyloučit uplatnění jiných faktorů, jsou rozdíly mezi soubory natolik významné, že i při respektu-

vání biologické variability dovolují vyslovit závěr o vlivu diety na sledovaného ukazatele. Domníváme se, že rozhodujícími činiteli jsou obsah a skladba tukové složky v krmivu a přítomnost vitamínu E, popřípadě jeho synergistů. Bez možnosti blíže objasnit mechanismus účinku tokoferolu jsme při vysvětlování jeho vztahu k osmotické rezistenci odkázáni na údaje dalších autorů, kteří uvádějí shodné výsledky (Jager 1968, Ehrlý 1964).

Naše stanoviska jsou také podporována údaji o ochraně, kterou poskytuje vitamín E erytrocytům proti oxidační hemolýze, markantně se projevující i v našich pokusech. Získané poznatky jsou totožné s pozorováním Ringlera a Abramse (1970) u králíků, Fischera a kol. (1970) u kuřat, Tsena a Colliera (1960) a Walkera a Kummerowa (1969) u krys, neshodují se v plné míře se zprávami Boydovými (1968). Zkušenosti, které jsme získali na poměrně velkých počtech zvířat, dovolují posuzovat peroxidový test jako vhodnou metodu, jejíž pozitivita odráží stupeň ohrožení zvířat NSD, pravděpodobně v souvislosti s přímým nebo potenciálním deficitem vitamínu E a jeho biologických synergistů. Těmto poznatkům odpovídaly naše klinické zkušenosti s aplikací tokoferolu samotného nebo v kombinaci se selénem nemocným kusům s NSD, která byla provázena inhibicí peroxidového testu.

Také Weber a Wiss (1966) pokládají stoupající oxidační hemolýzu erytrocytů za symptom postupujícího vyčerpávání vitamínu E v organismu rovněž v souvislosti interakce nenasycených mastných kyselin. Autoři soudí, že rozhodující význam přísluší kyselině linolové, která v jejich pokusech u krys průkazně inhibovala enterální resorpci perorálně podávaného tokoferolu. Reciproční potlačení peroxidového testu vitamínem E a selénem naznačuje nulový výsledek zkoušky u pokusných telat s NSD, která byla před odběrem vzorků ošetřena Selevitem inj. Vztahy mezi dispozicí erytrocytů myodystrofických telat k oxidační hemolýze a tokoferolem, popřípadě selénem, jsou zřejmě složitější a nelze je podle Boyda (1968) zjednodušovat. Australský autor tak komentuje výsledky experimentů u jehňat, které mezi jiným prokázaly, že jednotlivé mastné kyseliny mají v těchto procesech diferencovanou úlohu. Nicméně se na základě vlastních poznatků domníváme, že peroxidový test může být považován za vhodnou indikační zkoušku při detekci myodystrofického syndromu popsaného typu a že je možné zařadit jej do metabolických testů, zejména při sledování poruch zdravotního stavu u mladých kategorií skotu. Pro svou jednoduchost je zavedení metody přijatelné i v běžných laboratorních podmínkách.

Technická spolupráce: D. Pumprová, J. Poncar

Literatura

- BEDRNOVÁ Š., 1971, Sledování hematologických a biochemických ukazatelů u telat při výkrmu mléčnými náhražkami. Diplomová práce, PEF - VŠZ, České Budějovice.
- BLAŽEK Z., 1967, Patofyziologie vitamínu E a perspektivy léčby vitamínem E. Farmakologické zprávy SPOFA, Suppl. 2 : 9-20.
- BOYD J. W., 1968, Serum enzyme changes, muscular dystrophy and erythrocyte abnormalities in lambs fed on diets containing cod-liver oil and maize oil, and the therapeutic effect of vitamin E. Br. J. Nutr. 22 : 411-422.
- DAM H., SONDERGAARD E., 1967, Symptomatik des Vitamin E-Mangels. Wiss. Veröff. Dtsche Gesellschaft f. Ernährung. Ed. 16: Tocopherole. Dr. Dietrich Steinkopff Verlag, Darmstadt.
- EHRLY A. M., 1964, Die Bedeutung der unverserten Fettsäuren für die Resistenz von Erythrozyten. Acta haemat. (Basel) 32 : 348-354.

- FISCHER V. W., NELSON J. S., YOUNG P. A., 1970, Increased erythrocyte fragility with hydrogen peroxide in vitamin E-deficient chickens. *Poult. Sci.* 49: 443-446.
- GREEN J., DIPLOCK A. T., BUNYAN J., McHALE D., MUTHY I. R., 1967, in: BOYD J. W., 1968, Serum enzyme changes, muscular dystrophy and erythrocyte abnormalities in lambs fed on diets containing cod-liver oil and maize oil, and the therapeutic effect of vitamin E. *Br. J. Nutr.* 22: 411-422.
- GYÖRGY P., COGAN G., ROSE C. S., 1952, Availability of vitamin E in the newborn infant. *Proc. Soc. exp. Biol. Med.* 81: 536-538.
- HORWITT M. K., HARVEY C. C., DUNCAN G. D., WILSON W. C., 1956, Effects of limited tocopherol intake in man with relationship to erythrocyte haemolysis and lipid oxidations. *Am. J. clin. Nutr.* 4: 408-419.
- CHRISTENSEN F., DAM H., GORTNER R. A., SONDERGAARD E., 1956, *In vitro* haemolysis of erythrocytes from vitamin E deficient rats and chicks. *Acta physiol. scand.* 35: 215-224.
- JAGER F. C., 1968, Determination of vitamin E requirement in rats by means of spontaneous haemolysis *in vitro*. *Nutritio Dieta* 10: 215-223.
- KÖRNER W. F., KLEINE N., 1968, Der Einfluß von Vitamin E auf die Stabilität der Erythrozyten und die praktische Anwendung dieser Erkenntnis für die Blutkonservierung. *Int. Z. Vitaminforsch.* 35: 128-152.
- KROUPOVÁ V., 1970, Zjednodušené stanovení osmotické odolnosti červených krvinek skotu. *Sborník PEF - VŠZ, České Budějovice*, 316, 1: 142-155.
- KURSA J., JANÁK J., HLACH L., KUČHTA F., GRUNT Z., 1971, Výsledky nutričního pokusu s mléčným výkrmem telat krmnou směsí Biosan 20 s doplňkem vitamínu E. *Veterinářství* 21: 559-562.
- KURSA J., TESAŘÍK L., 1971, Výsledky některých klinicko-laboratorních vyšetření a názory na etiologii nutriční svalové degenerace u telat mléčného výkrmu. *Veterinářství* 21: 122-125.
- KURSA J. a kol., 1972, Klinicko-laboratorní obraz nutriční svalové dystrofie u mladého skotu. Dílčí závěrečná zpráva č. 1 výzk. úkolu č. C-11-333-009-02-07. *PEF - VŠZ, České Budějovice*.
- KURSA J., 1974, Hematologické příznaky při nutriční svalové dystrofii mladého skotu. *Vet. Med. (Praha)* 19, 4: 189-196.
- LAMAND M., 1965, Syndrome myopathie-dyspnée: Influence de la prophylaxie par le sélénium sur la composition biochimique du plasma chez le veau. *Ann. Biol. anim. Biochim. Biophys.* 5: 309-315.
- MELANOVÁ M., 1970, Osmotická odolnost erytrocytů skotu. Diplomová práce. *PEF - VŠZ, České Budějovice*.
- OKSANEN H. E., 1965, Studies on nutritional muscular degeneration (NMD) in ruminants. *Vammala 1965, Vammalan Kirjapaino Oy*.
- RINGLER D. H., ABRAMS G. D., 1970, Nutritional muscular dystrophy and neonatal mortality in a rabbit breeding colony. *J. Am. vet. med. Ass.* 157: 1928-1934.
- STROHMMEYER G., 1973, Vitaminstoffwechsel. In: SIEGENTHALER W. a kol., *Klinische Pathophysiologie*. Georg Thieme Verlag, Stuttgart.
- TSEN C. C., COLLIER H. B., 1960, The protective action of tocopherol against hemolysis of rat erythrocytes by dialuric acid. *Can. J. Biochem. Physiol.* 38: 957-963.
- WALKER B. L., KUMMEROW F. A., 1964, Dietary fat and the structure and properties of rat erythrocytes. II. Stability of the erythrocyte. *J. Nutr.* 82: 323-328.
- WEBER F., WISS O., 1966, Interactions between vitamin E and other components of the diet. *Nutritio Dieta* 8: 54-63.

Došlo dne 5. 2. 1974

КУРСА Й., КРУПОВА В. (Сельскохозяйственный институт, Чешске Будейовице, Чехословакия). Изменения хрупкости эритроцитов в ходе нутриционной мышечной дистрофии у телят. *Vet. Med. (Praha)* 19 (8): 473-480, 1974.

У телят чешской пестрой породы в возрасте 2—14 недель, откармливавшихся для боенских целей кормовой смесью Биосан, наблюдалось спонтанное появление нутриционной мышечной дистрофии (НМД). В опытах на местах изучалась осмотическая стойкость красных кровяных телец по гемолизу в 0,588 % NaCl и их устойчивость в отношении окислитель-

ного гемолиза. Телята, клинически больные НМД, равно как и телята, находившиеся под угрозой этого заболевания, обладали осмотической стойкостью в среднем $74,33 \pm 18,75 \%$, или $76,58 \pm 18,60 \%$. У совокупности 24 клинически здоровых животных с нутриционным снабжением витамином Е, была отмечена статистически достоверно повышенная осмотическая стойкость: гемолиз достиг лишь $55,93 \pm 12,67 \%$. Клинически больные животные с протекающим миодистрофическим синдромом и животные, которым это болезненное состояние угрожало, имели значительную степень нарушения эритроцитов в отношении окислительного гемолиза, что проявляется высоко положительными величинами перекисного теста: $12,4 \%$ и $12,92 \%$. Красные кровяные тельца телят с добавлением витамина Е в диете были в отношении окислительного гемолиза максимально устойчивыми и имели нулевые величины перекисного теста. Результаты обследования хрупкости эритроцитов, которая отражает изменения проницаемости клеточных мембран, содействуют объяснению патофизиологической стороны повреждений, которые происходят в ходе нутриционной мышечной дистрофии и характеризуют роль витамина Е в патогенезе этих изменений. Одновременно они проверяют применимость тестов для диагностики клинических и доклинических форм НМД у крупного рогатого скота.

телята; white muscle disease; эритроциты; осмотическая устойчивость; окислительный гемолиз; витамин Е

KURSA J., KROUPOVÁ V. (University of Agriculture, České Budějovice, Czechoslovakia). *Changes of the Fragility of Erythrocytes in the Course of the Nutritive Muscular Dystrophy in Calves*. Vet. Med. (Praha) 19 (8): 473-480, 1974.

In calves of the Bohemian pied breed at the age of from 2 to 14 weeks, fattened for slaughter purposes with the Biosan feed mixture, there occurred a repeated, spontaneous occurrence of nutritive muscular dystrophy (NMD). In field experiments the osmotic resistance of red blood corpuscles was investigated according to the hemolysis in 0.588 p. c. NaCl, and their resistance to oxidation hemolysis was also examined. Calves that suffered clinically from NMD as well as calves threatened by the disease showed an osmotic resistance of an average 74.33 ± 18.75 p. c., respectively 76.58 ± 18.60 p. c. In a group of 24 clinically healthy animals with a nutritive dose of vitamin E a statistically significantly higher osmotic resistance was recorded: hemolysis reached only 55.93 ± 12.67 p. c. Clinical patients with an occurring myodystrophic syndrome and individuals threatened by a diseased state showed a considerable degree of the disturbance of erythrocytes compared with oxidation hemolysis, shown by highly positive values of the peroxide test: 12.4 and 12.92 p. c. The red blood corpuscles of calves with a supplement of vitamin E in the diet were, to a maximum extent, resistant to oxidation hemolysis with zero values of the peroxide test. The results obtained in the examination of the fragility of erythrocytes, showing the change of the permeability of cellular membranes, contribute towards an illumination of the pathophysiological aspect of lesions occurring in the course of the nutritive muscular dystrophy, and they characterize the part played by vitamin E in the pathogenesis of these changes. At the same time they check the applicability of the tests in the diagnosis of clinical and pre-clinical forms of NSD in cattle.

calves; white muscle disease; erythrocytes; osmotic resistance; oxidation hemolysis; vitamin E

KURSA J., KROUPOVÁ V. (Hochschule für Landwirtschaft, České Budějovice, Tschechoslowakei). *Veränderungen der Erythrozytenfragilität im Verlaufe der nutritionellen Muskeldystrophie bei Kälbern*. Vet. Med. (Praha) 19 (8): 473-480, 1974.

Bei mit dem Mischfutter Biosan gemästeten, 2 bis 14 Wochen alten böhmischen Fleckviehkälbern kam es zu wiederholtem spontanem Auftreten der nutritionellen Muskeldystrophie (NMD). In Terrainversuchen wurde die osmotische Resistenz der roten Blutkörperchen aufgrund der Hämolyse in 0,588 % NaCl und die Resistenz gegen die Oxydationshämolyse studiert. Die an NMD klinisch erkrankten Kälber wie auch die mit dieser Krankheit bedrohten Kälber wiesen eine osmotische Resistenz von durchschnittlich $74,33 \pm 18,75 \%$, beziehungsweise $76,58 \pm 18,60 \%$ auf. Bei einer Gruppe von 24 klinisch gesunden Tieren mit einer nutritionellen Vitamin-E-Dotation wurde eine statistisch signifikante höhere osmotische Resistenz vor-

getroffen: Die Hämolyse erreichte einen Wert von $55,93 \pm 12,67\%$. Die klinischen Patienten mit verlaufendem Myodystrophiesyndrom und durch den Krankheitszustand bedrohte Individuen wiesen einen bedeutenden Grad von Störungen der Erythrozyten gegenüber der oxydativen Hämolyse auf, die durch hochpositive Peroxydtestwerte in Erscheinung treten: $12,4\%$ und $12,92\%$. Die roten Blutkörperchen von Kälbern, die mit einem E-Vitaminergänzungspräparat beigefüttert wurden, waren gegen die oxydative Hämolyse maximal resistent und wiesen Nullwerte des Peroxydtestes auf. Die Ergebnisse der die Veränderungen der Zellmembranpermeabilität manifestierenden Erythrozyten-Fragilitätsuntersuchungen tragen bei zur Erläuterung der pathophysiologischen Seite von Läsionen, die im Verlaufe der nutritionellen Muskeldystrophie auftreten, und charakterisieren die Aufgabe des E-Vitamins in der Pathogenese dieser Veränderungen. Gleichzeitig überprüfen sie auch die Verwendbarkeit der Tests zur Diagnostik der klinischen und vorklinischen Formen der nutritionellen Muskeldystrophie beim Rind.

Kälber; White-Muscle-Disease; Erythrozyten; osmotische Resistenz; Oxydationshämolyse; Vitamin E

Adresa autorů:

MVDr. J. Kurša, CSc., RNDr. ing. V. Kroupová, CSc., Vysoká škola zemědělská, 370 05 České Budějovice - Čtyři Dvory

HISTOLOGICKÉ A HISTOCHEMICKÉ POZOROVANIA PEČENE A OBLÍČIEK OŠÍPANÝCH PO SKRMOVANÍ MONOETANOLAMÍN-FOSFÁTU

J. Pivko, J. Poltársky

Výskumný ústav živočíšnej výroby, Nitra

PIVKO J., POLTÁRSKY J. *Histologické a histochemické pozorovania pečene a obličiek ošípaných po skrmovaní monoetanolamín-fosfátu*. Vet. Med. (Praha) 19 (8) : 481-487, 1974.

Patologicko-anatomickým posúdením pečene a obličiek sme zistili zmeny v zafarbení povrchu pečene, no tieto nemôžeme jednoznačne pripísať monoetanolamín-fosfátu. Histologický obraz poukazuje na sporadický výskyt nekrobiotických procesov v hepatálnych bunkách, lokalizovaných väčšinou v periférnej zóne acínov. Taktiež pozorujeme zdurené bunky proximálneho segmentu stočených kanálikov obličiek. Nízky výskyt glykogénu a tukov v pečenej bunkách, no ich pomerne intenzívne vychytávanie obličkami, poukazuje na ich znížený metabolizmus v pečeni. Nízka intenzita výskytu alkalického fosfatázy v periférnych zónach acínov pečene u pokusnej skupiny zvierat čiastočne poukazuje na poškodenie hepatálnych buniek a na ich zníženú metabolickú činnosť. Pomerne častý výskyt „napučaných“ mitochondrií v hepatálnych bunkách a v epitelových bunkách obličiek poukazuje na ich poškodenie. Taktiež prítomnosť hemosiderínu v Kupferových bunkách upozorňuje na zvýšený rozpad krviniek.

monoetanolamín-fosfát; glykogén; PAS-pozitívne látky; tuky; fosfolipidy; alkalická fosfatáza; nespecifická esteráza; dehydrogenáza kyseliny jantárovej; pečej; obličky; ošipaná

Amínoetylalkohol, tak ako uvádza Lazarev (1959), aplikovaný podkožne v dávke 5 ml spôsobí u psov nekrózu v mieste vpichu a vyvolá silnú tukovú infiltráciu pečene. U králikov dávka 2 ml zapríčinila uhynutie a pri pitve boli zistené ložiskové degeneratívne zmeny na srdci, v obličkách, semeníkoch a mozgu.

Skrmovaním rôznych modelov amínoalkoholov ošipávaným (monoetanolamín, monopropanolamín, dietanolamín) zistil Pivko a kol. (1970) ich toxický vplyv na parenchým pečene a obličiek. Najmä dietanolamín spôsobil infiltratívnu steatózu pečene, nekrobiotické procesy v okolí *v. centralis* a parézy panvových končatín.

Z histochemického obrazu rozmiestnenia tukov v acínoch pečene môžeme usudzovať na akútny či chronický proces pri zaťažení organizmu etanolom.

Brixová a kol. (1968) citujú Hartrofta, ktorý tieto morfológické a histotopochemické rozdiely zistil. V akútnom pokuse sa hromadí tuk v periportálnych priestoroch a dochádza k zmenám i na mitochondriách, v chronickom experimente sa hromadí tuk centrolobulárne a mitochondrie sa obrovsky zväčšujú.

Enzymy lyzozómov a mitochondrií, histochemicky sledované, poukážu na štruktúrnu a metabolickú premenu pečene a stávajú sa tak morfológicko-funkčným článkom v reťazci biochemických vyšetrení (Wegmann a kol. 1970, Goslar a kol. 1970, Kiessling a Pilström 1971, Greenwood a kol. 1972).

Veľmi zväčšené mitochondrie — predĺžené a okrúhle často zistil Kiessling a Pilström (1971) v pečeni u ľudí s vysokým príjmom alkoholu.

Amínoetylalkohol sa môže v organizme čiastočne desaminovať a meniť v etylenglykol, ktorý sa čiastočne okysličuje na kyselinu šťavelovú (Lazarev 1959). Predpokladáme, že tieto metabolity môžu byť príčinou dystrofie parenchymatóznych orgánov.

MATERIÁL A METÓDA

Ihneď po zabití 30 ošípaných (15 pokusných a 15 kontrolných) sme odobrali excízy zo stredu štvorhranného laloka pečene a z obličiek k histologickému a histochemickému spracovaniu. Všetky zvieratá boli kŕmené výlučne krmivami rastlinného pôvodu. Pokusná skupina zvierat dostávala prídavok 0,3 % monoetanolamin-fosfátu na kilogram krmiva. Pokus sme ukončili pri priemernej váhe skupín 105,0 kg.

Vzorky pre prehľadné histologické preparáty sme fixovali 10 % formolom a farbili H. E. Glykogén a PAS-pozitívne látky sme zisťovali PAS reakciou po predchádzajúcej fixácii v Gendreovej tekutine. Vzorky pre sledovanie výskytu a lokalizácie tukov sme fixovali v Bakerovej tekutine, rezy sme robili na zmrazovacom mikrotóme, farbili alkoholickým roztokom Oil Red O Michrome No 522 a jadrá sme dofarbovali Harrisovým hematoxylínom. Fosfolipidy sme zisťovali PFAS reakciou po fixácii v Bakerovej tekutine. Dôkaz alkalickéj fosfatázy a nešpecifickej esterázy sme urobili metódou azokopulácie, po predchádzajúcej fixácii vo vychladenom acetóne a po zaliatí a narezaní parafrínových rezov. Ako diazotát sme použili pri alkalickéj fosfatáze Fast Red Salt TR a pri nešpecifickej esteráze Echtblausaltz „B“. K dôkazu dehydrogenázy kyseliny jantarovej sme použili 0,4 % nitrotetrazolium (nitro - BT) po predchádzajúcej fixácii vzoriek v Bakerovej tekutine a po ich narezaní na zmrazovacom mikrotóme.

Hodnotenie intenzity výskytu a lokalizácie produktov histochemických reakcií sme robili iba subjektívne.

VÝSLEDKY

Po zabití ošípaných sme robili posúdenie pečene. Povrch pečene bol rovný a lesklý, farba však nebola u všetkých rovnaká. Najčastejšie sme pozorovali pečeň v jej červenohnedých farebných odtieňoch, ktoré v niektorých prípadoch prechádzali do tmavožltých farebných pruhov. Vplyv monoetanolamin-fosfátu na tieto farebné zmeny nemôžeme jednoznačne pripísať, pretože tieto zmeny sme pozorovali i u kontrolnej skupiny.

Vplyv monoetanolamín-fosfátu je zreteľný v hepatálnych bunkách periférnej zóny acínov, ktoré podliehajú nekrobiotickým zmenám. Cytoplazma takýchto buniek bola nápadne zrnitá s početnými vakuolami. Tento histopatologický obraz nebol u pokusných zvierat častý. Častejšie sme pozorovali nahromadenie krvných elementov v sinusoidoch a vo *v. centralis*. V preparátoch s PAS-reakciou sme pozorovali početné nahromadenie žltohnedých granúl v sinusoidoch, pravdepodobne v Kupferových bunkách.

V obličkách sme zistili zdurení buniek proximálnych segmentov a v niektorých prípadoch ich vakuolárnu dystrofiu (obr. 1).



1. Intenzívny výskyt nekrobiotických procesov v stočených kanálikoch obličiek po skr-movaní monoetanolamín-fosfátu (H. E.)

HISTOTOPOCHÉMIA GLYKOGÉNU A PAS-POZITÍVNYCH LÁTKO V PEČENI A V OBLÍČKÁCH OŠÍPANÝCH

V hepatálnych bunkách sme pozorovali nízku intenzitu glykogénu, ktorý bol v bunke zastúpený difúzne, alebo v podobe granúl. U pokusných zvierat bol lokalizovaný najmä v okolí *v. centralis* a periférna zóna glykogén neobsahovala. Väčšia intenzita jeho výskytu bola v pečňových acínoch kontrolných zvierat lokalizovaná i v periférnej zóne. PAS-pozitívne látky sme pozorovali v bunkových membránach, kde vytvárali len miernu reakciu.

V obličkách bol obraz výskytu glykogénu podobný a miernu intenzitu glykogénu sme pozorovali v podobe difúznej reakcie v apikálnej časti buniek proximálnych segmentov stočených kanálikov. Glykogén bol prítomný i v glomeruloch. Intenzívnu reakciu PAS-pozitívnych látok sme pozorovali v Bowmanovom púzdre a v bazálnych membránach stočených kanálikov obličiek.

HISTOTOPOCHÉMIA TUKOV V PEČENI A V OBLÍČKÁCH

V pečeni sme sledovali tuky v podobe jemných kvapôčiek rozptýlených rovnomerne po celých bunkách, alebo perivaskulárne uložených. Ich uloženie v acínoch bolo väčšinou rozdielne. Intenzita výskytu tukov bola väčšia v peri-

férnych zónach acínov ako v intermediárnej či centrálnej zóne. Len v ojedinelých prípadoch sme pozorovali veľmi intenzívne perivaskulárne uloženie tukových kvapiek v periférnych zónach acínov. Taktiež ich výskyt v portobiliárnom priestore bol intenzívnejší v porovnaní s kontrolnou skupinou.

Tuky v obličkách sa vyskytovali v podobe jemných kvapôčiek i v podobe veľkých kvapiek. Malé kvapôčky boli lokalizované hlavne v bazálnej zóne buniek stočených kanálikov. Veľké kvapky vyplňovali takmer celú bunku proximálneho segmentu stočených kanálikov. V porovnaní s kontrolou bol ich výskyt častý.

HISTOTOPOCHÉMIA FOSFOLIPIDOV V PEČENI A V OBLIČKÁCH

Subjektívnym hodnotením sme zistili miernu intenzitu výskytu fosfolipidov v pečeni a v obličkách. V týchto orgánoch boli fosfolipidy lokalizované v bunkových membránach hepatálnych buniek, v listoch Bowmanového púzdra, v bunkových membránach a v bazálnych membránach buniek stočených kanálikov obličiek. Rozdielnosti v intenzite reakcií u pokusnej skupiny v porovnaní s kontrolou sme nezistili.

HISTOTOPOCHÉMIA ALKALICKEJ FOSFATÁZY V PEČENI A V OBLIČKÁCH

Intenzita alkalickej fosfatázy v pečeni bola veľmi nízka, lokalizovaná v žľočových kapilárach difúzne, alebo v podobe jemných granúl. Reakcia v periférnej zóne acínov bola nižšej intenzity u pokusnej skupiny v porovnaní s kontrolnou skupinou.

V obličkách sme pozorovali vysokú intenzitu alkalickej fosfatázy, difúzne rozptýlenú v cytoplazme stočených kanálikov v podobe jemných granúl. Najintenzívnejšiu reakciu sme pozorovali v proximálnom segmente *pars recta et contorta* stočených kanálikov. V bunkách bola alkalická fosfatáza lokalizovaná v ich apikálnej a bazálnej zóne v tesnej blízkosti bunkových membrán. Medzi pokusnou a kontrolnou skupinou sme rozdiel nezistili.

HISTOTOPOCHÉMIA NEŠPECIFICKEJ ESTERÁZY V PEČENI A V OBLIČKÁCH

Veľmi vysokou intenzitou nešpecifickej esterázy sa preukázali hepatálne bunky, v ktorých reakcia bola lokalizovaná difúzne v celej cytoplazme. U niektorých pokusných zvierat sme pozorovali intenzívnejšiu reakciu v tesnom okolí *v. centralis*, inak reakcia bola v acínoch rovnomerná.

Cytoplazma buniek stočených kanálikov obličiek a najmä proximálneho segmentu preukázala veľmi vysokú intenzitu nešpecifickej esterázy v podobe difúznej reakcie. Pri porovnaní pokusnej skupiny s kontrolou sme rozdiely v lokalizácii a intenzite reakcie nezistili.

HISTOTOPOCHÉMIA DEHYDROGENÁZY KYSELINY JANTAROVEJ V PEČENI A V OBLIČKÁCH

Obraz lokalizácie a intenzity výskytu dehydrogenázy je veľmi pestrý. V hepatálnych bunkách pozorujeme jej vysokú intenzitu v periférnej zóne acínov, kde dochádza k veľmi častému výskytu neprimerane zväčšených — „napučaných“ mitochondrií.

Veľmi vysokú intenzitu dehydrogenázy kyseliny jantarovej pozorujeme i v proximálnych segmentoch stočených kanálikov obličiek. V tejto časti sme zistili taktiež časté napučanie mitochondrií, čo sme u kontroly nepozorovali.

DISKUSIA

Histotopochémia sledovaných enzýmov čiastočne vysvetľuje histopatologický obraz pečene i obličiek ošipaných, ktorým bol skrmovaný monoetanolamín-fosfát.

Intenzita výskytu alkalickkej fosfatázy je v mieste nekrobiotických procesov pečene nižšia, čo poukazuje na zníženú metabolickú činnosť buniek v týchto zónach.

Nízka intenzita výskytu tukov je opakom toho, čo uvádza Lazarev (1959) a Pivko a kol. (1970). Ak pri chronickom zaťažení organizmu etanolom dochádza k steatóze, je pravdepodobné, že etylenglykol a kyselina šťaveľová ako metabolity amínoetylalkoholu (Lazarev 1959) budú obmedzovať ukladanie nielen tukov v hepatálnych bunkách, ale i glykogénu. Tieto však boli pomerne vo veľkom množstve vychytávané proximálnym segmentom stočených kanálikov obličiek. Vysoká intenzita dehydrogenázy v periférnej zóne acínov poukazuje na početnú prítomnosť mitochondrií. V tejto zóne však dochádza i k ich najčastejšiemu napučaniu a rozrušeniu, čo sa zhoduje s údajmi Hartrofta (cit. Brixová a kol. 1968) a Kiesslinga, Pilströma (1971).

Monoetanolamín-fosfát pravdepodobne vplýva i na zvýšený rozpad krviniek, na čo nás upozorňuje prítomnosť hemosiderínu v Kupferových bunkách.

Histopatologický obraz sa u pokusných zvierat vyskytoval ojedinele, avšak výsledky histochemického vyšetrenia poukazujú u väčšiny zvierat na morfológicko-funkčné poruchy, ktoré môžu mať nepriaznivý dopad pri proteosyntéze, čo môže v konečnom dôsledku nepriaznivo ovplyvniť intenzitu rastu.

ZÁVER

Histologický a histochemický obraz pečene a obličiek poukázal na sporadický výskyt morfológicko-funkčných porúch hepatálnych buniek i buniek stočených kanálikov obličiek. Odpoveď na otázku, či orgány môžu pri sledovanom zaťažení monoetanolamín-fosfátom plniť svoje funkcie, môže dať iba komplexné biochemické vyšetrenie, ktorého výsledky nám poukážu na stupeň funkčného zaťaženia sledovaných orgánov.

Literatúra

- BRIXOVÁ E., NIEDERLAND T. R., DŽURIKOVÁ V., 1968, Experimentálna steatóza pečene vyvolaná etylalkoholom. Čs. Gastroenter. 22 : 155.
GOSLAR H. G., BERRES H. H., JAEGER K. H., 1970, Enzymhistochemische Untersuchungen zur Äthanolwirkung an der Rattenleber. Acta histochem. 35 : 173-185.
GREENWOOD S. M., LEFFLER C. T., MINKOWITZ S., 1972, The increased mortality rate of open liver biopsy in alcoholic hepatitis. Surgery, Gyn. Obstetr. 134 : 600-604.
HARTROFT, cit. BRIXOVÁ E. a kol., 1968, Čs. Gastroenter. 22 : 155.
KIESSLING K. H., PILSTRÖM L., 1971, Ethanol and the human liver. Structural and metabolic changes in liver mitochondria. Cytobiologie 4, 2 : 339-348.
LAZAREV N. V., 1959, Chemické jedy v průmyslu. Díl I. Organické látky. SZN, Praha.

- PIVKO J., POLTÁRSKY J., ŽILLA T., 1970, Rozmiestnenie tukov v pečeni ošípaných po podaní aminoalkoholov. Vet. Med. (Praha) 15, 9:517-524.
- POLTÁRSKY J., ŽILLA T., PIVKO J., 1969, Overenie nutričnej hodnoty prípravkov monoetanolamínu, monopropanolamínu a dietanolamínu vo výkrme ošípaných. Záverečná správa, VÚŽV, Nitra.
- WEGMANN R., CHARBONNIER A., PERGOLA F., NEUMAN M., CACHIN M., 1970, Régulations cytoenzymatiques du foie par des nucléotides libres. Étude biopsique humaine chez les sujets atteints de cirrhose, de stéatose et de dénutrition. Ann. Histochem 15:157-180.

Došlo dne 26. 11. 1973

ПИВКО Й., ПОЛТАРСКИ Й. (Научно-исследовательский институт животноводства, Нитра, Чехословакия). Гистологические и гистохимические наблюдения за печенью и почками свиней после скармливания моноэтаноламин-фосфата. Vet. Med. (Praha) 19 (8): 481-487, 1974.

Путем патолго-анатомического обследования печени и почек свиней мы установили изменения в окраске поверхности печени, хотя эти изменения мы и не можем однозначно приписать моноэтаноламин-фосфату. Гистологическая картина свидетельствует о спорадическом появлении некробиотических процессов в клетках печени, локализованных преимущественно в периферической зоне ацинов. Мы также наблюдали опухание клеток проксимального сегмента скрученных почечных канальчиков. Низкое наличие гликогена и жиров в клетках печени и вместе с тем их сравнительно интенсивное улавливание почками, свидетельствуют об их пониженном метаболизме в печени. Низкая интенсивность появления щелочной фосфатазы в периферических зонах ацинов печени у подопытной группы животных отчасти свидетельствует о повреждении печеночных клеток и об их пониженной метаболической функции. Сравнительно частое появление «разбухших» митохондрий в печеночных клетках и в эпителиальных клетках почек свидетельствует об их повреждении. Также наличие гемосидерина в клетках Купфера указывает на повышенное распадение кровяных телец.

моноэтаноламин-фосфат; гликоген; PAS-положительные вещества; жиры; фосфолипиды; щелочная фосфатаза; неспецифическая эстераза; дегидрогеназа янтарной кислоты; печень; почки; свиньи

PIVKO J., POLTÁRSKY J. (Research Institute of Livestock Production, Nitra, Czechoslovakia). *Histological and Histochemical Examination of Pig Livers and Kidneys after the Feeding of Monoethanolamine-phosphate*. Vet. Med. (Praha) 19 (8): 481-487, 1974.

By means of a pathological-anatomical estimation of the livers and kidneys we ascertained changes in the colouration of the liver surface, but we cannot ascribe this absolutely to the effect of monoethanolamine-phosphate. The histological picture indicates a sporadic occurrence of necrobiotic processes in the hepatic cells, localized mostly in the peripheral zone of the acini. We also observe a swelling of the cells of the proximal segment of the coiled canals of the kidneys. The low occurrence of glycogen and fats in the liver cells and their comparatively intensive retention by the kidneys indicate their lowered metabolism in the liver. The low intensity of the occurrence of alkaline phosphatase in the peripheral zones of the acini of the liver in the experimental group of animals partly indicated an injury of the hepatic cells and their lowered metabolic activity. The comparatively frequent occurrence of „inflated“ mitochondrias in the hepatic cells and in epithelial cells of the kidneys indicate their being injured. Also the presence of hemosiderin in Kupffer's cells indicates an increased decomposition of blood corpuscles.

monoethanolamine-phosphate; glycogen; PAS-positive substances; fats; phospholipids; alkaline phosphatase; non-specific esterase; dehydrogenase of succinic acid; liver; kidneys; pig

PIVKO J., POLTÁRSKY J. (Forschungsinstitut für tierische Produktion, Nitra, Tschechoslowakei). *Histologische und histochemische Untersuchungen der Leber und Nieren von mit Monoethanolamin-Phosphat beigefütterten Schweinen*. Vet. Med. (Praha) 19 (8): 481-487, 1974.

Bei einer pathologisch-anatomischen Untersuchung der Leber und der Nieren stellten wir Veränderungen in der Farbe der Leberoberfläche fest, die man aber nicht eindeutig dem Monoäthanol-Phosphat zuschreiben kann. Das histologische Bild deutet hin auf sporadisches Auftreten nekrobiotischer Prozesse in den Leberzellen, lokalisiert größtenteils in der peripheren Azinzone. Ferner stellt man Schwellungen der Zellen des proximalen Segments der gewundenen Nierenkanälchen fest. Der geringe Glykogen- und Fettgehalt der Leberzellen und ihr verhältnismäßig intensives Auffangen durch die Nieren weist auf einen herabgesetzten Metabolismus in der Leber hin. Die geringe Intensität des Vorkommens der Alkaliphosphatase in den peripheren Azinzonen der Leber bei der Versuchstiergruppe zeugt teilweise von Schädigungen der Leberzellen und ihrer verringerten metabolischen Tätigkeit. Das verhältnismäßig häufige Vorkommen rissiger Mitochondrien in den Leberzellen und in den Epithelzellen weist auf die Schädigung derselben hin. Auch das Vorhandensein des Hämosiderins in den Kupferschen Zellen macht aufmerksam auf einen erhöhten Blutkörperchenzerfall.

Monoäthanolamin-Phosphat; Glykogen; PAS-positive Stoffe; Fette; Phospholipide; Alkaliphosphatase; unspezifische Esterase; Bernsteinsäuredehydrogenase; Leber; Nieren; Schwein

Adresa autorů:

MVDr. J. Pivko, ing. J. Poltársky, Výskumný ústav živočišnej výroby, 949 92 Nitra

Oznamujeme odborné veřejnosti, studentům a všem zájemcům, že 1. 9. 1974 byla otevřena v Brně v Božetěchově ulici č. 6 (Královo Pole)

**Muzejní knihovna Ústavu pro další vzdělávání veterinárních lékařů —
Kabinetu dějin muzea veterinární medicíny**

Profil knihovního fondu tvoří literatura zachycující dějinný vývoj veterinárního lékařství, starou i starší zvěrolékařskou literaturu včetně učebnic, vývoj organizace zvěrolékařských služeb, školství, výzkumnictví. Z menší části je v knihovním fondu zastoupena literatura z dějin humánní medicíny, zemědělství a příbuzných oborů.

Knihovna má studovnu se třemi místy.

Půjčovna a studovna je otevřena :

pondělí	12.00 — 20.00 hod.	
úterý	8.00 — 11.30 hod.	12.00 — 15.00 hod.
středa	zavřeno	
čtvrtek	8.00 — 11.30 hod.	12.00 — 15.00 hod.
pátek	8.00 — 12.00 hod.	

POROVNÁVACÍ STUDIE VNÍMAVOSTI BUNĚČNÉ LINIE PK, HELA BUNĚK A PRIMÁRNÍCH BUNĚK SELEČÍCH LEDVIN K INFEKCI VIREM INFEKČNÍ BOVINNÍ RHINOTRACHEITIDY – INFEKČNÍ PUSTULÁRNÍ VULVOVAGINITIDY SKOTU (IBR – IPV)

V. Kabelík, B. Horyna, J. Bratršovský

Ústřední státní veterinární ústav, Praha

KABELÍK V., HORYNA B., BRATRŠOVSKÝ J. *Porovnávací studie vnímavosti buněčné linie PK, HeLa buněk a primárních buněk selečích ledvin k infekci virem infekční boviní rhinotracheitidy – infekční pustulární vulvovaginitidy skotu (IBR - IPV).* Vet. Med. (Praha) 19 (8) : 489-498, 1974.

Předložená studie shrnuje výsledky kultivace viru IBR-IPV v buněčné linii PK, primárních buňkách selečích ledvin a HeLa buňkách v porovnání s primárními buňkami telecích ledvin. Sériovými přímými pasážemi viru na linii PK a HeLa buňkách dochází k prudkému poklesu jeho titru, který již ve třetí, popřípadě ve čtvrté pasáži dosahuje nulových hodnot. Při sledování replikačního cyklu viru bylo dokázáno, že virus na obou uvedených buněčných liniích se nemnoží. Zatímco u primárních buněk telecích ledvin byl zaznamenán v časovém úseku 36 hodin vzestup titru o 3 log, u buněk PK a HeLa se titr ve stejném časovém úseku nezměnil a po 48 hodinách v důsledku termální inaktivace nastal jeho mírný pokles. Imunofluorescenčním vyšetřením nebyl virus rovněž detekován. Morfologické změny buněk se vyvíjejí pouze u buněk PK, a to jen po infekci vysokými dávkami viru. Infekce koncentrovaným virem o titru 10^6 – 10^7 způsobí úplnou destrukci buněčné kultury PK do 15 hodin. Primární buňky selečích ledvin pomnoží virus do titru, který je v porovnání s primárními buňkami telecích ledvin v průměru o 1 až 1,5 log nižší. infekční boviní rhinotracheitida; infekční pustulární vulvovaginitida; kultivace viru IBR-IPV

V návaznosti na práci týkající se vnímavosti stabilní linie epitelu telecích ledvin (linie TL 72) k infekci virem IBR-IPV (Kabelík a kol 1973) jsme v tomto směru zaměřili ještě pozornost na stabilní buněčnou linii PK, HeLa buňky a primární buňky selečích ledvin. Výběr těchto tkáňových kultur (TK) byl motivován na jedné straně jejich snadnou dostupností, na druhé straně literárně doloženými rozdílnými výsledky v kultivaci viru. U buněk PK usuzuje Menšík (1968) podle indukce cytopatického efektu (CPE) a destrukce TK již za 10 hodin po infekci na množení viru. Naproti tomu u buněčné linie FL, derivované ze selečích tkání, nezjistili Hahnefeld a kol. (1970) CPE s následným pomnožením viru IBR-IPV. U buněk HeLa nezjistili cytopatickou aktivitu viru Madin a kol. (1956) a McKercher (1957), zatímco Cabasso a kol. (1957), Orsi a Cabasso (1958), Rou-

handeh a Weder (1961) popisují cytopatogenitu po jeho adaptaci. Podobně je tomu i u primárních buněk selečích ledvin (SPL), u kterých na jedné straně Schwarz a kol. (1958), Bindrich (1960), Webster a Manktelow (1959), Mc Kercher a kol. (1959) a jiní popisují vývoj CPE, byť i méně zřetelného (Hahnefeld a kol. 1970), na druhé straně Kubin a Klíma (1960), Mikajlovič (1966) neměli úspěch s pasážováním viru. House (1969) pomnožil na TK z 12 kmenů pouze osm.

V předložené práci nebyly kritériem pomnožování viru jen morfologické změny indukované virem IBR-IPV, ale také kvanta sklízeného viru z uvedených TK, která — jako výraz jejich citlivosti k infekci — byla porovnávána s kvanty pomnoženého viru na velmi vnímavých primárních buňkách telecích ledvin (TLP).

MATERIÁL A METODY

TKAŇOVÉ KULTURY (TK)

V porovnávacích studiích jsme pracovali s buněčnou linií PK, s buňkami HeLa, s primárními buňkami selečích ledvin (SLP) a telecích ledvin (TLP). Charakteristiku buněčné linie PK podává Černý a kol. (1964). TLP byla pro svou vysokou vnímavost vybrána jako tkáň kontrolní pro titrace sklízeného viru z porovnávaných tkáňových kultur PK, HeLa a SLP.

Primární kultury byly připravovány trypsinizační technikou podle Dulbecca a Vogta (1954). Zkumavkové kultury byly zakládány buněčnou suspenzí o denzitě 250 000 buněk na 1 ml u TLP, 500 000 buněk na 1 ml u SLP, 150 000 buněk na 1 ml u buněčné linie PK a HeLa. Metodika kultivace byla popsána v předchozí práci (Kabelík a kol. 1973).

K infekci byly používány TLP v jedné subpasáži, SLP jako primokultury ihned po trypsinaci orgánů.

Replikační cykly viru na TK byly sledovány metodikou popsanou v předchozí práci (Kabelík a kol. 1973).

Titrace viru jsme dělali systémem čtyř zkumavek. Sériová ředění viru byla inokulována v množství 0,1 ml na zkumavkovou kulturu. Po 60minutové adsorpci při 20 °C a převrtnutí udržovacím médiem byly inokulované kultury inkubovány při 37 °C a konečně posouzeny za šest dní. Infekční titry byly kalkulovány podle Reed-Muencha a jsou vázány na 0,1 ml inokula.

VIRUS

Pracovali jsme se třemi kmeny viru IBR-IPV: V-19, V-25* a V-Košice**. Kmeny byly pasážovány na TLP a linii TL 72. Kmeny pasážované na linii TL 72 jsou označeny: V-19/XXVII, XXIX§. V-25/XXIX-XXXII a V-Košice/V-IX. Kmen pasážovaný na TLP je označen V-25/35§. Všechny kmeny byly uchovávány při teplotě -50 až -60 °C*).

IMUNOFLUORESCENCE

Virus ve TK byl detekován přímou imunofluorescencí. Popis vyšetření je uveden v předchozí práci (Kabelík a kol. 1973).

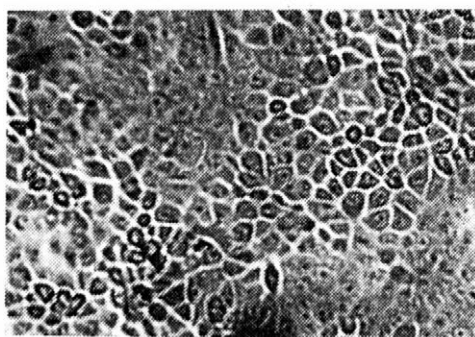
*) Kmeny pocházejí ze Sbirky mikroorganismů VÚVL Brno.

**) Kmen nám laskavě poskytl prof. dr. Vrtiak z VF v Košicích, § počet pasáží.

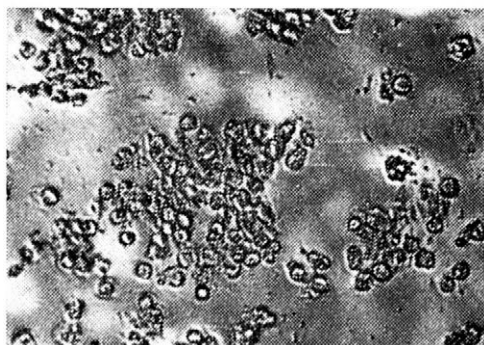
VÝSLEDKY

Charakteristické morfologické změny buněk, které provázejí replikační cyklus herpetického viru IBR-IPV na TLP a TL 72, nejsou konformní s cytopatickými změnami indukovanými tímto virem v buněčné linii PK. Jejich podrobná charakteristika bude předmětem dalšího sdělení.

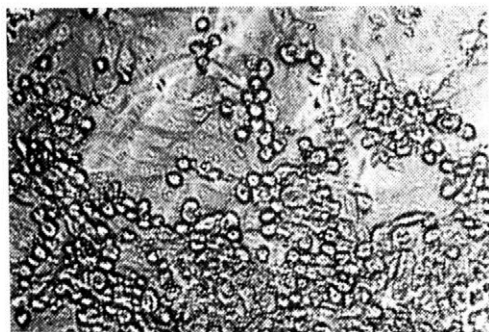
Neředěné tkáňové medium obsahující virus v titru 10^6 – 10^7 způsobí úplnou destrukci buněčné linie PK do 15 hodin po infekci. Rozsah morfologických změn buněk je závislý na koncentraci virové suspenze. Zřetelný pokles množství degenerovaných buněk nastává již po infekci virem v nejnižších ředěních 10^{-1} a 10^{-2} . Další snížení koncentrace viru až na kvanta odpovídající přibližně multiplicitě infekce 0,1 event. 0,01 pak zůstávají bez zjevné morfologické odpovědi infikovaných buněk po celou pozorovací dobu šesti dnů. Naproti tomu tato kvanta viru (nebo nižší) indukují v buňkách TLP a TLS charakteristický CPE, který se může postupně rozšířit na celou TK. Změněné buňky PK jsou zakulacené, smrštěné, někdy s naznačeným syncytiálním uspořádáním (obr. 1, 2, 3).



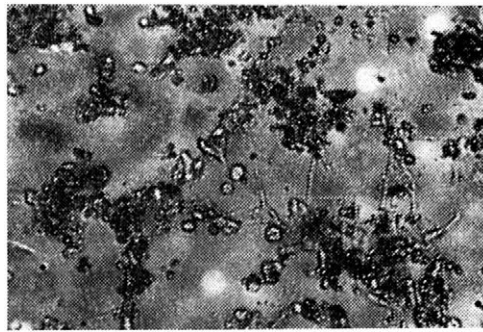
1. Linie buněk PK. Kontrolní kultura za 48 hodin. Zvětšení 100×



2. CPE indukovaný virem IBR-IPV v buňkách linie PK za 18 hodin po infekci. Zvětšení 100×.

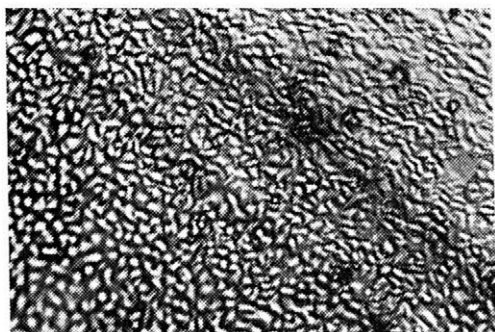


3. CPE indukovaný virem IBR-IPV po naředění 10^{-1} v buňkách linie PK za 24 hodiny po infekci. Zvětšení 100×



4. CPE indukovaný virem IBR-IPV v primárních buňkách selecích ledvin za 36 hodin po infekci

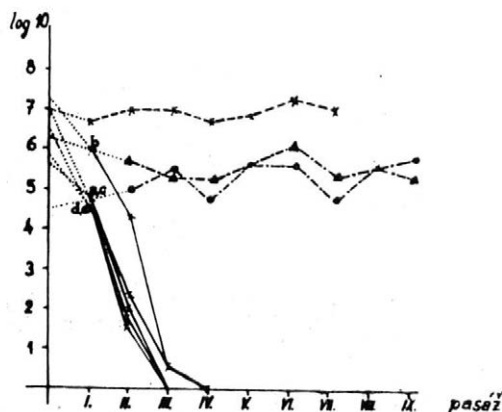
Morfologické změny buněk SLP a jejich syncytiální uspořádání indukované virem nejsou tak charakteristické a jsou často méně zřetelné (obr. 4, 5). Začátek těchto změn je závislý na koncentraci virové suspenze. Objevuje se za 12 až 18 hodin po infekci a v nejvyšších ředěních za 144 hodiny.



5. Primární buňky selečích ledvin. Kontrolní kultura za 48 hodin

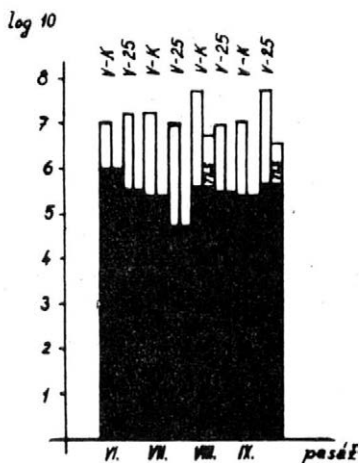
U HeLa buněk jsme nepozorovali cytopatické změny ani po infekci maximálními kvanty viru.

Při vědomí jistých rozdílů ve vývoji CPE u buněčné linie PK na jedné straně a TLS, TLP a SLP na straně druhé bylo třeba v dalších experimentech odpovědět na otázku, zda morfologické změny buněk PK jsou provázeny syntézou viru, resp. zda jsou důsledkem této syntézy.



- a – kmen V-Košice/VI; títř 5,66 – PK
 b – kmen V-Košice/V; títř 7,33 – PK
 c – kmen V-25/35; títř 7,00 – PK
 d – kmen V-25/XXIX; títř 6,5 – PK
 e – kmdn V-19/XXIX; títř 5,76 – PK
 ● – — — — ● kmen V-25/XXXII; títř 4,50 – LP
 ▲ – — — — ▲ kmen V-Košice/VII; títř 6,33 – LP
 × — — — × primární buňky telv ledvin; kmen V-25/35

6. Titry viru IBR-IPV po pasážích na linii vepřových ledvin PK a na primárních buňkách selečích ledvin (SLP)



- Kmeny pasážované na SLP
 □ Kmeny paralelně pomnožené na TLP
 V-K, kmen V-Košice; títř 6,33
 V-25, kmen V-25/XXXII; títř 4,5

7. Porovnání titrů pasážovaných kmenů IBR-IPV na SLP s titry kmenů paralelně pomnožených na TLP (TLS)

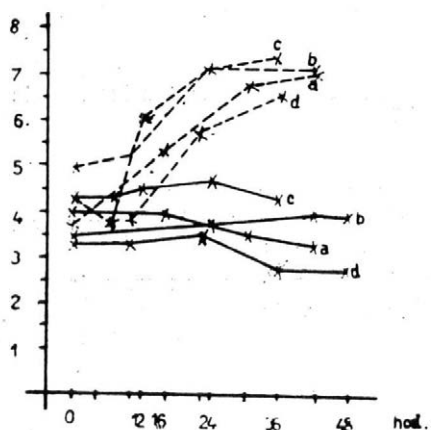
V první sérii pokusů jsme pasážovali tři kmeny viru IBR-IPV na linii PK, HeLa buňkách, SLP a TLP. Titry pomnoženého viru na jednotlivých TK jsme navzájem porovnávali z každé pasáže titrací na TLP. Infikovali jsme vždy pět zkumavkových TK-TLP, PK, HeLa a SLP po 0,1 ml media obsahujícího virus a po 45 až 60minutové adsorpci jsme TK převrstvili udržo-

vacím Earlovým roztokem. Virus jsme sklízeli u TLP a SLP po úplné destrukci TK, tj. po 36 až 48hodinové inkubaci. U PK linie jsme v první pasáži sklízeli dvakrát — za 24 a 48 hodin, ve druhé a třetí pasáži za 48 a 72 hodiny, podobně jako u HeLa buněk. Pasáže následovaly vždy s mediem TK po jejich předchozím zmrazení a rozmrazení. Výsledky jsou uvedeny na obr. 6 a 9.

Ukázalo se, že pasáže viru IBR-IPV na linii PK a HeLa buňkách vedou k náhlému poklesu jeho titru, který po třetí, resp. čtvrté pasáži dosahuje nulových hodnot. Zároveň nastává zřetelný pokles, až vymizení cytopatických buněčných změn.

Naproti tomu v SLP se virus množil během druhé až deváté pasáže do průměrného titru $10^{5.5}$ a v TLP během první až sedmé pasáže do titru 10^7 . U SLP počínaje šestou pasáží jsme virus z každé pasáže paralelně inokulovali na stejný počet pěti zkumavkových kultur TLP 48 až 72 hodiny starých, abychom zjistili přibližně kvantové rozdíly viru pomnoženého na obou tkáňových systémech. Výsledky zaznamenané na obr. 7 odpovídají výsledkům zaznamenaným na obr. 6 a ukazují, že titry pomnoženého viru na TLP jsou v průměru o 1,5 log vyšší než titry dosažené na SLP.

- log 10

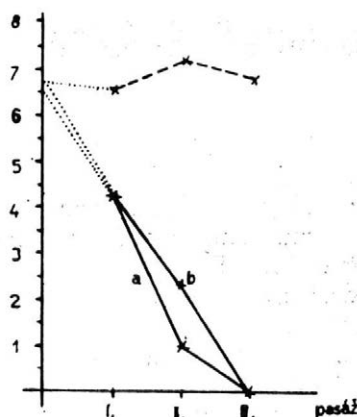


— linie PK
- - - primární buňky telecích ledvin

a — kmen V-25/XXXI; titr 5,66
b — kmen V-Košice/VII; titr 7,23
c — kmen V-Košice/VIII; titr 7,00
d — kmen V-19/XXIX; titr 6,5

8. Růstové křivky extracelulárního viru IBR-IPV na linii PK

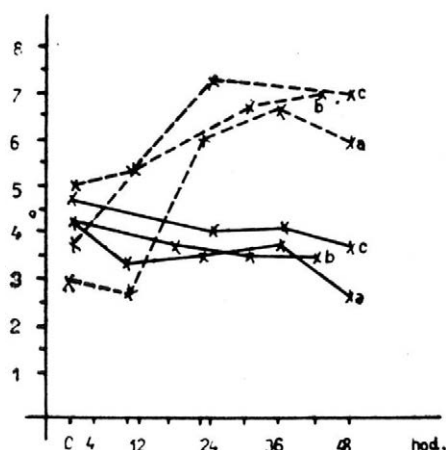
- log 10



a — kmen V-19/XXIX; titr 6,5
b — kmen V-25/XXIX; titr 6,66
c — primární buňky TL; kmen V-25/XXIX

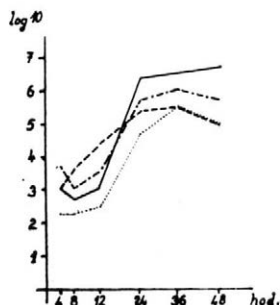
9. Pokles titru viru IBR-IPV po pasážích na buňkách HeLa

Sledováním replikačního cyklu viru IBR-IPV na PK linii jsme dokázali a současně potvrdili výsledky předchozích experimentů, že v této TK se virus v porovnání s TLP nemnoží (obr. 8). Zatímco na TLP byl za 36 hodin po infekci zjištěn vzestup titru v průměru o 3 log, na buněčné linii PK zůstal titr přežívajícího viru v časovém úseku 48 hodin na stejné výši, nebo v důsledku termální inaktivace mírně klesl. Stejně výsledky jako u linie PK jsme získali i po infekci buněk HeLa (obr. 10).



× — × HeLa buňky
 × — × primární buňky telecích ledvin
 a — kmen V-10/XXIX; títř 5,66
 b — kmen V-25/XYXI; títř 5,66
 c — kmen V-Košice/VII; títř 7,33

10. Růstové křivky extracelulárního viru IBR-IPV na HeLa buňkách



..... kmen V-25/XXXII, títř 6,66
 — — — kmen V-Košice/IX, títř 7,23
 — — — kmen V-Košice/IX, títř 7,23
 — — — primární buňky telecích ledvin; kmen V-Košice/IX

11. Růstové křivky viru IBR-IPV na primárních buňkách selečích ledvin (SLP)

Růstové křivky viru IBR-IPV na SLP jsou zaznamenány na obr. 11. Jejich průběh se neliší od průběhu růstové křivky viru na TLP; pouze vrchol, odpovídající maximu pomnoženého viru, je o 1 log nižší.

Imunofluorescenční vyšetření jsme zaměřili na průkaz antigenu jak v buněčné linii PK, tak v buňkách HeLa. Tomuto vyšetření byly kromě toho podrobeny i buňky SLP, infikované různými koncentracemi viru. Pokus o detekci antigenu v buňkách PK byl uskutečněn za 10, 24 a 48 hodin po infekci jednak virem koncentrovaným, jednak naředěným 10^{-1} a 10^{-2} , pro odstupňování cytopatických změn. U HeLa buněk, infikovaných pouze koncentrovaným virem o titru 10^6 a 10^7 , jsme se pokusili o detekci antigenu za 24 a 48 hodin. Tato vyšetření jednoznačně prokázala nepřítomnost viru IBR-IPV v buněčných kulturách PK a HeLa, zatímco v SLP byla replikace viru potvrzena. Hustota a intenzita záření ložisek v SLP byla závislá na koncentraci inokulovaného viru a na stadiu vývoje cytopatických změn.

DISKUSE

Sledování kultivačních možností viru IBR-IPV na linii PK, HeLa buňkách a SLP vychází z údajů řady autorů, kteří ve svých studiích dospěli k odlišným závěrům.

Morfologická odpověď buněk linie PK je vázána jen na infekci vysokými kvanty viru. Jestliže neředěné tkáňové medium s virem o titru 10^6 – 10^7 způsobí úplnou destrukci buněčné linie do 15 hodin, pak s naředěním infekční

dávky viru nastává zřetelný pokles cytopaticky změněných buněk a kvanta viru odpovídající přibližně multiplicitě infekce 0,1 nebo 0,01 zůstávají bez zjevné morfologické odpovědi. Domníváme se, že degenerativní změny buněk, které nejsou provázené syntézou viru, jsou důsledkem hlubokých změn v konfiguraci buněčné membrány a poruch její permeability. Rozdílné nálezy, týkající se morfologické odpovědi PK buněk a linie FL po infekci virem IBR-IPV, získané Menšíkem (1968) na jedné straně a Hahnefeldem a kol. (1970) na straně druhé, lze vysvětlit rozdíly v kvantech viru, použitých k této infekci. Soudíme, že destrukce TK, kterou pozoroval Menšík (1968) za 10 hodin po infekci, byla způsobena koncentrovaným virem; naproti tomu nepřítomnost CPE v izolačních pokusech založených Hahnefeldem a kol. (1970) odpovídá infekci nízkými kvanty viru, která jsou přítomná v klinickém materiálu a která se již na vývoji morfologických buněčných změn neuplatnila.

Morfologické změny buněk SLP po jejich infekci nejsou však charakteristické a někdy jsou i méně zřetelné. Indukce CPE v závislosti na koncentraci viru nastává přibližně ve stejném čase jako u TLP, za 15 až 18 hodin. Úplná destrukce TK je způsobena neředěným virem za 24 až 36 hodin po infekci. Toto zjištění neodpovídá sdělení Bindricha (1960), který zjistil CPE u SLP o 24 hodiny později než u TLP. Kvantu viru, která u linie PK zůstávají bez morfologické odpovědi, u SLP indukují v nejvyšších ředěních cytopatické změny do 144 hodin.

Morfologické změny buněk HeLa nebyly pozorovány ani po jejich infekci nejvyššími kvanty viru, tj. virem neředěným.

Sériové pasážování viru na linii PK a HeLa buňkách se nezdařila a již po třetí, popřípadě po čtvrté pasáži nebyl virus detekován. Naproti tomu v SLP se virus množil během druhé až deváté pasáže do průměrného titru $10^{5,5}$, který je v porovnání s TLP o 1,5 log nižší. V tomto směru jsou nálezy Bindricha (1960) velmi blízké nálezům našim. V žádném případě pak nemůžeme potvrdit neúspěšné pasážování viru na SLP, o kterém podali krátké sdělení Kubín a Klíma (1960).

V PK a HeLa buňkách jsme množení viru IBR-IPV neprokázali. Titr přežívajícího viru v časovém intervalu 36 až 48 hodin zůstal na stejné výši, nebo v důsledku termální inaktivace mírně klesl. Naopak u TLP nastal jeho signifikantní vzestup o 3 log.

Růstové křivky viru v SLP a TLP mají téměř shodný průběh. Jak období latentní fáze pohybující se v rozmezí 8 až 12 hodin, tak perioda vzestupu titru extracelulárního viru jsou v obou tkáňových kulturách přibližně stejné. Vrchol růstové křivky viru na SLP však leží v porovnání s TLP o 1 log níže.

Pouhé sériové a přímé pasážování viru IBR-IPV na HeLa buňkách nedává podle výsledků našich experimentů předpoklady pro jeho úspěšnou adaptaci na tuto TK, neboť možnost adaptace viru touto cestou předpokládá syntézu jistého množství kompletních virových částic. Ke stejným výsledkům dospěli ve svých prvních experimentech i Cabasso a kol. (1957), kteří na rozdíl od nás však zjistili výrazné cytopatické změny v první pasáži a jejich rychlý úbytek až vymizení v pasáži třetí. Na základě výsledků těchto autorů je jednou z cest, jak adaptovat virus na buňky HeLa, střídání pasáží na této TK s pasážemi na TLP. V tomto adaptačním procesu se ukázalo, že také Ginsbergovo medium sehrálo významnou úlohu. Titry takto adaptovaného viru se pohybovaly od 2,5 do 4,5.

Analýzou těchto i našich experimentálních výsledků jsme dospěli k závěru, že v diagnostické praxi se HeLa buňky — podobně jako PK linie — nemo-

hou uplatnit, neboť oba typy TK je nutné považovat za nevnímavé k infekci virem IBR-IPV. Tento závěr jednoznačně potvrzují i imunofluorescenční vyšetření infikovaných TK, neboť vylučují syntézu viru v obou buněčných liniích.

Technická spolupráce: E. Pechoušová, B. Císařová.

Literatura

- BINDRICH H., 1960, Untersuchungen über das Virus des Bläschenausschlages des Rindes (*Exanthema coitale vesiculosum bovis*). Arch. exp. VetMed. 14 : 656-675.
- CABASSO V. J., BROWN R. G., COX H. R., 1957, Infectious Bovine Rhinotracheitis. I. Propagation of Virus in Cancer Cells of Human Origin (HeLa) Proc. Soc. exp. Biol. Med. 95 : 471-476.
- ČERNÝ M., KORYCH B., SOUKUP F., 1964, Verification of Species Characteristics of some Cell Lines in Czechoslovakia. I. Report. J. Hyg. Epidem. Microbiol. Immun. 8 : 353-363.
- DULBECCO R., VOGT M., 1954, Plaque formation and isolation of pure lines with poliomyelitis viruses. J. exp. Med. 99 : 167-183.
- HAHNEFELD H., URBANECK D., LIEBERMANN H., BERGMANN H., 1970, Infektiöse bovine Rhinotracheitis IBR. Nachweis von IBR Virus bei einem Kalb mit *Stomatitis erosiva*. Mh. VetMed. 25 : 222-228.
- HOUSE J. A., 1969, Studies on the Virus of Infectious Bovine Rhinotracheitis-Infectious Pustular Vulvovaginitis. Summary of Ph. D. Thesis Cornell Univ. pp. 2. In: Vet. Bull., 1971, 41 : 24.
- KABELÍK V., HORYNA B., BRATRŠOVSKÝ J., 1973, Kultivace viru infekční bovinní rhinotracheitidy — infekční pustulární vulvovaginitidy skotu na stabilní linii epitelu telecích ledvin. Vet. Med. (Praha) 18, 8 : 475-484.
- KUBIN G., KLIMA J., 1960, Experimentelle Untersuchungen über das Virus des Bläschenausschlages des Rindes. Wien. tierärztl. Mschr. 47 : 741-760.
- MADIN S. H., YORK C. J., MCKERCHER D. G., 1956, Isolation of the Infectious Bovine Rhinotracheitis Virus. Sci 124 : 721-722.
- MCKERCHER D. G., MOULTON J. E., MADIN S. H., KENDRICK J. W., 1959, Infectious Bovine Rhinotracheitis. A Newly Recognized Virus Disease of Cattle. Am. J. vet. Res. 18 : 246-256.
- MCKERCHER D. G., 1957, Infectious Bovine Rhinotracheitis. Adv. vet. Sci. 5 : 299-328.
- MENŠÍK J., 1968, Příspěvek k virologické diagnostice respiračních infekcí skotu. Závěrečná zpráva, VÚVL Brno.
- MIKAJLOVIČ B., 1966, Der Wert von Gewebekulturen bestimmter Tiere für die Züchtung eines infektiösen Rhinotracheitis Virus bei Rindern. Acta vet., Beograd, 16 : 337-340.
- ORSI E. V., CABASSO V. J., 1958, Infectious Bovine Rhinotracheitis (IBR). IV. Cytological Changes in Infected Bovine Kidney and HeLa Culture. Proc. Soc. exp. Biol. Med. 98 : 637-639.
- ROUHANDEH H., WEDER A. A., 1961, Plaque Production by Infectious Bovine Rhinotracheitis (IBR) Virus on Primary Cells and Established Mammalian Cell Lines. Bact. Proc. 61 : 149.
- SCHWARZ A. J. F., ZIRBEL L. W., ESTELA L. A., YORK C. J., 1958, Propagation and Modification of Infectious Bovine Rhinotracheitis Virus (IBR) in Porcine Kidney Tissue Culture. Proc. Soc. exp. Biol. Med. 97 : 680-683.
- WEBSTER R. G., MANKTELOW B. W., 1959, Some Observation on Infectious Bovine Rhinotracheitis in New Zealand. N. Z. vet. J. 7 : 143-149.

Došlo dne 21. 5. 1973

КАБЕЛИК В., ГОРИНА Б., БРАТШОВСКИЙ Й. (Центральный государственный ветеринарный институт, Прага, Чехословакия). Сравнительное изучение восприимчивости клеточной линии РК, HeLa клеток и первичных клеток почек поросят к заражению вирусом инфекционного бычьего ринотрахеита — инфекционного пузырькового вульвовагинита крупного рогатого скота (IBP-IPV). Vet. Med. (Praha) 19 (8) : 489-498, 1974.

Настоящая работа подытоживает результаты культивирования вируса IBR-IPV в клеточной линии PK, первичных клетках почек поросят и HeLa клетках в сравнении с первичными клетками телячьих почек. В результате серийных прямых пересадок вируса на линии PK и HeLa клетках происходит резкое падение его титра, который уже в третьей или в четвертой пересадке достигает нулевых величин. При наблюдении за репликационным циклом вируса было доказано, что вирус на обеих указанных клеточных линиях не размножается. Тогда как у первичных клеток телячьих почек за отрезок времени в 36 часов был отмечен подъем титра на 3 лог, у клеток PK и HeLa клеток титр за тот же отрезок времени остался без изменений и спустя 48 часов вследствие термического инаktivирования настало его постепенное снижение. Путем иммунофлуоресцентного обследования вирус также не был затронут. Морфологические изменения клеток развиваются лишь у клеток PK, причем только после заражения высокими дозами вируса. Заражение концентрированным вирусом с титром 10^6 — 10^7 вызывает полное разрушение клеточной культуры PK в течение 15 часов. Первичные клетки почек поросят размножают вирус до титра, который по сравнению с первичными клетками телячьих почек в среднем на 1—1,5 лог ниже.

инфекционный бычий ринотрахеит; инфекционный пустулярный вульвовагинит; культивация вируса IBR-IPV

KABELÍK V., HORYNA B., BRATRŠOVSKÝ J. (Central State Veterinary Institute, Prague, Czechoslovakia). *A Comparative Study of the Sensibility of the Cellular Line PK, of HeLa Cells, and of Primary Cells of Piglet Kidneys to Infection with the Virus of Infectious Bovine Rhinotracheitis — the Infectious Pustular Vulvovaginitis of Cattle (IBR - IPV)*. Vet. Med. (Praha) 19 (8): 489-498, 1974.

The submitted study summarizes the results obtained in a cultivation of the IBR-IPV virus in the cellular line PK, in the primary cells of piglet kidneys, and in HeLa cells as compared with the primary cells of calf kidneys. Serial direct passages of the virus on the PK line and in HeLa cells result in a violent decreasing of its titer, which reaches already in the third or in the fourth passage zero values. In an examination of the replicate cycle of the virus the fact was proved that the virus does not multiply on both mentioned cellular lines. Whereas in the case of the primary cells of calf kidneys a rising of the titre by 3 log was recorded in a time sector of 36 hours, in the PK cells and HeLa cells the titre did not change in the same time sector, and after 48 hours, in consequence of the thermal inactivation, there set in a slight decreasing. Also by means of immunofluorescent examination the virus was not detected. Morphological changes of cells develop only in the case of PK cells, and that only after infection with high doses of the virus. Infection with the virus in a concentration of a titre of 10^6 — 10^7 causes a full destruction of the PK cellular culture within 15 hours. Primary cells of piglet kidneys propagate the virus up to a titre, which, compared with the primary cells of calf kidneys, is lower on an average by 1—1.5 log.

infectious bovine rhinotracheitis; infectious pustular vulvovaginitis; cultivation of the IBR - IPV virus

KABELÍK V., HORYNA B., BRATRŠOVSKÝ J. (Staatliches Zentralveterinärinstitut, Praha, Tschechoslowakei). *Vergleichsstudien der Sensibilität der PK-Zelllinie, der HeLa-Zellen und der primären Ferkelnierenzellen auf Infektion mit dem Virus der infektiösen bovinen Rhinotracheitis — infektiösen pustelförmigen Vulvovaginitis beim Rind (IBR - IPV)*. Vet. Med. (Praha) 19 (8): 489-498, 1974.

Die vorliegende Studie faßt die Ergebnisse der Kultivierung des IBR-IPV-Virus in der PK-Zelllinie, den primären Ferkelnierenzellen und in den HeLa-Zellen im Vergleich zu den primären Kalbsnierenzellen zusammen. Bei serienmäßigen direkten Viruspassagen auf der PK-Linie und den HeLa-Zellen kommt es zu einer starken Abnahme des Virustiters, der bereits in der dritten, beziehungsweise in der vierten Passage Nullwerte erreicht. Bei Verfolgung des Replikationszyklus des Virus wurde nachgewiesen, daß sich das Virus auf den beiden angeführten Zelllinien nicht vermehrt. Während bei den primären Kalbsnierenzellen im Zeitintervall von 36 Stunden eine Erhöhung des Titters um 3 log verzeichnet wurde, veränderte sich der Titer bei den PK- und HeLa-Zellen im gleichen Zeitabschnitt nicht und nach 48 Stunden kommt es infolge der thermalen Inaktivierung sogar zu einer mäßigen Verminderung desselben. Bei Immunfluoreszenzanalysen wurde das Virus eben-

falls nicht nachgewiesen. Morphologische Veränderungen der Zellen entwickeln sich nur bei den PK-Zellen, und dies nur nach Infektion mit hohen Virusdosen. Die Infektion mit konzentriertem Virus von 10^6 — 10^7 -Titer hat eine volle Destruktion der PK-Zellkultur innerhalb von 15 Stunden zur Folge. Die primären Ferkelnierenzellen vermehren das Virus bis zu einem im Vergleich zu den primären Kalbsnierenzellen durchschnittlich um 1 bis 1,5 log niedrigeren Titer.

infektiöse bovine Rhinotracheitis; infektiöse pustelförmige Vulvovaginitis; IBR-IPV-Viruskultivierung

Adresa autorů:

MVDr. V. Kabelík, MVDr. B. Horyna, MVDr. J. Bratršovský, Ústřední státní veterinární ústav, Na vinici 165, 156 03 Praha 6-Lysolaje

VYUŽITÍ PROTILÁTEK ZNAČENÝCH KŘENOVOU PEROXIDÁZOU K PRŮKAZU ANTIGENŮ

Z. Pospíšil, J. Franz

Výzkumný ústav veterinárního lékařství, Brno

POSPÍŠIL Z., FRANZ J. *Využití protilátek značených křenovou peroxidázou k průkazu antigenů.* Vet. Med. (Praha) 19 (8) : 499-504, 1974.

Bylo popsáno využití protilátek značených křenovou peroxidázou pro průkaz influenzového antigenu (A/Hong Kong/68) v plicích experimentálně infikovaných selat. Pozornost je věnována převážně metodické stránce. Diskuse se zaměřuje na některé získané praktické poznatky a výhody použité metody.

konjugát; metoda; influenza; virus; selata

V současné době se k průkazu antigenů a protilátek používá v široké míře různě modifikovaných metod s protilátkami značenými fluorescenčními barvivami. Ve snaze odstranit některé jejich nevýhody (nezbytnost fluorescenčního mikroskopu, krátkodobá údržnost preparátů, nemožnost použití metody v elektronové mikroskopii aj.) byla nedávno vypracována metoda detekce antigenů protilátkami značenými enzymem, který se specifickým substrátem dává barevný reakční produkt. Používá se zejména křenové peroxidázy (Graham a Karnovsky 1966, Nakane a Pierce 1967, Avrameas a Bouteille 1968, Atanasiu a kol. 1971 aj.) a fosfatáz (Ram a kol. 1966, Wicker a Avrameas 1969 aj.).

V naší laboratoři, ve které se již delší dobu zabýváme metodou fluorescenčních protilátek, jsme k detekci virového antigenu použili také modifikované metody podle Grahama a Karnovského (1966) s křenovou peroxidázou. Předmětem našeho sdělení je pracovní postup při průkazu influenzového viru touto metodou a předání získaných praktických poznatků.

MATERIÁL A METODY

EXPERIMENTÁLNÍ INFEKCE SELAT

K experimentální infekci byl použit virus influenzy A/Hong Kong/68. Selata k infekci byla vybavena hysterektomií, chována v inkubátoru a krmena sterilní dietou. Za tři dny po vybavení byla selata intranasálně infikována 0,5 ml alantoidní tekutiny obsahující $10^{6.5}$ EID₅₀/0,1 ml viru. Bližší údaje jsou popsány v práci Pospíšila a kol. (1973).

PŘÍPRAVA TKÁNĚ

Excise z plic byly ihned po usmrcení zvířete zmrazeny v tekutém propanbutanu a před dalším zpracováním byly uloženy na suchém ledu (CO_2). Řezy $6-8 \mu$ silné byly připravovány na kryostatu (popřípadě na zmrazovacím mikrotomu), po zaschnutí byly fixovány 10 min. ve vychlazeném acetonu a před vlastní procedurou krátce vykoupány ve fosfátovém pufru o pH 7,2.

Některé vzorky tkáně byly zality zkrácenou metódou do parafinu (Pospíšil a kol. 1969); po odparafinování bylo u obou způsobů postupováno shodně.

PŘÍPRAVA KONJUGÁTU

Byl použit postup podle Avramease (1969): 5 mg IgG a 12 mg křemové peroxidázy se rozpustí v 1 ml 0,1 M fosfátového pufru pH 6,8. Za mírného třepání se přidá 0,05 ml 1% vodného roztoku glutaraldehydu. Po dvouhodinovém stání při pokojové teplotě se roztok dialyzuje dvakrát po 8 hodinách při $+4^\circ\text{C}$. Potom se roztok centrifuguje a může se použít.

Stejně byl připraven negativní konjugát ze séra, které neobsahovalo protilátky.

VLASTNÍ POSTUP BARVENÍ

1. Vazba endogenní tkáňové peroxidázy v roztoku 10^{-3}M NaN_3 + 0,01% H_2O_2 v 0,05 M tris pufru pH 7,6 po 30 min při pokojové teplotě (Bergmeyer 1965, Zeromski a kol. 1970). Důkladné vyprání v pufrovaném fyziologickém roztoku 30 min. Lze dělat v kyvetách.

I. Rozdílné výsledky v řezech při průkazu influenzového antigenu po vynechání některé fáze v pracovním postupu

	NaN_3 + H_2O_2	Peroxidá- zový konjugát	Diamino- benzidin + H_2O_2	Výsledky
Řez I	+	+	+	obarveny buňky se specifickým antigenem, jen slabě nespecificky přibarveno pozadí, buňky s endogenní peroxidázou neobarveny
Řez II	+	0	+	preparáty vůbec neobarveny
Řez III	0	+	+	silně nespecificky obarveno pozadí, obarveny jsou i buňky s endogenní peroxidázou a buňky se specifickým antigenem
Řez IV	0	0	+	obarveny pouze buňky s endogenní peroxidázou, jinak tkáň zcela bez obarvení
Řez V	+	+	0	preparáty vůbec neobarveny

2. Na sklíčka ve vlhké komůrce (jako při imunofluorescenční metodě) napat peroxidázový konjugát. Inkubace 30 min při 37 °C. Velmi důkladné vyprání ve vyměňovaném fosfátovém pufru 30 min — 1 hod.

3. Inkubace v roztoku 75 mg 3,3'-diaminobenzidinhydrochloridu a 0,001 % H_2O_2 ve 100 ml 0,05 M tris pufru pH 7,6. Inkubuje se při pokojové teplotě v kyvetách 10—30 min. Stupeň zbarvení lze kontrolovat pod mikroskopem. Následuje vyprání ve fosfátovém pufru 20 min.

4. Řezy pro lepší orientaci možno dobarvit jádrovou červení 2—4 min.

5. Odvodnit alkoholem, projasnit xylenem, montáž do kanadského balzámu.

Jako kontroly sloužily jednak řezy z neinfikované tkáně, na něž byl aplikován popsáný postup, jednak infikovaná tkáň s vynecháním některé fáze barvení (tab. I) a dále použití peroxidázového konjugátu z negativního séra. U některých řezů bylo pro srovnání provedeno rovněž imunofluorescenční vyšetření (Pospíšil a kol. 1973).

PŘÍPRAVA ROZTOKŮ

1. 10^{-3} M NaN_3 (azid sodný):

6,5 mg NaN_3 100 ml tris pufru pH 7,6

2. 0,05 M tris pufr pH 7,6:

a) 6,057 g základní soli (trishydroxymethylaminometan) do 1000 ml destilované vody

b) 2,16 ml koncentrované HCl do 1000 ml destilované vody

Smíchat 75 ml roztoku a)

115,5 ml roztoku b)

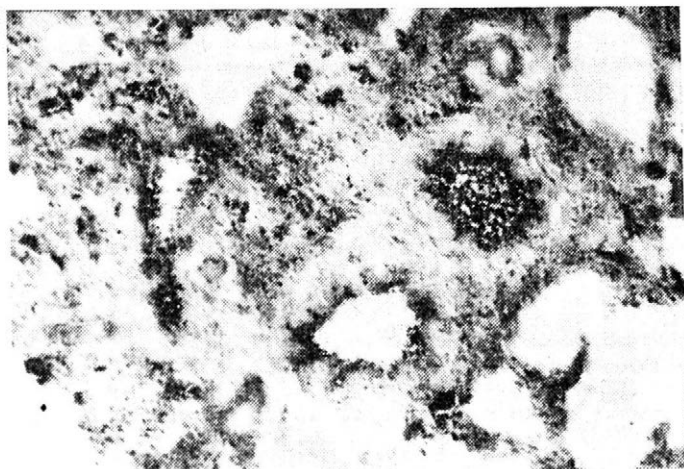
3. Při ředění H_2O_2 je nutné vycházet ze skutečnosti, že „koncentrovaný“ H_2O_2 je 30 %.

0,1 ml konc. H_2O_2 + 30 ml tris pufru 0,1 % H_2O_2

1 ml 0,1 % H_2O_2 do 100 ml tris pufru 0,001 % H_2O_2

1. Specifický průkaz influenzového antigenu v epitelálních buňkách bronchů a v některých buňkách alveolů plic protilátkami značenými křenovou peroxidázou. Plíce selete tři dny po experimentální infekci virem influenzy A/Hong Kong/68

Pův. zvětš. 10×4



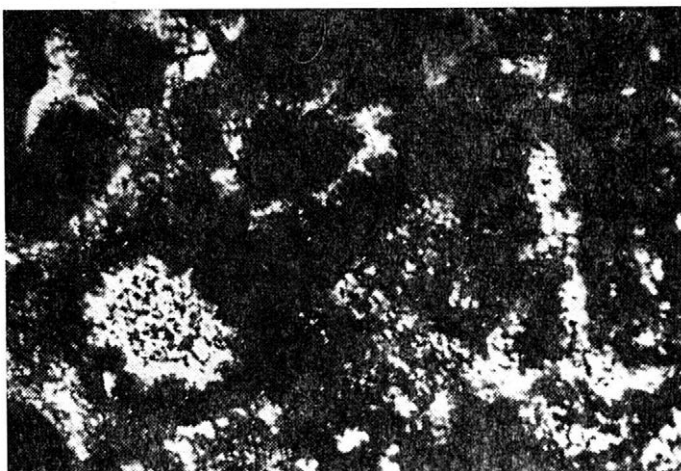
VÝSLEDKY

Influenzový antigen byl křenovou peroxidázou prokázán vznikem hnědé až tmavohnědé amorfni sraženiny, která dovoľovala určit lokalizaci virového antigenu na celulární úrovni. Barevné reakční produkty se nacházely převážně

v cytoplasmě, méně potom v jádře infikovaných epitelálních buněk bronchů a alveolárních buněk plicního parenchymu (obr. 1), což zcela odpovídalo průkazu influenzy viru imunofluorescenční metodou (obr. 2).

V kontrolních neinfikovaných řezech, stejně jako v infikovaných řezech bez aplikace konjugátu či s konjugátem negativním nebyly popsány výsledky zjištěny.

O nespecifických reakcích, představovaných hlavně difúzním přibarvováním pozadí a reakcí buněk s endogenní peroxidázou, bude podrobněji pojednáno v diskusi.



2. Specifická imunofluorescence influenzy viru v epitelálních buňkách bronchů a v některých buňkách alveolů plic. Nepřímá imunofluorescenční metoda, řez připraven ze stejného vzorku plic jako na obr. 1. Pův. zvětš. 20×3

DISKUSE

Použitím peroxidázového konjugátu byl prokázán influenzy viru antigen v místech, ve kterých byl zjištěn také imunofluorescencí. Podstatou barevné reakce s peroxidázovým konjugátem je oxidace diaminobenzidinu systémem peroxid — peroxidáza na benzidinovou hněd, která je amorfni a umožňuje dobrou lokalizaci antigenu.

Diaminobenzidin však může být oxidován i jinými složkami, což vede ke vzniku nespecifických reakcí. Tyto reakce dávají buňky, které obsahují endogenní tkáňovou peroxidázu, jako jsou žírné buňky, granulocyty, buňky mléčné a štítné žlázy a dále je známá pseudoperoxidázová aktivita hemoglobinu. Odtlumení tkáňové peroxidázy se provádí inkubací řezů v 10^{-3} NaN_3 + 0,01 % H_2O_2 před aplikací peroxidázového konjugátu. Výsledky této reakce a některých dalších kontrol specifity reakce s peroxidázovým konjugátem jsou uvedeny v tab. I.

Nespecifickou reakci může dále způsobit nespecifická vazba peroxidázového konjugátu na tkáň či volná peroxidáza v konjugátu. Při snižování nespecifického přibarvování se nám osvědčilo vysycování konjugátu orgánovým práškem a ředění konjugátu obdobně jako u imunofluorescenční metody.

Jedním ze základních předpokladů pro získání specifických výsledků je důkladné vypírání řezů. Oxidační reakce je velmi citlivá a i stopy peroxidázy vedou ke vzniku barviva. Při nedostatečném vyprání dochází velmi brzy po ponoření řezů do roztoku diaminobenzidinu s H_2O_2 ke vzniku hnědého závoje kolem řezů a k nespecifickému přibarvování pozadí. Někdy jsme se setkali

s tím, že samotný roztok se zbarvoval ještě před přidáním řezů. Jednalo se zřejmě o nedostatečně umyté sklo, kde stopy moderních čistících prostředků způsobily oxidaci a vznik hnědavého zabarvení. Jinak zůstává roztok dlouhou dobu čistý.

Pro průkaz antigenu se nejlépe osvědčily řezy zhotovené v kryostatu. Lokalizace antigenu byla velmi dobrá a nespecifické reakce byly jen velmi slabé. Řezy jsme fixovali většinou v acetonu, poněvadž glutaraldehyd, jak doporučují Graham a Karnovsky (1966), jsme měli k dispozici jen přechodnou dobu. S výjimkou malých rozdílů ve struktuře tkání ve prospěch glutaraldehydu jsme nezjistili žádné podstatné rozdíly.

V případě, že není k dispozici kryostat, lze s úspěchem použít řezy připravené na zmrazovacím mikrotomu. Neosvědčily se nám však parafinové řezy pro silné nespecifické přibarvování a špatnou lokalizaci specifické reakce.

Někteří autoři doporučují obzvláště pro elektronovou mikroskopii postfixaci řezů v 1–2% roztoku OsO_4 v destilované vodě (Graham a Karnovsky 1966, Cornell a kol. 1971, Ubertini a kol. 1971 aj.). Pro optickou mikroskopii není tento postup nutný, i když při něm dochází ke ztmavnutí barevného produktu a zvýraznění reakce. I v řezech bez dodatečné fixace jsme pozorovali dostatečnou stabilitu a výraznost barevného produktu téměř za 10 měsíců po zhotovení preparátů.

Možnost použití metody s křenovou peroxidázou v elektronové mikroskopii a dlouhodobá uchovatelnost preparátů jsou určitými výhodami proti dnes běžně používané imunofluorescenční metodě. Připočteme-li k tomu ještě další výhodu, spojenou s použitím běžného světelného mikroskopu a skutečnost, že křenovou peroxidázu lze vhodně použít i ke studiu tvorby protilátek, neboť sama působí přímo jako antigen (Leduc a kol. 1968, Avrameas a kol. 1971, Francois 1970), jeví se metoda s křenovou peroxidázou jako značně perspektivní.

Poděkování

Děkujeme dr. Vermouskovi z n. p. Lachema Brno za laskavé poskytnutí křenové peroxidázy.

Literatura

- ATANASIU P., DRAGONAS P., TSIANG H., HARBI A., 1971, Immuno-péroxydase. Nouvelle technique spécifique de mise en évidence de l'antigène rabique intra et extracellulaire en microscopie optique. *Annls Inst. Pasteur, Paris* 121, 2: 247-251.
- AVRAMEAS S., 1969, Coupling of enzymes to proteins with glutaraldehyde. Use of the conjugates for the detection of antigens and antibodies. *Immunochimistry* 6: 43-52.
- AVRAMEAS S., BOUTEILLE M., 1968, Ultrastructural localization of antibody by antigen label with peroxidase. *Expl Cell Res.* 53: 166-176.
- AVRAMEAS S., TAUDOU B., TERNYNCK T., 1971, Specificity of antibodies synthesized by immunocytes as detected by immunoenzyme technique. *Int. Archs Allergy appl. Immun.* 40: 161-170.
- BERGMEYER H. U., 1965, *Methods in enzymatic analysis*. 2nd Ed. Acad. Press New York.
- CORNELL R., WALKER A., ISSELBACHER K. J., 1971, Small intestinal absorption of horseradish peroxidase. A cytochemical study. *Lab. Invest.* 25, 1: 42-49.
- FRANCOIS D., 1970, Localisation cytochimique d'anticorps anti-péroxydase chez le Hamster. *C. r. Séanc. Soc. Biol.* 164: 483-486.
- GRAHAM R. C., KARNOVSKY M. J., 1966, The early stages of adsorption of injected horseradish peroxidase in the proximal tubules of mouse kidney, ultrastructural cytochemistry by a new technique. *J. Histochem. Cytochem.* 14: 291-302.

- LEDUC E., AVRAMAS S., BOUTEILLE M., 1968, Ultrastructural localization of antibody in differentiating plasma cells. *J. exp. Med.* 127 : 109-118.
- NAKANE P. K., PIERCE G. B., 1967, Enzyme-labelled antibodies for the light and electron microscopic localization of tissue antigens. *J. Cell. Biol.* 33 : 307-318.
- POSPÍŠIL Z., MESÁROŠ E., ŠTĚPÁNEK J., 1969, Diagnostika virové gastroenteritidy prasat z histologických řezů pomocí imunofluorescenční metody. *Vet. Med. (Praha)* 14, 6 : 351-356.
- POSPÍŠIL Z., MENŠÍK J., TÚMOVÁ B., ŠTUMPA A., ČERNÝ M., 1973, Experimental infection of colostrum-deprived, specific-pathogen free piglets with A/Hong Kong/68 (H3N2) influenza virus. *Zentbl. VetMed., B*, 20 : 139-152.
- RAM J. S., NAKANE P., RAWLINSON D. G., 1966, Enzyme-labelled antibodies for ultrastructural studies. *Fedn Proc. Fedn Am. Socs exp. Biol.* 25 : 732-740.
- UBERTINI T., WILKIE B. N., NORONHA F., 1971, Use of horseradish peroxidase-labelled antibody for light and electron microscope localization of reovirus antigen. *Appl. Microbiol.* 21 : 534-538.
- WICKER R., AVRAMEAS S., 1969, Localization of virus antigens by enzyme-labelled antibodies. *J. gen. Virology* 4 : 465-472.
- ZEROMSKI P. J., PERLMANN P., LAGERCRANTZ R., GUSTAFSSÖN B. E., 1970, Immunological studies in ulcerative colitis. VI. Light microscopic studies with peroxidase conjugated antibodies. *Clin. exp. Immunol.* 7, 4 : 463-469.

Došlo dne 19. 9. 1973

ПОСПИШИЛ З., ФРАНЦ Й (Научно-исследовательский институт ветеринарии, Брно, Чехословакия). Применение антител, меченых хреновой пероксидазой для доказательства антигенов. *Vet. Med. (Praha)* 19 (8) : 499-504, 1974.

Описывается применение антител, меченых хреновой пероксидазой, для доказательства антигена инфлюэнца (А/Гонг Конг/68) в легких экспериментально зараженных поросят. Преимущественно обращалось внимание методической точке зрения и обсуждались некоторые полученные практические сведения и преимущества применяемого метода.

конъюгат; метод; инфлюэнца; вирус; поросята

POSPÍŠIL Z., FRANZ J. (Research Institute of Veterinary Medicine, Brno, Czechoslovakia). *The Use of the Antibodies Stained with Horseradish Peroxidase for the Demonstration of the Presence of Antigens.* *Vet. Med. (Praha)* 19 (8) : 499-504, 1974.

There is a description of the use of the antibodies marked with horseradish peroxidase for the detection of the influenza antigen (A/Hong Kong/68) in the lungs of experimentally infected piglets. Attention is paid mainly to the methodical aspects, and some of the new-obtained practical findings and the advantages of the method are being discussed.

conjugate; method; influenza; virus; piglets

POSPÍŠIL Z., FRANZ J. (Forschungsinstitut für Veterinärmedizin, Brno, Tschechoslowakei). *Ausnutzung der mit Meerrettichperoxidase markierten Antikörper zum Nachweis von Antigen.* *Vet. Med. (Praha)* 19 (8) : 499-504, 1974.

Es wurde die Ausnutzung der mit Meerrettichperoxidase markierten Antikörper zum Nachweis des Influenza-Antigens (A/Hong Kong/68) in Lungen experimentell infizierter Ferkel beschrieben. Die Verfasser befassen sich vorwiegend mit dem methodologischen Aspekt des Problems und erläutern einige gewonnene praktische Erkenntnisse und Vorteile der angewandten Methode.

Konjugat; Methode; Influenza; Virus; Ferkel

Adresa autorů:

MVDr. Z. Pospíšil, CSc., RNDr. J. Franz, Výzkumný ústav veterinárního lékařství, Hudcova 70, 621 32 Brno - Medlánky

AKTIVITA ENZÝMOV GOT, GPT, SODH A AF V KRVNOM SÉRE KÔZ PO CISÁRSKYCH REZOCH

J. Tkáč, A. Orság

Vysoká škola veterinárska, Košice

Venované k 50. narodeninám prof. MVDr. Juraja Šuttu, CSc.

TKÁČ J., ORSÁG A. *Aktivita enzýmov GOT, GPT, SODH a AF v krvnom sére kôz po cisárskych rezoch.* Vet. Med. (Praha) 19 (8) : 505-509, 1974.

V pokusoch sa sleduje vplyv experimentálnych cisárskych rezov v halotanovej anestéze u 11 kôz a v halotanovej anestéze s premedikáciou Thiopentalom u 9 kôz na aktivitu enzýmov GOT, GPT, SODH a AF v priebehu 14 dní. Klinickým sledovaním sa nepozorovali komplikácie v priebehu hlbokej jednodňovej anestézy, operačného zákroku, ani v pooperačnom období. K zvýšenej aktivite GOT a SODH došlo len prvý deň po vykonanej operácii a dosiahnuté hodnoty neprevyšujú, alebo len mierne prevyšujú fyziologickú hranicu.

cisársky rez; enzýmy; celkové znecitlivenie; kozy

V literatúre sa stretávame len ojedinele s prácami autorov, ktorí používajú kozy ako pokusné zvieratá. Traduje sa, že kozy majú zvýšenú citlivosť k ťažkému operačnému zákroku ako je napr. laparatómia a *saectio caesarea conservativa*. Názory rôznych starších autorov sa líšia pri posudzovaní náročnosti týchto zákrokov na kozách. Čech (1962) z vlastných skúseností priaznivo hodnotí vykonané cisárske rezy u kôz. Iste tu bude rozhodovať zlepšená chirurgická technika operácie, kvalitná anestéza, ako aj vo väčšej miere používané antibiotiká.

V práci sme si chceli overiť enzymatickú reakciu organizmu na operačný zákrok u tohto druhu zvierat a podiel vplyvu používaných anestetík na aktivitu enzýmov.

MATERIÁL A METÓDY

Pokusy sa vykonali na dvoch skupinách klinicky zdravých kôz s dĺžkou gravidity 29–130 dní, vo veku 1–7 rokov a váhe 22–50 kg.

Do prvej skupiny sa zaradilo 11 kôz u ktorých sa cisársky rez vykonával v halotanovej anestéze intranazálnou aplikáciou Narcotanu Spofa (Orság, Tkáč 1971). Dĺžka anestézy bola vopred stanovená na jednu hodinu. V tých prípadoch, keď sa operačný zákrok ukončil skôr, v anestéze sa pokračovalo až do stanovenej doby.

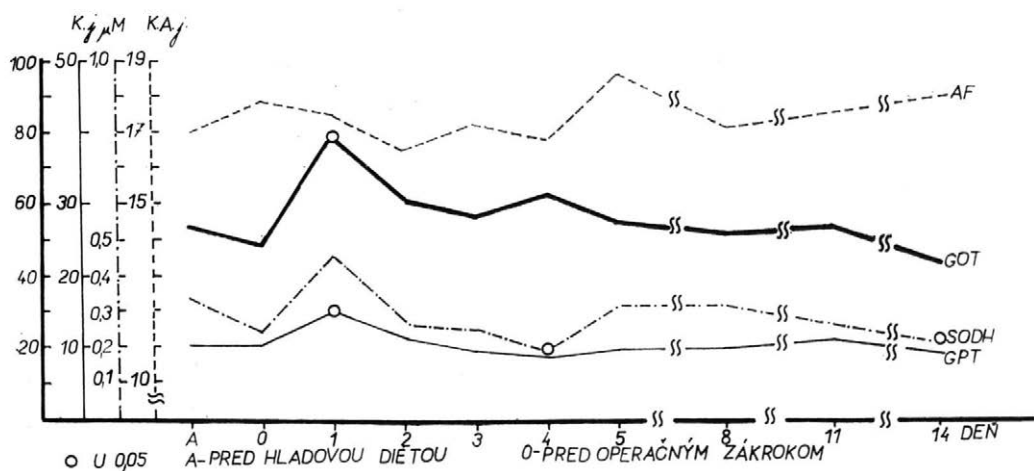
V druhej skupine 9 kôz sa cisársky rez vykonal po intravenózne aplikácii 5% roztoku Thiopentalu Spofa v dávke 15 mg kg^{-1} ž. v. a v anestéze sa pokračovalo intranazálnou aplikáciou Narcotanu ako u predchádzajúcej skupiny.

U oboch skupín sa dodržiavala 24hodinová hladovka a 30 minút pred anestézou sa aplikoval subkutánne atropín v dávke $0,1 \text{ mg kg}^{-1}$ ž. v. Vlastná operácia sa vykonala v ľavej slabine bežne zaužívanou operačnou technikou pod clonou penicilínu, ktorý sa aplikoval ešte v priebehu ďalších 5 dní.

Aktivita enzýmov glutamát-oxalocetovej (GOT) a glutamát pyrohroznovej (GPT) transaminázy sa určovala metódou podľa Reitman-Frankela (Pojer a kol. 1968) a vyjadrovala sa v Karmenových jednotkách (K. j.). Stanovenie aktivity sorbitdehydrogenázy (SODH) sa vykonalo metódou podľa autorov Ševela, Továrek (1961) a hodnoty sú vyjadrené v μM fruktózy (1 ml séra) pri 37°C a alkalické fosfatázy (AF) metódou podľa Urbacha-Raabeho (Homolka 1956) vyjadrenej v King-Armstrongových jednotkách (K. A. j.). Vzorok krvi k vyšetrovaniu sér na aktivitu enzýmov sa odoberali z *vena jugularis* pred hladovkou, pred anestézou a potom v intervaloch 1, 2, 3, 4, 5, 11 a 14 dní. K štatistickému vyhodnoteniu výsledkov sa použil Mann-Whitneyov *U*-test.

VÝSLEDKY

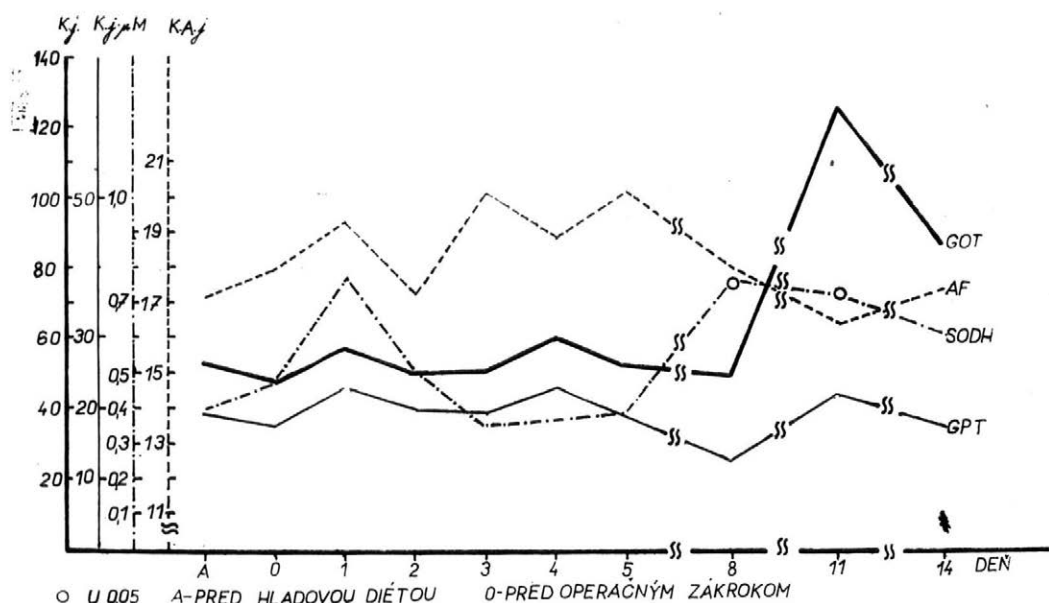
V priebehu anestézy a operačného zákroku u oboch skupín sa nepozorovali komplikácie, iba u niekoľkých kusov bola mierna salivácia. Regurgitácia sa vyskytla v skupine, kde sa použil na premedikáciu Thiopental. V prvej aj druhej skupine bola anestéza hlboká, sprevádzaná vymiznutím reflexu kožného, viečkového, interdigitálneho a korneálneho. Nebola pozorovaná ani citlivosť v operačnom poli. Spotreba Narcotanu bola u prvej skupiny $0,88 \text{ ml kg}^{-1}$ ž. v., u druhej $0,64 \text{ ml kg}^{-1}$ ž. v. Zvieratá sa po zákroku a ukončení anestézy rýchlo zotavovali. V pooperačnom období boli kozy čulé, prijímali krmivo. Operačné rany sa zahojili *per primam intentionem*.



1. Aktivita enzýmov v krvnom sére kôz po cisárskych rezoch v halotanovej anestéze

Aktivita enzýmů v skupině, kde se použila samotná halotanová anestéza, dosáhla signifikantné zvýšení iba v prvom dni po operačnom zákroku u GOT a GPT. V ďalších dňoch ich priebeh zaznamenal mierny pokles (obr. 1). Zmeny u SODH v smere zvýšenia sú v prvom dni bez štatistickej významnosti, v štvrtom a štrnástom dni je významný pokles. AF v priebehu sledovania je bez významnejších zmien. U všetkých sledovaných enzýmů aktivita ani v jednom dni však neprekročila rozpätie fyziologických hodnôt.

Výsledky dosiahnuté u druhej skupiny, kde sa použila halotanová anestéza s premedikáciou Thiopentalom, sú znázornené na obr. 2. V prvom dni sa aktivita enzýmů nesignifikantne zvýšila u všetkých sledovaných enzýmů a k východným hodnotám sa vrátila už na druhý resp. tretí deň. V období 8 až 11 dní od vykonania operačného zákroku došlo k prechodnému zvýšeniu aktivity SODH a GOT. Aktivita AF a GPT kolíše v priebehu sledovania v rámci normy.



2. Aktivita enzýmů v krvnom sére kôz po cisárskych rezoch v halotanovej anestéze s premedikáciou Thiopentalom

DISKUSIA

Pri hodnotení dosiahnutých výsledkov sme sa opierali o matematicko-štatistické vyhodnotenie a o fyziologické hodnoty enzýmů, ktoré sme získali v našich pokusoch pred hladovkou. Tieto hodnoty v podstate súhlasia s tými, ktoré dosiahli vo svojej práci H a q u e (1970) u GOT a GPT a S i t k o v á (1965) u AF.

Porovnaním získaných hodnôt obidvoch skupín nepozoroval sa medzi nimi podstatný rozdiel. Pozoruhodné je však, že vzostup aktivity GOT a SODH je len vo fyziologických hraniciach, na rozdiel od iných pokusov, kde sa sledoval len samotný vplyv halotanovej anestézy (T k á č 1971). V týchto pokusoch po jednohodinovej halotanovej anestéze bez operačného zákroku bol zaznamenaný

v prvých dňoch štatisticky vysoko významný vzostup aktivity enzýmov GOT a SODH. V tej istej práci v pokusoch, kde sa vykonala experimentálna excízia svalového tkaniva v lokálnej anestéze u oviec, aktivita enzýmov poklesla.

Na základe dosiahnutých výsledkov sa dá predpokladať, že na aktivitu enzýmov, predovšetkým GOT a SODH, majú vplyv okrem operačného zákroku a anestézy aj iné nie celkom známe faktory. Nevylučuje sa, že samotný operačný zákrok bez komplikácií u zdravých zvierat nezvyšuje, ale naopak znižuje aktivitu GOT a SODH.

Literatúra

- CECH Z., 1962, *Sectio caesarea conservativa* u kôz. Veterinářství 12 : 345-347.
- HAQUE A., 1970, Radiocinematography of induced traumatic reticuloperitonitis in goats. Kandidátska disertačná práca, VŠV Brno.
- HOMOLKA J., 1956, Chemická diagnostika v detském věku. 2. vydanie, SZdN, Praha.
- ORSÁG A., TKÁČ J., 1971, Klinické skúsenosti s použitím inhalačnej halothanovej anestézy u oviec. Vet. Med. (Praha) 16, 10 : 603-612.
- POJER J., NINGER E., ŠVELA M., JEŽEK P., TOVÁREK J., 1968, Enzymologie jaterních nemocí. 2. vydání, SZdN, Praha.
- SITKOVÁ M., 1965, Aktivita alkalické fosfatázy v krvnom sére prežúvavcov. Diplomová práca, VŠV Košice.
- ŠVELA M., TOVÁREK J., 1961, Fotokolorimetrická metoda stanovení aktivity sorbitdehydrogenázy v krevním séru. Vnitřní lékařství, 12, 7 : 1392-1401.
- TKÁČ J., 1971, Vplyv niektorých chirurgických ochorení a operačných zákrokov na aktivitu enzýmov GOT, GPT, SODH a AF v krvnom sére domácich zvierat. Kandidátska dizertačná práca, VŠV Košice.

Došlo dne 10. 5. 1973

ТКАЧ Й., ОРСАГ М. (Ветеринарный институт, Кошице, Чехословакия). Активность энзимов GOT, GPT, SODH и AF в сыворотке крови коз после кесарева сечения. Vet. Med. (Praha) 19 (8) : 505-509, 1974.

Во время опытов изучалось влияние экспериментальных кесаревых сечений в галотанной анестезии у 11 коз и в галотанной анестезии с применением Тиопентала у 9 коз на активность энзимов GOT, GPT, SODH и AF в течение 14 дней. Клинически не наблюдалось осложнений во время глубокой одночасовой анестезии, оперативного вмешательства и даже в послеоперационный период. Повышенная активность GOT и SODH наблюдалась первый день после проведенной операции; полученные значения не превышают или лишь незначительно превышают физиологическую границу.

кесарево сечение; энзимы; общая нечувствительность; козы

TKÁČ J., ORSÁG A. (University School of Veterinary Medicine, Košice, Czechoslovakia). *The Activity of the GOT, GPT, SODH and AF Enzymes in the Blood Serum of Goats after Caesarean Sections.* Vet. Med. (Praha) 19 (8) : 505-509, 1974.

The trials were performed to study the effect of experimental caesarean sections under halothanic anesthesia in 11 goats, and under halothanic anesthesia with Thiopental premedication in 9 goats, on the activity of the GOT, GPT, SODH and AP enzymes in the course of 14 days. Clinical examination revealed no complications in the course of deep one-hour anesthesia, operation, and in the post-operation period. An increased activity of GOT and SODH was observed only the first day after the operation, and the values obtained do not exceed (or exceed only slightly) the physiological limit.

caesarean section; enzymes; general anesthesia; goats

TKÁČ J., ORSÁG A. (Veterinärmedizinische Hochschule, Košice, Tschechoslowakei). *Aktivität der Enzyme GOT, GPT, SODH und AF im Blutserum bei Ziegen nach Kaiserschnitten*. Vet. Med. (Praha) 19 (8) : 505-509, 1974.

In den vorliegenden Versuchen wurde der Einfluß experimenteller Kaiserschnitte bei Halothananästhesie bei 11 Ziegen mit Thiopentalom-Prämedikation bei 9 Ziegen auf die Aktivität von GOT, GPT, SODH und AF im Verlaufe von 14 Tagen untersucht. Bei den klinischen Untersuchungen wurden keine Komplikationen im Verlaufe der einstündigen tiefen Anästhesie, des Operationseingriffes und in der Nachoperationsperiode beobachtet. Zu einer Erhöhung der GOT- und SODH-Aktivität kam es nur am ersten Tag nach der Operation und die erreichten Werte überschreiten die physiologische Grenze überhaupt nicht, oder nur mäßig.

Kaiserschnitt; Enzyme; Gesamtanästhesie; Ziegen

Adresa autorů:

MVDr. J. Tkáč, CSc., doc. MVDr. A. Orság, CSc., Vysoká škola veterinárska, katedra chirurgie a ortopédie, Komenského 71, 041 81 Košice

VETERINÁRNÍ LÉČIVA
MEDIKOVANÉ KRMNÉ PŘÍPRAVKY
DOPLŇKY BIOFAKTORŮ

vyrábí **VHJ SPOFA**

v n. p. Biotika, Dental, Farmakon, Galena, Léčiva, Slovakofarma a VÚAB

Službu	servisní
	konzulentskou
	poradenskou
	informační
	vydavatelskou

zajišťuje

ODBOR VĚDECKÝCH INFORMACÍ Výzkumného ústavu pro biofaktory
a veterinární léčiva, Pohoří-Chotouň, A54 49 Jílové u Prahy, telefon 64 a 26,
telex 121537

KLINICKÉ ZHODNOCENÍ NĚKTERÝCH MEDIKAMENTÓZNÍCH ZPŮSOBŮ IMOBILIZACE NORKŮ (*Lutreola vison*)

J. Konrád, J. Hanák, J. Mouka

Vysoká škola veterinární, Brno

Referenční centrum pro masožravá a kožešinová zvířata SVS, Brno

Ústřední vakcinační ústav - VTR, Praha - pracoviště Brno

KONRÁD J., HANÁK J., MOUKA J. *Klinické zhodnocení některých medikamentózních způsobů imobilizace norků (*Lutreola vison*)*. Vet. Med. (Praha) 19 (8) : 511-516, 1974.

Práce klinicky hodnotí účinnost Succinilcholinjodidu Spofa pro celkovou relaxaci, chloralhydrátu připraveného *magistraliter* v 10% roztoku glukózy, Thiopentalu Spofa, Plegomasinu (chlorpromazin) a Rompunu (Bayer) pro omezení agresivity norků. Succinilcholinjodid se pro běžné použití v praxi nehodí. Roztok chloralhydrátu je vhodný k obkluzování a narkotizaci norků pro dlouhodobé zákroky v dávce 5,0 a, 7,5 ml na kus intraperitoneálně. Velice vhodná je intrapulmonální aplikace Thiopentalu v dávce 30 až 40 mg na kg ž. v.; při ní dochází během jedné minuty k celkové anestezii a obkluzení, trvajícím od 30 do 45 minut. Plegomasin aplikovaný v dávkách 15 mg na kg ž. v. nevyvolával žádoucí efekt imobilizace. Rompun se rovněž nejevil jako vhodný pro terénní praxi vzhledem k poměrně silným excitacím.

norek; anestetika; imobilizace; vyšetřovací postupy

Stále se rozrůstající chov kožešinových zvířat klade zvýšené nároky i na prohlubování veterinární diagnostiky. I když zavedením ekonomicky výhodnějšího velkochovu kožešinových zvířat dochází k podstatným změnám v charakteru veterinární péče, nelze pochybovat o tom, že zvířata v kolektivu není možné posuzovat jen jako prostý součet individuí a přes správné zdůrazňování nutných preventivních opatření není možné se obejít bez individuálních zákroků.

Silná agresivnost, především masožravých kožešinových zvířat, podstatně omezuje a znesnadňuje manipulaci a nejrůznější veterinární zákroky. Je proto nasnadě v souhlase se snahou řady zahraničních autorů využít nejrůznější medikamentózní způsoby imobilizace na omezení agresivity norků v podmínkách terénní praxe.

Zatímco celá řada látek ovlivňujících CNS byla v nejrůznějších specialitách přezkoušena a klinicky zhodnocena u hlavních druhů hospodářských zvířat, údaje o jejich úspěšném použití u kožešinových zvířat jsou velmi sporé a jsou jen odrazem snahy po celkové anestezii k nejrůznějším ústavním chirurgickým zákrokům a jen v malé části i pro omezení agresivity masožravých kožešinových zvířat při nejrůznějších manipulacích v terénu.

Tak např. Goudas a Karstad (1969) použili intraperitoneální aplikace 20 mg phenobarbitalu sodného u norků k vyvolání celkové anestezie pro biopsii jater. Ke stejným účelům používali Konrád a kol. (1973) Thiopental v dávce 40 mg *pro toto*. Sandelien (1969) referuje o snížení agresivity norků při použití perorální aplikace valia ve specialitě Diasepam a jeho vhodnosti i pro hromadné zákroky. Ivascu a kol. (1971) používali intraperitoneální aplikace 1,2 až 2 ml 10% roztoku speciality Thigenal (methitural) norkům po 6 až 10hodinové hladovce. Anestezie po tomto preparátu nastoupila za 5 až 7 minut a trvala 33 až 70 minut. Citovaní autoři pak stanovili optimální dávku pro norka na 9 až 17 mg na 100 g ž. v.

U laboratorních zvířat byl k narkóze úspěšně používán chloralhydrát v 10% roztoku glukózy (Šimůnek 1966).

V našich podmínkách však nebyla žádná ze specialit u nás dostupných, ovlivňujících tlumivě nervový systém u masožravých kožešinových zvířat, vyzkoušena a klinicky zhodnocena. Bylo proto nutné klinicky hodnotit použitelnost některých u nás dostupných komerčních preparátů a specialit pro vyvolání imobilizace a omezení agresivity norků a možnosti využít takové imobilizace přímo v podmínkách terénní veterinární služby.

METODA

Naše práce se zaměřila na klinické zhodnocení účinnosti speciality Succinilcholinjodid Spofa pro celkovou relaxaci a imobilizaci, chloralhydrátu připraveného *magistraliter* v 10% roztoku glukózy a speciality Thiopental Spofa pro celkovou anestezii, Plegomasin (chlorpromazin) a preparátu firmy Bayer - Rompun pro omezení agresivity norků.

Každý preparát byl přezkoušen na skupinách 25 zvířat ve stáří jednoho až dvou let, bez rozdílu pohlaví, dvou barevných mutací (Hedlund, Platina) a na standardních norcích ve váze od 1,0 do 1,5 kg ž. v.

Před vlastním ověřováním a klinickým hodnocením každého preparátu jsme vždy v orientačním pokuse na 5 až 10 zvířatech kvantitativně určili nejvhodnější dávku na 1 kg ž. v.; ta pak byla použita ve vlastním pokuse pro klinické zhodnocení účinnosti preparátu na 25 zvířatech. Vycházeli jsme z dávek obecně platných pro ostatní zvířata.

Ve vlastním pokuse byla přezkoušena u indikovaných specialit rozdílnost v aplikaci intraperitoneální a intrapulmonální ve smyslu rychlosti nástupu a intenzity útlumu nervového systému. Klinicky byla zhodnocena intenzita, délka trvání a vhodnost imobilizačního způsobu pro praktické účely. Jako kritérií bylo použito sledování změn srdeční a dechové frekvence, víčkového reflexu, intenzity salivace, reakce na dotyk a obranného reflexu. Hodnocení tvaru roznice, stejně jako dalších kritérií, je využíváno u norka až ve stadiu imobilizace. Všechna zvířata, na kterých byly pokusy dělány, byla do pěti dnů utracena ke zkoumání a byly sledovány patologicko-anatomické změny v místech aplikace a na orgánech.

VÝSLEDKY

SUCCINILCHOLINJODID

Byl použit v orientačním pokuse na 10 zvířatech v ředění 1:10 000 ve vzestupných dávkách od 0,1 do 1,0 mg na kg ž. v. intrapulmonálně.

Do hlavního pokusu pak byla zvolena dávka 0,30 až 0,45 mg na kg ž. v., avšak vzhledem ke kratší době nástupu myorelaxace, menší letalitě a kratší době účinku byla použita vyšší koncentrace roztoku než v orientačním pokuse, a to 1 : 1000. Nejvyšší dávka, která byla použita v hlavním pokuse (0,45 mg na kg ž. v.), vyvolávala 50 % letalitu. Nejnižší dávka, kterou se podařilo dosáhnout žádoucí myorelaxace (0,30 mg na kg ž. v.), se jevila zároveň jako optimální, neboť nižší dávka (0,20 mg na kg ž. v.) vyvolala pouze neklid zvířat. Při dávkách vyšších než 0,45 mg na kg ž. v. norci vykazovali příznaky narkózy s totální relaxací přerývané silnými tonickými záškuby a v krátké době hynuli v důsledku atakovaného dýchacího svalstva udušením a selháním srdce, které mělo frekvenci více než 360 tepů za minutu s arytmiemi a blokádami srdce na delší dobu. Při dávce 1 mg na kg ž. v. nastala smrt za jednu minutu.

Při dávce optimální k myorelaxaci (0,3 mg na kg ž. v.) se za 6 až 7 minut po aplikaci dostavil neklid, pak se objevily krátkodobé excitace, salivace, ataxie zádě, potom se relaxovaly svaly hrudních končetin a norek zůstal při plném vědomí ležet nehybně na břiše. Za 12 až 13 minut se norek mohl vzít do rukou bez nebezpečí, že bude kousat, neboť žvýkácí svaly byly relaxovány natolik, že při vložení prstu do dutiny ústní nebylo takřka vůbec cítit stisk zubů. Svalový tonus se dostavil průměrně za 18 minut po aplikaci a za 33 až 35 minut nebyly na norcích patrné vnější nefyziologické příznaky — zvířata projevovala čilý zájem o okolí. Rovněž v dalších pěti dnech nedošlo v žádném případě u sledovaných zvířat v hlavním pokuse k úhynu.

CHLORALHYDRÁT

4% chloralhydrát byl aplikován v 10% glukóze intraperitoneálně v hlavním pokuse 20 norkům v dávce 5,0 až 7,5 ml (tj. 0,2 až 0,3 g účinné látky na 1 kg ž. v.) a 5 norkům v dávce 2,5 ml (tj. 0,1 g na 1 kg ž. v.).

Dávka 2,5 ml roztoku chloralhydrátu na 1 kg živé váhy se u zvířat projevila pouze jako hypnotikum. Narkóza u dávek vyšších (5,0—7,5 ml) nastupuje za 6 až 8 minut a trvá 30 až 45 minut (průměrně 40 min). Excitační stadium začínalo za 3 až 5 minut po aplikaci a projevovalo se zvýšenou salivací, křečemi tonicko-klonického charakteru, nekoordinovaným pohybem, ataxií a někdy i zvracením. Norci měli sníženou pohyblivost ještě za 1 až 3 hodiny od aplikace. Zvláště závažné je časté zvracení v excitačním stadiu. V žádném případě však nedošlo k úhynu zvířete sledovaného souboru v následujících pěti dnech po aplikaci.

THIOPENTAL

Optimální dávka Thiopentalu se pohybuje od 30 do 40 mg na kg ž. v. V závislosti na způsobu aplikace dochází buď okamžitě, nebo do jedné minuty ke zřetelné ataxii zády zvířete, která vzápětí přechází do totálního obluzení a celkové anestezie, jejíž délka se pohybuje od 30 do 45 minut, v průměru 38 minut. V tomto stadiu byla pozorována mírná salivace a vymizení víčkového reflexu. Svalový tonus byl snížen, dechová frekvence se pohybovala v rozmezí 25 až 28 dechů za minutu, v průměru 27 dechů za minutu, s klesající tendencí ke konci tohoto stadia. Tepová frekvence se pohybovala v rozmezí 180 až 230 tepů za minutu, v průměru 207 tepů za minutu.

Probuzení z narkózy bylo poměrně rychlé. Začínalo jemnými kontraktacemi svalů končetin, zvedáním hlavy, frkáním, pak se zvíře začalo potácivě pohybovat a reagovat na podráždění postupně se zvyšující agresivitou. Průměrně za 15 minut (11–23 min) od začátku probuzení reagovali norci na podněty v takovém rozsahu, jako před pokusem. Rovněž u tohoto preparátu nedošlo k úhynu v následujících pěti dnech.

PLEGOMAZIN

Aplikovaný Plegomazin i v dávkách 15 mg na kg ž. v. nevyvolával žádoucí efekt, neboť intenzita jeho ataraktického působení nebyla dostačující k omezení agresivity zvířat. Docházelo pouze k mírnějšímu stupni somnolence a zjevně pomalejší reakci na podráždění spolu se sníženou pohyblivostí.

ROMPUN (XYLAZIN)

Optimální dávka byla na základě orientačního pokusu stanovena na 0,30 až 0,35 ml 10% roztoku na kg ž. v. Za 2 až 4 minuty po aplikaci byly pozorovány excitace, opistotonus, tonicko-klonické konvulze, dyspnoe a silná salivace. Průměrně po 15 minutách (7–18 min) došlo k nástupu obluzení a mírné relaxaci svalstva. Tepová frekvence se pohybovala od 145 do 160 tepů za minutu, v průměru 152 tepy za minutu, dechová frekvence od 30 do 40 dechů za minutu, průměrně 35 dechů za minutu. Za 30 minut po aplikaci byly ve většině případů pozorovány záškuby jednotlivých svalových partií a po 40 až 60 minutách dochází k postupnému probouzení, které je charakterizováno potácivou chůzí, salivací a škrábáním. V dalších pěti dnech se jevil celkový stav zvířat ve fyziologických mezích.

Pitvou všech zvířat hlavního pokusu ze všech skupin nebyly zjištěny pět dní po aplikaci preparátů patologicko-anatomické změny.

Rozdíl v nástupu klinických příznaků u jednotlivých preparátů byl pozorován také v závislosti na způsobu aplikace. Při rychlém vstříknutí preparátu intrapulmonálně došlo k okamžitému nástupu klinických změn. Při intraperitoneální aplikaci byly změny v chování pozorovány až po jedné minutě a v některých případech i později. Rovněž stejné dávky aplikované intrapulmonálně a intraperitoneálně nevyvolávaly stejnou intenzitu změn. Intrapulmonální aplikací je následné obluzení a celková anestezie vyvolaná Thiopentalem hlubší, avšak kratší ve srovnání s aplikací intraperitoneální.

DISKUSE

Z klinického hodnocení účinnosti Succinylcholinjodidu jasně vyplývá, že pro běžné použití v praxi se v samostatné aplikační formě nehodí. Jeho nepříznivé vlastnosti z terénního hlediska, jako jsou nevhodné balení vyžadující až 1000násobné ředění, vysoká letalita a nutnost velmi přesného dávkování, jej z použití v terénní praxi vylučují.

Naproti tomu roztok chloralhydrátu je vhodný k obluzování a narkotizaci norků, zvláště pokud se týká dlouhodobého zákroku chirurgického nebo diagnostického charakteru. Nevýhodou však je dlouhá doba účinku a její vliv na zvýšení činnosti srdeční. Tento vliv však může být na druhé straně kladně hodno-

cen — např. při odběrech většího množství krve přímo ze srdce. Jak vyplývá z orientačního pokusu, nedocházelo k úhynu zvířat ani při aplikaci dvojnásobného množství, než je námi doporučováno (15 ml). Tato skutečnost, stejně jako dobré vlastnosti imobilizační a snadná dostupnost činí z chloralhydrátu vhodný prostředek k oblužení a narkotizaci norků i při hromadných zákrocích s minimálním rizikem, že dojde ke ztrátám na chovném materiálu.

Přednost intrapulmonální aplikace před aplikací intraperitoneální u Thiopentalu nespočívá jen v rychlosti nástupu reakce, ale je vhodná i z hlediska technického provedení zákroku. Při intraperitoneální aplikaci může totiž snadno docházet k napíchnutí některého orgánu, především žaludku, který je zvláště po nakrmení tuhou masitou potravou enormně rozšířen. Vyplňuje pak převážnou část dutiny břišní. Je tedy logické, že v takových případech se žádaný efekt buď neprojeví, nebo se dostaví později a v mnohem menší intenzitě. Také Král a kol. (1966) poukazují na nespolehlivost intraperitoneální aplikace narkotik u koček a dávají přednost podání do plicního parenchymu.

Ve srovnání s Goudasem a Karstadem (1969), kteří vyvolávali celkovou anestezii norků 20 mg phenobarbitalu sodného aplikovaného intraperitoneálně, je námi používaný Thiopental vhodný v dávce 35 až 40 mg na kg ž. v., aplikovaný intrapulmonálně.

Ataraktikum Plegomazin nedosahuje ani v těch nejvyšších dávkách žádaného efektu, a proto jej — stejně jako Rompun (Bayer) — pro nepříznivé excitační účinky nedoporučujeme pro terénní praxi.

Lze konstatovat, že výsledky klinického šetření použití Thiopentalu a chloralhydrátu pro imobilizaci norků v terénních podmínkách jsou uspokojivé. Komplexnost tohoto výzkumu si vyžaduje ještě další šetření především hematologická, biochemická a histologická.

Ekonomický význam práce je zřejmý ze skutečnosti, že při použití těchto preparátů je usnadněna manipulovatelnost s agresivními zvířaty, což nepochybně přispěje nejen k možnostem individuálních i hromadných zákroků, ale především k usnadnění celé řady diagnostických zásahů ve velkochovech norků, ve kterých doposud byla možná jen diagnostika *par distans*, nebo bylo třeba diagnostické euthanasie několika zvířat. Je to podstatný přínos terénní veterinární službě v chovech kožešinových zvířat. Thiopental je i naším pracovištěm využíván k takovým diagnostickým zákrokům, jako je např. biopsie jater, odběry většího množství krve přímo ze srdce apod.

Literatura

- GOUDAS P., KARSTAD L., 1969, Liver biopsy in mink with Aleutian disease. *Can. J. comp. Med.* 4, 33 : 316.
IVASCU I., COCIU A., STANA I., 1971, Thiogenal narcosis in mink (*Lutreola vison*). *Münch. tierärztl. Wschr.* 84 : 35-36.
KONRÁD J., HANÁK J., MOUKA J., 1973, Aspirationsbiopsie der Leber bei Nerzen (*Lutreola vison*). *Kleintier. Prax.* (v tisku).
KRÁL E., ŠUTTA J., COLLÁK D., 1966, Veterinární chirurgie II. Slovenské vydavatelstvo poľnohospodárskej literatúry, Bratislava.
SANDELINEN, 1969, cit. IVASCU a kol., 1971.
ŠIMŮNEK J., 1966, Farmakologie. Učební texty vysokých škol. SPN Praha.

Došlo dne 16. 5. 1973

КОНРАД Й., ГАНАК Й., МОУКА Й. (Ветеринарный институт, Брно, Чехословакия). Клиническая оценка некоторых медикаментозных способов иммобилизации норки (*Lutreola vison*). *Vet. Med. (Praha)* 19 (8) : 511-516, 1974.

В статье клинически оценивается эффективность Сукцинилхолинйодида Спофа для общей релаксации, хлоралгидрата, приготовленного по предписанному рецепту в 10 % растворе глюкозы, Тиопентала Спофа, Флегомасина (хлорпромасина) и Ромпуна (Байер) для ограничения агрессивности норок. Сукцинилхолинйодид для обычной практики непригоден. Раствор хлоралгидрат пригоден для оглушения и наркотизации норок для длительного вмешательства в дозе 5,0—7,5 мл на голову интраперитонеально. Весьма пригоден интрапульмональное применение Тиопентала в дозе 30—40 мг на кг живого веса; при нем происходит в течение одной минуты общая анестезия и оглушение от 30 до 45 минут. Флегомасин, применяемый в дозах 15 мг на кг живого веса, не вызывал желаемого эффекта иммобилизации. Ромпун также оказался непригодным для его применения в производственных условиях, ввиду сравнительно сильного возбуждения.

норка; анестетика; иммобилизация; приемы обследования

KONRÁD J., HANÁK J., MOUKA J. (University School of Veterinary Medicine, Brno, Czechoslovakia). *The Clinical Evaluation of Some Methods of the Use of Drugs for the Immobilization of Minks (Lutreola vison)*. Vet. Med. (Praha) 19 (8): 511-516, 1974.

Succinilcholiniodide Spofa is clinically evaluated as to its effectiveness for general relaxation; chloral hydrate, prepared *magistraliter* in a 10 % glucose solution, Thiopental Spofa, Phlegomasin (chlorpromasin), and Rompun (Bayer) are evaluated as to their effectiveness for the reduction of the aggressivity of minks. Succinil cholin iodide is not suitable for current use in practice. A chloralhydrate solution is suitable for the immobilization and narcotization of minks for long-term operations; the doses are 5.0—7.5 ml per animal, applied intraperitoneally. The intrapulmonary application of Thiopental at the dose of 30—40 mg per kg l. w. gives excellent results; this drug causes general anesthesia and narcotization within one minute, and the effect lasts 30—45 minutes. Phlegomasin applied in the doses of 15 mg per kg of live weight did not give the desired immobilization effect. Rompun was also found unsuitable for use in field practice due to relatively high excitations.

mink; anaesthetics; immobilization; examination proceedings

KONRÁD J., HANÁK J., MOUKA J. (Veterinärmedizinische Hochschule, Brno, Tschechoslowakei). *Klinische Bewertung einiger medikamentösen Methoden der Immobilisierung von Nerzen (Lutreola vison)*. Vet. Med. (Praha) 19 (8): 511-516, 1974.

Die vorliegende Arbeit bewertet die Wirksamkeit von Succinilcholinjodid Spofa auf die Gesamtrelaxation sowie des Chloralhydrats, hergestellt *magistraliter* in 10 % Glukoselösung, des Thiopentals Spofa, des Phlegomasins (Chlorpromasins) und Rompuns (Bayer) auf die Aggressivität der Nerze. Das Succinilcholinjodid eignet sich zur allgemeinen Benutzung in der Praxis nicht. Die Chloralhydratlösung eignet sich zur Betäubung und Narkotisierung der Nerze bei langandauernden Eingriffen in Dosen von 5,0 bis 7,5 ml je Tier intraperitoneal. Sehr geeignet ist die intrapulmonale Applikation des Thiopentals in Dosen von 30 bis 40 mg je kg Lebendgewicht. Dabei kommt es während einer Minute zu einer Gesamtanästhesie und Betäubung, die 30 bis 40 Minuten andauert. Das in Dosen von 15 mg je kg Lebendgewicht applizierte Phlegomasin verursachte keinen erwünschten Immobilisierungseffekt. Rompun erwies sich ebenfalls als ungeeignet für die Terrainpraxis in Hinsicht auf verhältnismäßig starke Exzitationen.

Nerz; Anästhetika; Immobilisierung; Untersuchungsvorgänge

Adresa autorů:

Prof. MVDr. J. Konrád, DrSc., MVDr. J. Hanák, MVDr. J. Mouka, Vysoká škola veterinární, Palackého 1-3, 612 42 Brno

AKTIVITA α -AMYLÁZY A LIPÁZY U HOUSAT PLEMENE LANDES V ONTOGENEZE

J. Cibulka, Z. Sova, Z. Němec, A. Vrbenská, Z. Kotlářová

Vysoká škola zemědělská, Praha-Suchbát

Věnováno k 80. narozeninám prof. dr. K. Šobry

CIBULKA J., SOVA Z., NĚMEC Z., VRBENSKÁ A., KOTLÁŘOVÁ Z. *Aktivita α -amylázy a lipázy u housat plemene Landes v ontogeneze*. Vet. Med. (Praha) 19 (8) : 517-521, 1974.

U housat plemene Landes ve věku od 14 dnů do 127 dnů došlo v době od června do září 1971 celkem k 10 odběrům krve; ze séra byla stanovena aktivita lipázy a α -amylázy. Nejnížší aktivita lipázy byla stanovena na začátku pokusu u 14denních housat: $1,0 \pm 0,8 \mu\text{mol ml}^{-1}$. Od stáří 31 do 58 dnů byla lipázová aktivita v séru poměrně vyrovnaná v rozmezí od 2,9 do $2,7 \mu\text{mol ml}^{-1}$. Maximální aktivita byla zaznamenána u 42denních housat: $3,2 \pm 0,57 \mu\text{mol ml}^{-1}$, na konci pokusu u 127denních housat byla zjištěna jen hodnota $1,7 \pm 0,21 \mu\text{mol ml}^{-1}$. Aktivita α -amylázy byla nejnížší u 14denních housat (jen 92 ± 38 T. U.). Pak byl pozorován signifikantní vzestup a dosažena maximální hodnota během celého pokusu: $1296 \pm 98,1$ T. U. ve věku 31 den. Při dalších odběrech následovalo nepravidelné kolísání aktivity α -amylázy v rozmezí 900,0 až 1300 T. U. Obě metodiky byly propracovány u drůbeže s cílem studovat ontogenetickou dynamiku a získaných zkušeností využít při experimentální steatóze jater u hus.

husa; ontogeneze; sérová lipáza; α -amyláza

V rámci studia experimentálního ovlivnění steatózy jater u hus byly sledovány aktivity sérové lipázy a α -amylázy u housat v ontogeneze. Toto plemeno, jak vyplývá z našich dřívějších prací (Sova a kol. 1971), má lepší předpoklady k ukládání tuku v játrech, než ostatní u nás chovaná plemena. Lipáza je enzym ze skupiny hydroláz, katalyzující rozklad lipidů. Štěpí tuky na glycerol a mastné kyseliny. α -amyláza štěpí škrob a jiné polysacharidy až na maltózové jednotky.

Ze zahraničních autorů sledovali aktivitu sérové α -amylázy u hus Forenbacher a kol. (1963, 1965a, b), Link a Losonczy (1971) a Losonczy a kol. (1970). Aktivitu tkáňové α -amylázy sledovali u kura Finková (1971), Hainz (1972), Pešák (1972) a další. V dostupné literatuře jsme našli pouze práce Forenbachera a kol. (1963), 1965a, b), zabývající se lipázovou aktivitou u hus.

Srovnání výsledků je značně ztíženo různými použitými metodikami při stanovení aktivit těchto enzymů.

MATERIÁL A METODY

Do pokusu bylo zařazeno 11 housat plemene Landes ve stáří 14 dnů, která byla ustájena v objektech drůbežárny školního statku. Housata byla krmena směsí VH₂ a po celý den měla přístup do travnatého výběhu s přirozeným porostem. Na noc byla zaháněna do husníků. K jednotlivým odběrům došlo vždy v dopoledních hodinách ve stáří 14, 31, 44, 51, 58, 72, 94, 113, 120, 127 dnů. Krev byla odebrána v množství cca 5 ml venepunkcí z křídelní žíly a po sražení centrifugována 10 minut při 3000 ot min⁻¹. V séru byla ihned stanovena aktivita lipázy metodou podle Dirstina a kol. (1968) a α -amyláza podle Teller a (1950).

Pro malé množství odebrané krve byl ve stáří 14 a 31 den zpracován směsný vzorek (vždy ze dvou housat).

VÝSLEDKY

Statistické zhodnocení bylo provedeno ve Výpočetním ústavě VŠZ v Praze F testem.

Získané výsledky jsou uspořádány v tab. I.

I. Aktivita lipázy a α -amylázy u housat plemene Landes během ontogeneze

Odběr	Stáří, dny	Lipáza (μ mol/ml)				α -amyláza (T. U.)			
		n	$\bar{x}$	s	v	n	$\bar{x}$	s	v
I.	14	10 ⁺)	1,02	0,78	76,7	6 ⁺)	91,67	37,53	40,94
II.	31	10 ⁺)	2,88	0,69	24,0	10 ⁺)	1296,00	98,13	7,57
III.	44	10	2,88	0,51	17,8	11	917,27	86,03	9,38
IV.	51	11	2,65	0,40	15,1	9	1052,22	107,33	10,20
V.	58	11	2,56	0,54	21,2	11	1088,18	101,57	9,33
VI.	72	10	3,18	0,57	17,9	10	944,00	120,20	12,73
VII.	94	10	2,88	0,94	33,3	9	1114,44	199,82	17,93
VIII.	113	9	1,87	0,70	37,5	8	913,75	291,79	31,93
IX.	120	8	2,63	1,50	57,2	9	936,11	346,73	37,04
X.	127	9	1,70	0,21	12,5	8	1291,25	407,13	31,53

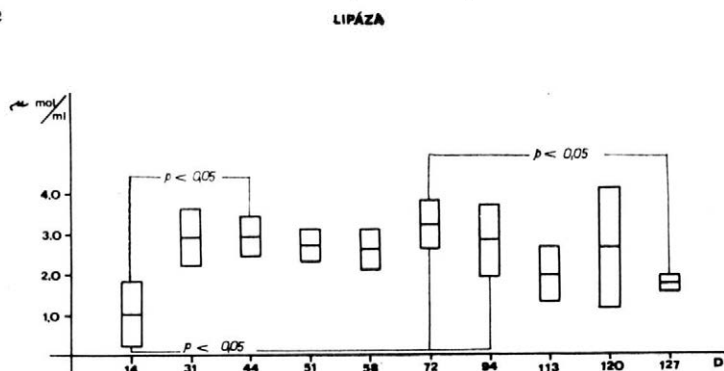
Statisticky významné rozdíly: I. $\times$ III., I. $\times$ VI.,
 I. $\times$ VII., VI. $\times$ X.
 I. $\times$ II., I. $\times$ III., I. $\times$ IV.,
 I. $\times$ V., I. $\times$ VI., I. $\times$ VII.,
 I. $\times$ VIII., I. $\times$ IX., I. $\times$ X.

⁺) Zpracován směsný vzorek vždy ze dvou housat

DISKUSE

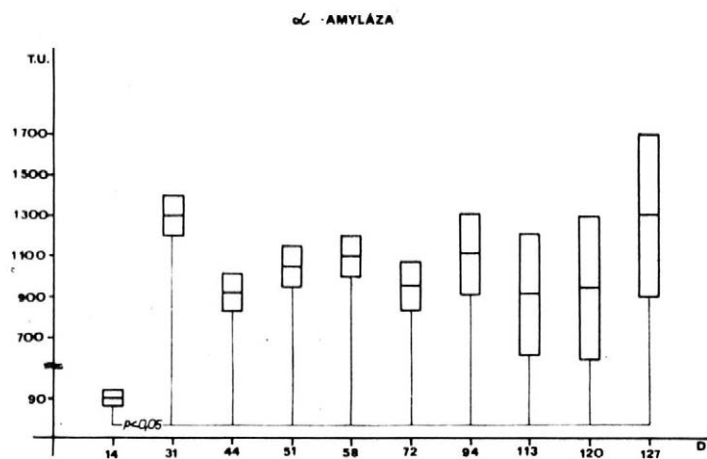
Na obr. 1 je zobrazena dynamika aktivity lipázy při jednotlivých odběrech. Předpokládáme, že nejnižší hodnota ($1,0 \pm 0,8 \mu\text{mol ml}^{-1}$) u 14denních housat je podmíněna ještě ne plně vyzrálými enzymatickými systémy v organis-

1. Aktivita lipázy u housat plemene Landes ve stáří 14 až 127 dní



mu. Ve stáří 31 až 58 dnů byla aktivita lipázy téměř konstantní ($2,9 - 2,6 \mu\text{mol ml}^{-1}$). Maximální aktivita byla zjištěna ve stáří 72 dny ($3,2 \pm 0,6 \mu\text{mol ml}^{-1}$). Od tohoto stáří pak aktivita v průměru klesala až na $1,7 \pm 0,2 \mu\text{mol ml}^{-1}$ u 127denních housat.

Ke srovnání a diskusi jsou k dispozici pouze výsledky Forenbachera a kol. (1963, 1965a, b), kteří za použití titrační metody louhem sodným zjistili u hus hodnoty zhruba 0,5 ml.



2. Aktivita α -amylázy u housat plemene Landes ve stáří 14 až 127 dní

Obr. 2 znázorňuje průměrnou aktivitu α -amylázy v jednotlivých odběrech. Počáteční nejnižší hodnota (92 ± 38 T. U.), zjištěná u 14denních housat, souvisí zřejmě s teprve se zvyšující enzymatickou aktivitou. Rovněž u kura v prvních třech dnech postinkubačního vývoje jsme zjistili minimální aktivitu sérové α -amylázy. Absolutní hodnoty aktivity nelze srovnávat pro rozdílnost použitých metodik. Ve stáří 31 den byla zjištěna maximální aktivita amylázy během celého sledování (1296 ± 407 T. U.).

V dalším období (44–127 dnů stáří) následovalo nepravidelné kolísání aktivity v rozmezí 900 až 1300 T. U. Během sledovaného období jsme nepozorovali výraznou sezónní aktivitu, jak uvádějí Link a Losonszy (1971). Statisticky významné rozdíly jsou uvedeny v tab. I.

Literatura

- DIRSTINE P. H., 1968, A New Rapid Method for the Determination of Serum Lipase. Clin. Chem. 14, 11 : 1097-1106.
- FINKOVÁ A., 1971, Sledování aktivity α -amylázy v pankreatu a játrech u kuřat v časně postinkubační ontogeneze, za hladovění a pod vlivem denního rytmu. Dipl. práce, VŠZ Praha.
- FORENBACHER S., CAREVIČ O., SREBOČAN V., SIKIRIČ-DENAC M., MARŽAN B., 1965b, Istraživanja o zamaščenju jatre gusaka u tovu. III. Utjecaj nekih biostante krvi i jatra gusaka za tov. Vet. Arh. 33, 9-10 : 253-266.
- FORENBACHER S., SREBOČAN V., CAREVIČ O., SIKIRIČ-DENAC M., MARŽAN B., 1965a, Istraživanja o zamaščenju jatre gusaka u tovu. II. Promjene u toku nobičajenog kljukanja. Vet. Arh. 35, 3-4 : 57-75.
- FORENBACHER S., SREBOČAN V., CAREVIČ O., SIKIRIČ-DENAC M., MARŽAN B., 1965b, Istraživanja o zamaščenju jatre gusaka u tovu. III. Utjecaj nekih biološki aktivnih tvari na proces zamašćenje jatre u gusaka kljukanih kukuruzom. Vet. Arh. 35, 9-10 : 224-235.
- HAINZ L., 1972, Sledování aktivity α -amylázy v ledvinách u kuřat v časně postinkubační ontogeneze, za hladovění a pod vlivem denního rytmu. Dipl. práce, VŠZ Praha.
- LINK E., LOSONCZY M., 1971, Serumamylase activity level as an indicator of liver metabolism. Inter. symp. on feeding and hygiene of goose, Hungary.
- LOSONCZY M., BÖGRE J., TEKÁCS E., LOSONCZY S., 1970, Új szelekciós azempont a lúdnemesítésben. Osszefüggések a hizlalási idő és a sémumamilázaktivitás között. Magyar Allatorv. Lap. 25, 2 : 105.
- PEŠÁK J., 1972, Aktivita α -amylázy v červených a bílých svalech kuřat. Dipl. práce, VŠZ Praha.
- SOVA Z. a kol., 1971, Závěrečná zpráva výzkumného úkolu VI-6-5/14, I. etapa, VŠZ Praha.
- TELLER J., 1950, Measurement of amylase activity. J. Biol. Chem. 185 : 701-704.

Došlo dne 17. 4. 1973

ЦИБУЛКА Й., СОВА З., НЕМЕЦ З., ВРБЕНСКА А., КОТЛАРЖОВА З. (Сельскохозяйственный институт, Прага-Сухдол, Чехословакия). Активность α -амилазы и липазы у гусят породы ландес в онтогенезе. Vet. Med. (Praha) 19 (8) : 517-521, 1974.

У гусят породы ландес в возрасте от 14 до 127 дней в период июнь—сентябрь 1971 г. 10 раз отбиралась кровь; из сыворотки определялась активность липазы и α -амилазы. Минимальная активность липазы была установлена в начале опыта у 14-дневных гусят: $1,0 \pm 0,8$ μ моль/мл. С 31 до 58-дневного возраста активность липазы в сыворотке была сравнительно выравнена в диапазоне от 2,9 до 2,7 μ моль/мл. Максимальная активность была установлено лишь значение $1,7 \pm 0,21$ μ моль/мл. Активность α -амилазы была минимальной у 14-дневных гусят (лишь 92 ± 38 Т. У.). Далее наблюдалось резкое повышение и было достигнуто максимальное значение во всех проведениях опыта: $1296 \pm 98,1$ Т. У. в возрасте 31 дня. При последующих взятиях крови следовало нерегулярное колебание активности α -амилазы в диапазоне 900,0—1300 Т. У. Обе методики были разработаны у птицы с целью изучения онтогенетической динамики и использования приобретенного опыта при экспериментальном стеатозе печени гусей.

гусь; онтогенез; сывороточная липаза; α -амилаза

CIBULKA J., SOVA Z., NĚMEC Z., VRBENSKÁ A., KOTLAŘOVÁ Z. (University of Agriculture, Praha-Suchdol, Czechoslovakia). The Activities of α -Amylase and Lipase in the Landes Breed Goslings in the Course of Ontogenesis. Vet. Med. (Praha) 19 (8) : 517-521, 1974.

Ten blood collections were taken from the goslings of the Landes breed at the age from 14 days to 127 days in the period from June to September, 1971. Lipase and α -amylase activities were determined from the serum. The lowest lipase activity

was obtained at the beginning of the trial in 14-day-old goslings: $1.0 \pm 0.8 \mu\text{mol/ml}$. From the age of 31 days to 58 days the lipase activity in serum was quite well-balanced, ranging from 2.9 to $2.7 \mu\text{mol/ml}$. The maximum activity was recorded in 42-day-old goslings: $3.2 \pm 0.57 \mu\text{mol/ml}$. At the end of the trial, the 127-day-old goslings showed only the value of $1.7 \pm 0.21 \mu\text{mol/ml}$. The activity of α -amylase was the lowest in 14-day-old goslings (only 92 ± 38 T. U.). This minimum was followed by a significant increase, and the maximum value for the whole trial was obtained at the age of 31 days ($1,296 \pm 98.1$ T. U.). In further collections the activity of μ -amylase irregularly ranged from 900.0 to 1.300 T. U. Both methods were refined in their applications to poultry, for the purpose of studying the ontogenetic dynamics and using the new-obtained experience in experimental liver steatosis.

goose; ontogenesis; serum lipase; α -amylase

CIBULKA J., SOVA Z., NĚMEC Z., VRBENSKÁ A., KOTLÁŘOVÁ Z. (Hochschule für Landwirtschaft, Praha-Suchdol, Tschechoslowakei). *Aktivität der α -Amylase und Lipase bei Gösseln der Landes-Rasse in der Ontogenese*. Vet. Med. (Praha) 19 (8): 517-521, 1974.

Bei Gösseln der Landes-Rasse im Alter von 14 bis 127 Tagen wurden in der Zeitperiode vom Juni bis September 1971 insgesamt 10 Blutentnahmen vorgenommen. Im Blutserum wurde die Aktivität der Lipase und der α -Amylase ermittelt. Die geringste Aktivität der Lipase wurde bei vierzehntägigen Gösseln zu Beginn des Versuchs ($1,0 \pm 0,8 \mu\text{mol/ml}$) festgestellt. Bei den 31 bis 58 Tage alten Gösseln war die Lipasenaktivität im Blutserum verhältnismäßig ausgeglichen (2,9 bis $2,7 \mu\text{mol/ml}$). Die höchste Aktivität der Lipase wurde bei 42tägigen Gösseln festgestellt ($3,2 \pm 0,57 \mu\text{mol/ml}$). Gegen Ende des Versuchs betrug der Lipasenaktivitätswert nur mehr $1,7 \pm 0,21 \mu\text{mol/ml}$. Die Aktivität der α -Amylase war am niedrigsten bei vierzehntägigen Gösseln (92 ± 38 T. U.). Später wurde eine signifikante Zunahme der Aktivität der α -Amylase festgestellt, die ihren maximalen Wert $1296 \pm 98,1$ T. U. bei Gösseln im Alter von 31 Tagen erreichte. Bei den weiteren Blutentnahmen folgte eine unregelmäßige Schwankung der α -Amylasenaktivität im Ausmaße von 900,0 bis 1300 T. U. Beide Methodiken wurden für Geflügel bearbeitet mit dem Ziel die ontogenetische Dynamik zu studieren und die erlangten Erfahrungen bei der experimentellen Lebersteatose bei Gänsen auszunutzen.

Gans; Ontogenese; Serumlipase; α -Amylase

Adresa autorů:

Ing. J. Cibulka, prof. MVDr. Z. Sova, DrSc., ing. Z. Němec, MVDr. A. Vrbenská, CSc., Z. Kotlářová, Vysoká škola zemědělská, 160 21 Praha 6 - Suchdol

Upozorňujeme čtenáře, že

Výzkumná stanice pro chov koní ve Slatiňanech

publikovala některé práce, které spadají i do oblasti veterinární medicíny.

V *Bulletinu* č. 16 jsou publikovány práce :

Změny váhy klisen v průběhu gravidity

Sledování zinku v srsti koní

(cena *Bulletinu* je 8,— Kčs)

V *Bulletinu* č. 18 jsou publikovány práce :

Autochtónny horský kôň karpatský na Slovensku

(cena *Bulletinu* je 8,— Kčs)

V *Bulletinu* č. 19 je publikována práce :

Některé biologické a výkonnostní faktory při studiu dědičnosti v chovu koní

(cena *Bulletinu* je 9,50 Kčs)

V *Bulletinu* č. 12 je publikována práce :

Mechanika pohybu koní

(cena *Bulletinu* je 11,50 Kčs)

Všechna uvedená čísla si lze objednat přímo na adrese :

Výzkumná stanice pro chov koní

538 21 Slatiňany

Rukopis odevzdán k tisku 29. 5. 1974 — Podepsáno k tisku 1. 11. 1974

Slanina L., Šokol J., Lehotský J., Rosival I.: Celoročná pufrácia kŕmnej dávky montmorillonitom (bentonitom) u dojnic a jej vplyv na zdravotný stav, hematologické a biochemické ukazovatele	463
Kursa J., Kroupová V.: Změny fragility erytrocytů v průběhu nutriční svalové dystrofie u telat	463
Pivko J., Poltársky J.: Histologické a histochemické pozorovania pečene a obličiek ošipovaných po skrmovaní monoetanolamin-fosfátu	481
Kabelík V., Horyna B., Bratřovský J.: Porovnávací studie vnímavosti buněčné linie PK, HeLa buněk a primárních buněk selekčních ledvin k infekci virem infekční bovinní rhinotracheitidy — infekční pustulární vulvovaginitidy skotu (IBR-IPV)	489
Pospišil Z., Franz J.: Využití protilátek značených křenovou peroxidázou k průkazu antigenů	499
Tkáč J., Orság A.: Aktivita enzymů GOT, GPT, SODH a AF v krvnom sére koz po cisárskych rezoch	505
Konrád J., Hanák J., Mouka J.: Klinické zhodnocení některých medikamentózních způsobů imobilizace norků (<i>Lutreola vison</i>)	511
Cibulka J., Sova Z., Němec Z., Vrbenská A., Kotlářová Z.: Aktivita α -amylázy a lipázy u housat plemene Landes v ontogeneze	517

СОДЕРЖАНИЕ

Сланина Л., Сокол Й., Легоцки Й., Росивал И.: Круглогодичная буферация кормового рациона монтмориллонитом (бентонитом) у дойных коров и ее влияние на состояние здоровья, на гематологические и биохимические показатели	471
Курса Й., Кроупова В.: Изменения хрупкости эритроцитов в ходе nutritional мышечной дистрофии у телат	478
Пивко Й., Полтарски Й.: Гистологические и гистохимические наблюдения за печенью и почками свиней после скармливания моноэтаноламин-фосфата	486
Кабелик В., Горина Б., Братшовский Й.: Сравнительное изучение восприимчивости клеточной линии PK, HeLa клеток и первичных клеток почек поросят к заражению вирусом инфекционного бычьего ринотрахеита — инфекционного пузырчатого вульвовагинита крупного рогатого скота (IBP-IPV)	496
Поспишил З., Франц Й.: Применение антител, меченых хреновой пероксидазой для доказательства антигенов	504
Ткач Й., Орсаг М.: Активность энзимов GOT, GPT, SODH и AF в сыроворотке крови коз после кесарева сечения	508
Конрад Й., Ганах Й., Моука Й.: Клиническая оценка некоторых медикаментозных способов имобилизации норков (<i>Lutreola vison</i>)	515
Цибулка Й., Сова З., Немец З., Врбенская А., Котларжова З.: Активность α -амилазы и липазы у гусят породы ландес в онтогенезе	520

CONTENT

Slanina L., Sokol J., Lehotský J., Rosival I.: The All-year Buffering of the Feed Ration by Means of Montmorillonite (Bentonite) for Dairy Cows and its Effect on the State of Health and on the Hematological and Biochemical Indices	471
Kursa J., Kroupová V.: Changes of the Fragility of Erythrocytes in the Course of the Nutritive Muscular Dystrophy in Calves	479
Pivko J., Poltársky J.: Histological and Histochemical Examination of Pig Livers and Kidneys after the Feeding of Monoethanolamine-phosphate	486
Kabelík V., Horyna B., Bratřovský J.: A Comparative Study of the Sensibility of the Cellular Line PK, of HeLa Cells, and of Primary Cells of Piglet Kidneys to Infection with the Virus of Infectious Bovine Rhinotracheitis — the Infectious Pustular Vulvovaginitis of Cattle (IBR-IPV)	497
Pospišil Z., Franz J.: The Use of the Antibodies Stained with Horseradish Peroxidase for the Demonstration of the Presence of Antigens	504
Tkáč J., Orság A.: The Activity of the GOT, GPT, SODH and AF Enzymes in the Blood Serum of Goats after Caesarean Sections	508
Konrád J., Hanák J., Mouka J.: The Clinical Evaluation of Some Methods of the Use of Drugs for the Immobilization of Minks (<i>Lutreola vison</i>)	516
Cibulka J., Sova Z., Němec Z., Vrbenská A., Kotlářová Z.: The Activities of α -Amylase and Lipase in the Landes Breed Goslings in the Course of Ontogenesis	520

Slanina L., Sokol J., Lehocký J., Rosival I.: Ganzjährige Pufferung der Futterration mit Montmorillonit (Bentonit) bei Kühen und deren Einfluß auf den Gesundheitszustand und die hämatologischen sowie biochemischen Kennwerte	472
Kursa J., Kroupová V.: Veränderungen der Erythrozytenfragilität im Verlaufe der nutritionellen Muskeldystrophie bei Kälbern	479
Pivko J., Poltársky J.: Histologische und histochemische Untersuchungen der Leber und Nieren von mit Monoäthanolamin-Phosphat beigefütterten Schweinen	486
Kabelík V., Horyna B., Bratršovský J.: Vergleichsstudien der Sensibilität der PK-Zelllinie, der HeLa-Zellen und der primären Ferkelnierenzellen auf Infektion mit dem Virus der infektiösen bovinen Rhinotracheitis — infektiösen pustelförmigen Vulvovaginitis beim Rind (IBR-IPV)	497
Pospíšil Z., Franz J.: Ausnutzung der mit Meerrettichperoxidase markierten Antikörper zum Nachweis von Antigenen	504
Tkáč J., Orság A.: Aktivität der Enzyme GOT, GPT, SODH und AF im Blutserum bei Ziegen nach Kaiserschnitten	509
Konrád J., Hanák J., Mouka J.: Klinische Bewertung einiger medikamentösen Methoden der Immobilisierung von Nerzen (<i>Lutreola vison</i>)	516
Cibulka J., Sova Z., Němec Z., Vrbenská A., Kotlářová Z.: Aktivität der α -Amylase und Lipase bei Gösseln der Landes-Rasse in der Ontogenese	521

Rozšiřuje Poštovní novinová služba. Objednávky a předplatné přijímá PNS — ústřední expedice tisku, administrace odborného tisku, Jindřišská ulice 14, 110 00 Praha 1. Lze též objednat u každé pošty i poštovního doručovatele. Objednávky do zahraničí vyřizuje PNS - ústřední expedice tisku, oddělení vývozu tisku, Jindřišská ulice 14, 110 00 Praha 1. Vytiskl MÍR, novinářské závody, n. p., závod 6, Legerova ulice 22, 120 00 Praha 2.