

VĚDECKÝ ČASOPIS

# VETERINÁRNÍ MEDICÍNA

**11**

ROČNÍK 19 (XLVII)  
PRAHA  
LISTOPAD 1974  
CENA 10 Kčs

ČESKOSLOVENSKÁ AKADEMIE ZEMĚDĚLSKÁ  
ÚSTAV VĚDECKOTECHNICKÝCH INFORMACÍ

**Řídí redakční rada**

Prof. MVDr. Emanuel Král (předseda), prof. MVDr. Kolo-  
man 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 stu-  
die, rozborů a vědecká pojednání o vyřešených úkolech vý-  
zkumu z oboru veterinární medicíny. Vydává Ústav vědecko-  
technických informací. Vychází měsíčně. Redakce: 120 56  
Praha 2, Slezská 7, telefon 257541. Celoroční předplatné  
Kčs 120,—.



Научный журнал **VETERINÁRNÍ MEDICÍNA** публикует обзо-  
ры, анализы и научные статьи о разрешенных задачах по науч-  
ному исследованию в области ветеринарии. Издаёт 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. Pu-  
blished by the Institute of Scientific and Technical Inform-  
ation. Issued monthly. Editorial office 120 56 Prague 2,  
Slezská 7.



Die wissenschaftliche Zeitschrift **VETERINÁRNÍ MEDICÍNA**  
veröffentlicht Studien, Analysen und wissenschaftliche Ab-  
handlungen über die gelösten Forschungsaufgaben auf dem  
Gebiete der Veterinärmedizin. Herausgegeben von Institut  
für wissenschaftlich-technische Informationen. Erscheint mo-  
natlich. Redaktion 120 56 Praha 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. Publie par l'Institut des Informations Scienti-  
fiques et Techniques. Paraît une fois par mois. Rédaction  
120 56 Prague 2, Slezská 7.

## A. Holub

*Vysoká škola veterinární, Brno*

Hluboké sociální a ekonomické změny v socialistických zemích, spojené s nebývalým rozvojem výroby, jsou nejen výsledkem optimalizujícího se využívání jejich vlastních vnitřních zdrojů, ale jsou také podmíněny tím, že si země socialistického tábora poskytují v rozvoji socialistického hospodářství navzájem pomoc, že trvale spolupracují. Soudruh L. I. Brežněv ve svém projevu na slavnostním zasedání, věnovaném 50. výročí vzniku SSSR, v této souvislosti zdůraznil: „Kolektivním úsilím, v urputném zápase proti třídním nepřítelům se ukul pevný svazek socialistických států, vznikl spolehlivý systém všestranné bratrské spolupráce mezi nimi, jež se pro každou naši zemi stala zcela přirozenou formou života“.

Prvořadou úlohu v upevnění těchto všestranných hospodářských styků socialistických zemí mělo před dvaceti pěti lety založení Rady vzájemné hospodářské pomoci. Dokumentuje to nesporně i zvýšení podílu socialistické soustavy na světovém hospodářství. Např. na území členských států RVHP se v přepočtu na jednoho obyvatele vyrábělo v roce 1937 zhruba 15 % světové průmyslové produkce, v roce 1950 18 %, v roce 1960 to však bylo již 28 % a v roce 1971 dokonce 33 %; nebo objem průmyslové výroby se od roku 1951 do roku 1970 zvýšil v zemích RVHP téměř 6,8krát, zatímco ve vyspělých kapitalistických státech pouze 2,8krát.

Za čtvrt století existence RVHP dosáhly výrobní síly členských zemí RVHP vysoké úrovně rozvoje a ve sféře výroby a spotřeby nastaly významné strukturální změny. Došlo i ke značnému sblížení úrovně ekonomického rozvoje států této hospodářské organizace a byly nashromážděny obrovské zkušenosti ve zdokonalování socialistických forem a metod ekonomické a vědeckotechnické spolupráce.

## SPOLUPRÁCE VE VETERINÁRNÍ MEDICÍNĚ

Spolupráce mezi členskými státy RVHP se rozvíjí i v zemědělství a v potravinářském průmyslu, a to prostřednictvím příslušných stálých komisí.

Stálá komise RVHP pro zemědělství vznikla v roce 1956. Do roku 1959 v ní byla řešena i potravinářská problematika, která byla později, až do roku 1963, začleněna do stálé komise RVHP pro lehký a potravinářský průmysl. Nyní se jí věnuje samostatný odvětvový orgán. Od roku 1968 zabezpečuje stálá komise pro zemědělství prostřednictvím své stálé pracovní skupiny i problematiku veterinárního lékařství.

Pracovní náplň této skupiny byla a je široká i různorodá. Charakterizují ji potřeby a problémy veterinárních služeb jednotlivých členských zemí. Její zásluhou se upevňovala spolupráce mezi členskými státy RVHP ve veterinární

péči, zdokonalovaly a unifikovaly se metody prevence a boje proti nakažlivým chorobám zvířat, sjednocovaly se veterinární podmínky mezinárodního obchodu se zvířaty, surovinami a produkty živočišného původu i krmivy. A tak mohlo být schváleno již 28 doporučení ke standardizaci diagnostických metodik a ke sjednocení metod boje proti nakažlivým chorobám zvířat. Např. bylo přijato doporučení pro společné provádění profylaktických opatření v pohraničních oblastech při výskytu tak nebezpečných nálezů hospodářských zvířat, jako je plicní nákaza a mor skotu, slintavka a kulhavka, africký mor koní a prasat, vzteklna, myxomatóza atd.

Dále byly schváleny metody vyšetřování a použití diagnostických preparátů při vývozu a dovozu hospodářských zvířat a byly sjednoceny diagnostické metodiky vibriózy, trichomonádové nákazy, Aujezského choroby, pulorové nákazy a metody bakteriologického vyšetřování masa a masných výrobků. V r. 1969 byly schváleny i veterinárně hygienické zásady pro export, import a tranzit zvířat, surovin i produktů živočišného původu a předmětů, které mohou být nositeli infekčních onemocnění. V těchto zásadách jsou zahrnuta a respektována všechna základní opatření pro mezinárodní výměnu zboží, při níž je stanovena veterinární pohraniční kontrola.

V roce 1970 byly projednány další dokumenty, a to o mezinárodní výměně semene plemenných býků, o jeho kvantitativním a kvalitativním hodnocení, a byly upřesněny podmínky dodávek plemenných hospodářských zvířat mezi členskými státy RVHP.

Další rozvoj socialistických zemí a nutnost efektivně využívat předností socialismu objektivně vede k jejich další ekonomické integraci, která je jak přirozeným pokračováním dosavadní hospodářské a vědeckotechnické spolupráce, tak svědectvím o nové historické etapě jejich sblížení.

Proto byl na XXV. zasedání RVHP v červenci 1971 schválen „Komplexní program dalšího prohlubování a zdokonalování spolupráce a rozvoje socialistické a ekonomické integrace členských států“. Tento zásadní dokument vytyčuje hlavní směry rozvoje vzájemných hospodářskovědeckých vztahů na příštích 15 až 20 let.

V zemědělství a v potravinářském průmyslu se považuje podle tohoto programu za nutné, aby každý členský stát využíval co nejefektivněji pro zabezpečení dalšího zintenzívnění výroby své ekonomické a přírodní podmínky a zavádění výsledků vědeckotechnického výzkumu do praxe.

Ve veterinární činnosti pak komplexní program ukládá:

- rozvíjet a zdokonalovat spolupráci mezi jednotlivými veterinárními službami, přitom soustřeďovat společné úsilí států na vývoj maximálně efektivních diagnostických metod a prostředků boje proti nakažlivým a nenakažlivým chorobám hospodářských zvířat a na sestavení veterinárně zdravotních požadavků pro průmyslovou živočišnou výrobu;
- v letech 1971 až 1973 vypracovat návrhy na rozvoj a specializaci výroby jednotlivých druhů veterinárních přípravků, přístrojů a zařízení a speciálních veterinárních automobilů tak, aby potřeby veterinárních preparátů, hlavně anthelmintik, a technických prostředků jednotlivých zemí byly uspokojovány v podstatě vlastní výrobou a vzájemnými dodávkami z členských států RVHP.

Tato nová orientace socialistické ekonomické integrace se v práci stálé pracovní skupiny pro veterinární lékařství projevila velmi výrazně. Tak byly



již projednány zásady specializace a kooperace při výrobě veterinárních preparátů, speciálního veterinárního laboratorního vybavení, aparatur a automobilů pro veterinární službu, které mají být podkladem pro dlouhodobé plánování do roku 1985. Současně byly přijaty zásady srovnávacího hodnocení nových antiparazitárních přípravků vyráběných v členských státech RVHP s tím, aby vybrané nejefektivnější preparáty byly rychleji zaváděny do praxe.

Pozornost také byla věnována rychlým diagnostickým metodám leukózy drůbeže, afrického moru prasat, respiračních virových chorob telat a selat, virové gastroenteritidy prasat a jednotné metodě laboratorních zkoušek leukózy skotu.

V roce 1972 pak byly dále schváleny:

- opatření ke zdokonalování organizace zdravotně hygienického režimu na velkých farmách, včetně rozpracování veterinárně zdravotních norem pro projektování objektů v živočišné výrobě;
- návrh dohody na specializaci a kooperaci výroby veterinárních preparátů, především anthelmintik, kokcidiostatik a hormonálních preparátů pro synchronizaci říje;
- veterinárně zdravotní požadavky na inseminační stanice exportující sperma, na veterinární vyšetřování plemenných býků a na jednotnou dokumentaci výsledků a hodnocení vyšetřování;
- standardizace metodik sérologické diagnostiky mykoplazmózy u drůbeže;
- organizace referenčních center pro nejdůležitější kmeny virů, bakterií a fágů a jim odpovídajících antigenů a kontrolních sér a některých laboratorních chemikálií.

## SPOLUPRÁCE VE VETERINÁRNÍCH VĚDÁCH

Po vítězství pracujících v roce 1948 začala být u nás budována rozsáhlá vědeckovýzkumná základna, která velmi rychle kvantitativně rostla. Jestliže v ní v roce 1950 bylo činně jen kolem 17 000 lidí, koncem minulého roku to bylo již na 150 000 pracovníků. Úměrně tomu se zvyšovaly i finanční výdaje na výzkum. Např. v roce 1973 činily téměř 12 miliard Kčs, což představovalo 3,6 % našeho národního důchodu.

Přesto naše vědeckovýzkumná základna činí jen velmi malý díl světové vědeckovýzkumné kapacity. V současné době pracuje totiž na světě ve vědě a ve výzkumu na 12 milionů lidí. Počet našich pracovníků přesahuje tedy jen něco málo 1 % světové vědeckovýzkumné báze. To nám pochopitelně nedovoluje, abychom se aktivně podíleli na řešení všech otázek světové vědeckovýzkumné fronty, nýbrž musíme pečlivě, v souladu s prioritami, které určují budoucí dynamický a efektivní rozvoj našeho národního hospodářství, orientovat náš výzkum na rozhodující oblasti a koncentrovat jeho síly na vybrané nejnaléhavější problémy. Rozměňování našeho výzkumného potenciálu by vedlo k opožďování za světovým vývojem.

Proto je nutné začleňovat naše vědeckovýzkumná pracoviště do mezinárodní dělby práce. Je logické, že se v této spolupráci zaměřujeme na země, s nimiž nás pojí socialistická jednota zájmů a cílů, která vytváří předpoklady pro v podstatě neohraničený prostor vědeckotechnické spolupráce.

I v zemích RVHP vyrostl totiž v uplynulém údobí vědeckotechnický potenciál, představovaný rozsáhlou sítí vědeckovýzkumných, projekčních, kon-

strukčních a experimentálních základů, v nichž pracuje více než 4,5 miliónu lidí, tedy zhruba třetina počtu pracovníků činných ve vědeckovýzkumné základně na světě. Země RVHP jsou proto společně s to řešit všechny základní problémy současného technického rozvoje.

U vědomí revolucionizujícího významu vědy pro socialistický tábor byla proto již na IV. zasedání RVHP přijata zásada o bezplatném předávání vědeckotechnické dokumentace. Ta sehrála při urychlování industrializace tehdy méně rozvinutých socialistických zemí obrovskou úlohu. Tak jen do roku 1960 došlo mezi členskými státy RVHP k výměně kolem 40 000 komplexů vědeckotechnické dokumentace.

Proto i XV. zasedání RVHP zdůraznilo v roce 1961 nezbytnost zvýšit péči všech svých orgánů o vědeckotechnickou spolupráci a přikročit k plánování mnohostranné kooperace v pětiletých obdobích. Rovněž rozhodlo, aby byla vytvořena stálá komise pro koordinaci vědeckých a technických výzkumů. Tím byly položeny základy k plánovitému rozvoji mnohostranné spolupráce. Po dvouleté přípravě byl vypracován první plán koordinace výzkumu členských států RVHP na léta 1964–1965, který zahrnoval důležité odvětvové i meziodvětvové problémy, základní i aplikované.

Již realizace tohoto prvního plánu koordinace nejdůležitějších vědeckých a technických výzkumů přinesla úspěchy. Během dvou let se podařilo zakončit více než 500 vědeckých a technických prací, vyvinout 107 nových strojů, zařízení a přístrojů, 75 nových druhů materiálů a chemických preparátů, vypracovat a osvojit 117 nových technologických procesů a zakončit 65 významných teoretických prací.

Šedesátá léta tedy znamenala kvantitativní rozmach spolupráce. Avšak objevily a prohloubily se i některé problémy a obtíže. Rozvoj výrobních sil jednotlivých členských zemí RVHP totiž začal přerušovat jejich hranice. Proto mělo usnesení XXV. zasedání RVHP o komplexním programu socialistické ekonomické integrace pro vědeckotechnickou spolupráci na principu dělby práce a na principu jednoty cyklu „věda — výzkum — výroba — užití“ zvlášť velký význam.

Byla totiž přijata zásada, že je třeba trvale vybírat nejdůležitější problémy vědeckotechnického rozvoje socialistického společenství, problémy, které rozhodujícím způsobem zájímají všechny nebo alespoň většinu zemí RVHP, a řešit je společnými silami. Takových velkých vědeckovýzkumných problémů, které je třeba řešit uplatněním nových forem a metod práce, bylo vytypováno 18. V současné době jsou pro společné řešení komplexních vědeckovýzkumných projektů podepsány již 43 mnohostranné mezinárodní dohody a 10 je jich rozpracováno. Tedy podstatně více než bylo původně stanoveno. Dochází přitom k dělbě práce v kolektivech pod jedním společným vedením. Přitom jsou to projekty, na něž jsou vynakládány mnohamiliardové částky a na něž se soustřeďují tisícové kolektivy vědeckých pracovníků. Za řešení jednotlivých problémů odpovídá Rada zplnomocněnců, což jsou orgány složené ze zmocněnců vlád zainteresovaných zemí. Ty se opírají o vedoucí koordinační pracoviště, která jsou pověřena konkrétní operativní aktivitou. Od našich zmocněnců především požadujeme, aby svou činnost opírali o koncepci československé účasti v příslušném mezinárodním projektu, aby tato koncepce vyjadřovala zejména ty priority, pro něž máme dostatek kvalifikovaných kádrů, kde můžeme s plnou odpovědností na sebe přebírat řešení některých problémů v rámci programu s tím, že v případech, kdy jsou v jiných zemích pro výzkum dalších problémů lepší

podmínky a předpoklady, u nás se na nich pracovat nebude. Realizace této zátady má celou řadu složitých aspektů. Ve svých důsledcích např. také znamená, že plán VTR na příští pětiletku by měl vlastně být plánem zapojení ČSSR do mezinárodní spolupráce. Rozsah výzkumných úkolů budeme totiž moci v našich plánech omezovat. Neznamená to ovšem, že budou kráceny prostředky na výzkum. Naopak, v šesté pětiletce se v přímé závislosti na růstu národního důchodu počítá s jejich dalším růstem.

Tyto nové principy spolupráce se pochopitelně promítají i do veterinárního výzkumu, který byl u nás vybudován v uplynulých necelých dvou desetiletích. Hlavním zdrojem rychlého růstu veterinární výzkumné základny a především jejího účinného zaměření v období revolučních přeměn našeho zemědělství byla všestranná spolupráce a široké přebírání zkušeností ze spřátelených socialistických zemí, především ze sovětských pracovišť. Tato kooperace se postupně rozvíjela a dnes se dobrala nové, vyšší etapy. V současné době se realizuje nejen ve dvoustranných dohodách, ale tvoří širokou základnu pro mnohostrannou součinnost všech států RVHP ve veterinárních vědách.

Význam této dělby práce ve veterinární medicíně je však nutno vidět i v dalších souvislostech. Naše veterinární výzkumná základna má relativně velmi malou pracovní kapacitu. Její úkoly však jsou velmi široké, poměrně rozsáhlejší než v celé řadě jiných oblastí, např. v průmyslu. Proto mnohé z úkolů, jimiž je nezbytné se zabývat, se zcela vymykají československým možnostem. V této situaci je spolupráce s vědeckými institucemi RVHP naprostou nutností. Tato kooperace spočívá nejen ve výměně výsledků výzkumu, ale již také ve společném řešení pečlivě vytypovaných problémů a témat. Tak např. již v šedesátých letech byla rozvinuta ve výzkumu virových chorob dýchacích a trávicích orgánů skotu a prasat, ve výzkumu leukózy skotu a drůbeže, ve výzkumu metod potírání mastitid krav a ve výzkumu prognóz vývoje vedy v oblasti ochrany zvířat před chorobami v průmyslových formách živočišné výroby a ve velkých stádech. V poslední době byla spolupráce rozšířena o studium teoretických základů biologie rozmnožování a vypracování nových racionálních metod reprodukce hospodářských zvířat ve velkochovech a o studium biologických základů vlivu vnějšího prostředí na zvířata v podmínkách velkovýrobních forem z hlediska jejich zdraví a reprodukce. Dále se naše pracoviště podílejí na výzkumu optimalizace metod selekce a hodnocení plemenných vlastností zvířat studiem genetických faktorů ovlivňujících jejich zdraví a na výzkumu vlivu pesticidů na biologickou hodnotu potravinářských výrobků tím, že jsou zkoumány hygienické a toxikologické problémy, spojené s vypracováním, aprobací, standardizací a automatizací metod stanovení a norem tolerancí pesticidů i jejich metabolitů v potravinách a ve vnějším prostředí.

Velký posun vpřed znamená rozvíjení nových, vyšších prvků spolupráce, jímž je zřízení řady veterinárních referenčních center. Z nich se v Československu počítá s činností referenčního centra pro kmemy virů prasat při Výzkumném ústavu veterinárního lékařství v Brně, referenčního centra pro kokcidie při Výzkumném ústavu pro biofaktory a veterinární léčiva SPOFA v Pohoří Chotouni, referenčního centra pro vzteklinu při Ústavu experimentální veterinární medicíny v Košicích a referenčního centra pro anthelmintika při Helminatologickém ústavu SAV v Košicích.

Vedle toho byly uzavřeny bilaterální dohody mezi zeměmi RVHP, majícími společné problémy. Např. na základě vládní dohody bylo zřízeno společné pracoviště Výzkumného ústavu veterinárního lékařství v Brně a Ústavu biologie

a patologie rozmnožování a neinfekčních chorob v Sofii, nebo smlouva našich pracovišť s Výzkumným ústavem veterinárním Maďarské akademie věd v Budapešti, či s Ústavem pro výzkum bakteriálních nákaz zvířat Německé zemědělské akademie v Jeně.

Jak dalekosáhlé důsledky má tato integrace ve veterinárním výzkumu pro některá naše pracoviště, vyplývá z příkladu Výzkumného ústavu veterinárního lékařství v Brně. Ten měl v roce 1972 začleněno do řešení úkolů, koordinovaných v RVHP, 24,4 % své pracovní kapacity; v minulém roce to bylo již 31,1 % a v letošním roce je to 40,6 %.

I naše veterinární vědy se tedy postupně stávají významnou součástí veterinárních věd zemí RVHP. Je to rys, který u nás vytváří kvalitativně nový typ vědeckovýzkumné základny, pevně, internacionálně svázané se společnými problémy veterinární medicíny států RVHP.

Dosavadní výsledky v rozvoji vědeckotechnické spolupráce ve veterinární medicíně dokládají, jak další velké možnosti mezinárodní socialistická dělba práce nám dává. Zvláště komplexní program přijatý na XXV. zasedání RVHP otevírá novou etapu v jejích ekonomických vztazích, etapu užší integrace jejích věd. Realizace komplexního programu se stává významným činitelem socialistické a komunistické výstavby států RVHP a pomáhá dalšímu zvýšení hospodářské síly světového socialistického společenství, přispívá k upevnění míru a mezinárodní bezpečnosti.

Proto XIV. sjezd KSČ právem položil vedle vědeckotechnické revoluce velký důraz i na dalšího činitele rozvoje naší společnosti, na mezinárodní socialistickou integraci, a proto i XXIV. sjezd KSSS zdůraznil: „Linie států RVHP, sledující mezistátní specializaci a kooperaci výroby, těsnou koordinaci národohospodářských plánů, ekonomickou integraci, vyjadřuje objektivní potřeby rozvoje světového socialismu.“

Došlo dne 13. 8. 1974

---

*Adresa autora:*

Prof. MVDr. A. Holub, DrSc., Vysoká škola veterinární, Palackého 1-3, 612 42 Brno

---

# IMUNIZÁCIA HOVÄDZIEHO DOBYTKA PROTI Q HORÚČKE

E. Sádecký, R. Brezina, M. Michalovič

Virologický ústav SAV, Bratislava

Okresné veterinárne zariadenie, Komárno

---

SÁDECKÝ E., BREZINA R., MICHALOVIČ M. *Imunizácia hovädzieho dobytká proti Q horúčke*. Vet. Med. (Praha) 19 (11) : 653-660, 1974.

Pretože protektívnu antigénnu zložku proti prirodzenej infekcii majú koxielové kmene v I. fáze, pri vakcinácii jalovic sme použili mŕtvu suspenziu koxielového kmeňa BUD v I. fáze. Vakcinované jalovice sa v priebehu trojmesačného pobytu v prirodzene infikovanom chove dojnic neinfikovali *C. burneti*, na rozdiel od kontrolnej nevakcinovanej skupiny jalovic, v ktorej sa z 12 zvierat prirodzene infikovalo 8 kusov (66,6%). U vakcinovaných jalovic sme pôvodcu nákazy bezprostredne po pôrode nedokázali ani v placentе ani v kolostre a pri dlhodobom sledovaní v priebehu troch rokov po vakcinácii ani v mlieku. Pri zisťovaní protilátok v krvi vakcinovaných a prirodzene infikovaných zvierat je výhodnejšie používať mikroaglutinačnú reakciu podľa Fiseta (1969) ako komplexmentfixačnú reakciu. Získané výsledky zdajú sa mať praktický význam pri ochrane zdravých jalovic pred infekciou *C. burneti* v terénnych podmienkach.

Q horúčka; imunizácia; hovädzí dobytok

---

Jediný doposiaľ známy pokus o imunizovanie hovädzieho dobytká proti Q horúčke urobili v Kalifornii v roku 1949 (Luoto a kol. 1952). Kmeňom Henzerling *C. burneti* imunizovali 1600 jalovic vo veku 18 mesiacov. Ochranný účinok vakcinácie vyhodnocovali na základe prítomnosti protilátok v krvi a experimentálneho potvrdenia, že imunizované zvieratá nevylučujú mliekom pôvodcu nákazy. Pri porovnaní s kontrolnými skupinami jalovic bolo 30 % vakcinovaných zvierat chránených pred infekciou. Autori uvádzajú, že medzi vakcinované jalovice boli nedopatrením zaradené aj také zvieratá, ktoré pochádzali z oblastí zamorených Q horúčkou.

Ukazuje sa, že z celého radu zásahov do epizootologického procesu Q horúčky by špecifická vakcinácia mohla mať podstatný význam.

Epidémie Q horúčky sa od roku 1954 vyskytli takmer vo všetkých krajoch Slovenska. Zistilo sa, že častým prameňom infekcie bol hovädzí dobytok (Nižnánsky a Gmitter 1956; Gmitter 1961; Fričová a kol., 1967; Tarabčák a kol., 1970; Palanová 1973).

V práci referujeme o výsledkoch pokusov o imunizáciu hovädzieho dobytká proti Q horúčke.



Kmeň BUD *C. burneti* bol izolovaný v roku 1961 z krvi človeka chorého na Q horúčku. Z fázy I tohto kmeňa, ktorý prekonal tri pasáže na morčatách a štyri pasáže na žltkových vakoch 7-dňových kuracích zárodkov (MO 3, E 4), bola purifikačnou metódou podľa Ormsbeeho (1962) pripravená formolom inaktivovaná suspenzia a štandardizovaná na hustotu 1 mg ml<sup>-1</sup>. Vakcinačná dávka bola 500 µg v 5 ml fyziologického roztoku.

**Plán pokusu:** Pokusné skupiny sa vybrali z chovu 50 jalovic ustajnených v maštali na samote, vzdialenej 2 km od najbližšieho chovu hovädzieho dobytku. Všetky zvieratá boli pohlavne dospelé, klinicky zdravé, simentálskeho plemena, bez protilátok, o čom sme sa presvedčili opakovaným sérologickým vyšetrením v intervale 14 dní.

Skupinu 12 jalovic sme deň pred vakcináciou preradili do chovu 174 dojnic, z ktorých 47 % bolo sérologicky pozitívnych v dôsledku prirodzenej infekcie *C. burneti*. Po troch mesiacoch spoločného ustajnenia sme infektivitu prostredia zisťovali dôkazom protilátok v krvi jalovic.

Z ostávajúcich 38 vakcinovaných zvierat sme vybrali skupinu 12 jalovic, ktoré boli v čase vakcinácie vo štvrtom mesiaci breživosti a tri mesiace pred otelením, a preradili ju do prirodzene nakazeného chovu dojnic. Trvanie spoločného ustajnenia pred pôrodom jalovic v zamorenom chove sme stanovili tak tiež na tri mesiace.

Kritériom chránenosti vakcinovaných jalovic pred prirodzenou infekciou bol sérologický dôkaz protilátok a experimentálne overenie, že placentou, kolostrum a mliekom nedochádza k vylučovaniu pôvodcu nákazy. Aglutinačné protilátky v krvi zvierat a prítomnosť *C. burneti* v mlieku sme u nich jednorázovo zisťovali v priebehu dvoch rokov po vakcinácii.

Pre porovnávanie hladín protilátok a vylučovanie *C. burneti* mliekom sme vybrali 12 prirodzene infikovaných dojnic, ktoré mali v krvi v čase vakcinácie jalovic približne rovnaké titre protilátok, zisťované mikroaglutinačnou reakciou (MAR) a reakciou väzby komplementu (RVK).

Napriek protilátkam v krvi a mliečnej srvátke sme u prirodzene infikovanej dojnice č. 21002 zisťovali v priebehu 6 mesiacov vylučovanie pôvodcu nákazy.

**Sérologické vyšetrenia:** Krv hovädzieho dobytku sme odoberali z v. jugularis, škrečkov (*Mesocricetus auratus*) punkciou srdca. Protilátky v krvi sme dokazovali MAR podľa Físeta a kol. (1969) a RVK (Řeháček a kol. 1970). Pre obe reakcie sme použili antigény fázy I a II. Vzorky mlieka po 10 ml sme uchovávali 72 hodín v termostate pri teplote 37 °C. Po jeho vyzrážaní sme srvátku odsali pipetou a na protilátky vyšetřili MAR.

*C. burneti* v plodových obaloch, kolostrách a mliekach vakcinovaných jalovic i prirodzene infikovaných dojnic sme dokazovali na škrečkoch (*Mesocricetus auratus*). Odstredenými vzorkami kolostier a mliek sme dávkou 2 ml vnútrobrušne inokulovali škrečky a po 21 dňoch sme ich séra vyšetřili na protilátky. Z placent sme pripravovali 10% suspenzie v pufrovanom fyziologickom roztoku (pH 7,2), ktoré sme po centrifugovaní 5 minút pri 1000 obr min<sup>-1</sup> v dávke 2 ml sedimentu vnútrobrušne injikovali dvom škrečkom. Protilátky v ich krvi sme dokazovali po uplynutí 21 dní.

Protetivny účinnok vakcinácie sme u jalovic vyhodnocovali podľa objavenia sa protilátok a vylučovania pôvodcu nákazy plodovými obalmi, koľostrom a mliekom.

## VÝSLEDKY

V priebehu 5 dní po vakcinácii sme očkovaným zvieratám merali telesnú teplotu. U väčšiny zvierat sme zaznamenali len mierne zvýšenie, nepresahujúce 1 °C. Teplotu sme merali intrarektálne, rýchlobežným teplomerom. Žiadne iné príznaky (zmetanie, skleslosť a zníženú chuť prijímať potravu) sme nespozovali.

Na 21. a 53. deň po vakcinácii sme séra zvierat sérologicky vyšetrili reakciami mikroaglutinácie a väzby komplementu s antigénmi oboch fáz. Výsledky sú na tab. I.

I. Aglutinačné a komplementfixačné protilátky s antigénom fázy I a II v sérach 38 jalovic na 21. a 53. deň po vakcinácii

| Titer protilátok | Počet zvierat s protilátkami |     |     |     |                      |     |     |     |
|------------------|------------------------------|-----|-----|-----|----------------------|-----|-----|-----|
|                  | 21 dní po vakcinácii         |     |     |     | 53 dní po vakcinácii |     |     |     |
|                  | MAR                          |     | RVK |     | MAR                  |     | RVK |     |
|                  | FI                           | FII | FI  | FII | FI                   | FII | FI  | FII |
| 256              | —                            | 8   | —   | —   | —                    | —   | —   | —   |
| 128              | —                            | 9   | —   | —   | —                    | —   | —   | —   |
| 64               | —                            | 12  | —   | 1   | —                    | —   | —   | —   |
| 32               | —                            | 6   | —   | 4   | —                    | —   | —   | —   |
| 16               | 6                            | 3   | —   | 6   | —                    | 2   | —   | 2   |
| 8                | 10                           | —   | —   | 5   | 1                    | 9   | —   | 1   |
| 4                | 3                            | —   | —   | 7   | 1                    | 13  | —   | 5   |
| 2                | 11                           | —   | —   | —   | 8                    | 6   | —   | —   |
| Bez protilátok   | 8                            | —   | 38  | 15  | 27                   | 5   | 36  | 28  |
| N                |                              |     |     |     | 1                    | 3   | 2   | 2   |

— = ostatné vzorky krvi majú nižšie titre protilátok, alebo chýbajú

N = nerobilo sa

Agglutinačné protilátky fázy II sme na 21. deň po vakcinácii dokázali vo vysokých titroch u všetkých zvierat, kým protilátky fázy I boli prítomné v titroch podstatne nižších, a u 20 % sme ich nedokázali vôbec. Protilátky fázy I mali len tie jalovice, u ktorých sme našli vysoké titre protilátok fázy II.

Reakciou väzby komplementu sme v tých istých vzorkách krvi dokázali len protilátky fázy II, ale len u tých jalovic, u ktorých sme našli vysoké titre aglutinačných protilátok fázy II.

Po 53 dňoch sme opätovne vyšetrili krv vakcinovaných zvierat. Ukázalo sa, že po uplynutí tohto času došlo k výraznému zníženiu protilátok oboch fáz, a to v oboch sérologických reakciách.

Skupinu 12 vakcinovaných brezivých jalovic sme do chovu prirodzene nakazených dojníc preradili tri mesiace pred očakávanými pôrodmí. Z 12 kontrolných nevakinovaných jalovic, zaradených do chovu dojníc v čase očkovania, sa v priebehu trojmesačného ustajnenia v zamorenom prostredí infikovalo 8 zvierat. V ich krvi sme mikroaglutinačnou reakciou dokázali protilátky v titroch 1 : 8 — 1 : 32.

V krvi 12 brezivých očkovaných jalovic sme mikroaglutinačnou reakciou na 21. deň po vakcinácii dokázali protilátky v titroch 1 : 16 — 256. Po uplynutí ďalších 32 dní klesli hladiny protilátok na titre 1 : 2 — 1 : 8. Ďalšími vyšetreniami v tom istom roku a jednorázovými sérologickými vyšetreniami v nasledujúcich dvoch rokoch ku zvýšeniu titrov nedošlo (tab. II).

## II. Aglutinačné protilátky fázy II v sérach jalovic imunizovaných v roku 1971

| Ušné číslo | Titre protilátok (MAR) v rokoch 1971 až 1973 |               |           |           |           |           |            |
|------------|----------------------------------------------|---------------|-----------|-----------|-----------|-----------|------------|
|            | pred<br>vakciná-<br>ciou                     | po vakcinácii |           |           |           |           |            |
|            |                                              | 18. 2. 71     | 26. 3. 71 | 29. 4. 71 | 29. 9. 71 | 5. 11. 71 | 10. 11. 72 |
| 34095      | —                                            | 64*           | 2         | 2         | 2         | 4         | 2          |
| 34097      | —                                            | 128           | 2         | 4         | 2         | 4         | N          |
| 34099      | —                                            | 128           | 8         | 4         | 2         | 4         | —          |
| 34100      | —                                            | 256           | 2         | 8         | 2         | 4         | 4          |
| 34096      | —                                            | 256           | 4         | 8         | 2         | 4         | 8          |
| 34105      | —                                            | 128           | 4         | 4         | 2         | 4         | —          |
| 29720      | —                                            | 128           | 4         | 4         | 2         | 2         | —          |
| 34089      | —                                            | 32            | 4         | —         | 2         | 2         | 8          |
| 34108      | —                                            | 16            | —         | —         | 2         | 2         | —          |
| 34093      | —                                            | 64            | 8         | 4         | 2         | 4         | N          |
| 34080      | —                                            | 128           | 8         | 4         | 2         | 2         | —          |
| 33991      | —                                            | 16            | 2         | 4         | 2         | 2         | N          |

— = < 1 : 2

\* = recipročná hodnota titrov protilátok

N = nerobilo sa

V priebehu trojmesačného ustajnenia jalovic v nakazenom chove dojníc sme u vakcinovaných zvierat zmetania, predčasné pôrody, rodenie sa nezužitých teliec, bronchopneumónie matiek, či keratokonjunktivitídy mladých zvierat nezaznamenali. Pôrody jalovic bez komplikácií a zadržanie placenty sa nevyskytlo ani v jednom prípade.

Po pôrode jednotlivých jalovic sme vyšetrili plodové obaly, kolostrá a vzorky mlieka na prítomnosť pôvodu nákazy. Ani v jednom prípade sme ho v uvedených materiáloch nedokázali. Prirodzene infikované dojnice môžu dlhodobo vylučovať *C. burneti* mliekom. Taký prípad je ilustrovaný u dojnice č. 21002 (tab. III).

III. Vylučovanie *C. burneti* mliekom dojnice a hladiny aglutinačných protilátok fázy II v krvi a mliečnej srvátke v priebehu 6 mesiacov

| Dojnica číslo 21002                   | Datum odobratia materiálu |           |           |            |
|---------------------------------------|---------------------------|-----------|-----------|------------|
|                                       | 2. 7. 70                  | 12. 8. 70 | 14. 9. 70 | 13. 12. 70 |
| Titre protilátok v krvi               | 64*                       | 128       | 128       | 256        |
| Titre protilátok v mliečnej srvátke   | N                         | 32        | 64        | 64         |
| Prítomnosť <i>C. burneti</i> v mlieku | N                         | 64        | 64        | 64         |

N = nerobilo sa,

\* = recipročná hodnota titrov protilátok

Výsledky porovnania vylučovania *C. burneti* mliekom prirodzene infikovaných a vakcinovaných dojníc sú zhrnuté na tab. IV. Zo skupiny 12 prirodzene nakazených dojníc 7 zvierat vylučovalo mliekom *C. burneti*.

IV. Protilátky fázy II a vylučovanie *C. burneti* mliekom prirodzene infikovaných dojníc a vakcinovaných jalovíc

| Prirodzene infikované dojnice |                     |     |    |                          | Vakcinované jalovice |                     |                   |    |                                                       |        |        |
|-------------------------------|---------------------|-----|----|--------------------------|----------------------|---------------------|-------------------|----|-------------------------------------------------------|--------|--------|
| ušné čísla                    | mesiace odberu krvi |     |    | <i>C. b.</i><br>v mlieku | ušné čísla           | mesiace odberu krvi |                   |    | <i>C. b.</i> v mlieku<br>v mesiacoch<br>po vakcinácii |        |        |
|                               | II <sup>+</sup>     | III | IX |                          |                      | III <sup>++</sup>   | IV <sup>+++</sup> | IX | VI                                                    | XIII   | XXIX   |
| 20954                         | 256*                | 32  | 16 | pozit.                   | 34100                | 256                 | 2                 | 8  | negat.                                                | negat. | negat. |
| 24694                         | 256                 | 128 | 64 | pozit.                   | 34096                | 256                 | 4                 | 8  | negat.                                                | negat. | negat. |
| 21002                         | 128                 | 128 | 64 | pozit.                   | 34105                | 128                 | 4                 | 4  | negat.                                                | negat. | negat. |
| 28411                         | 64                  | 64  | N  | pozit.                   | 34099                | 128                 | 8                 | 4  | negat.                                                | negat. | negat. |
| 20994                         | 256                 | 32  | 32 | pozit.                   | 29720                | 128                 | 4                 | 4  | negat.                                                | negat. | negat. |
| 20891                         | 64                  | 64  | 32 | pozit.                   | 34080                | 128                 | 8                 | 4  | negat.                                                | negat. | negat. |
| 27444                         | 32                  | 32  | 32 | pozit.                   | 34095                | 64                  | 2                 | 2  | negat.                                                | negat. | negat. |
| 27464                         | 8                   | 4   | 2  | negat.                   | 34093                | 64                  | 8                 | 4  | negat.                                                | negat. | negat. |
| 20991                         | 16                  | 16  | 16 | negat.                   | 34097                | 128                 | 2                 | 4  | negat.                                                | negat. | negat. |
| 28302                         | N                   | 16  | 32 | negat.                   | 34089                | 32                  | 4                 | 0  | negat.                                                | negat. | negat. |
| 20973                         | N                   | 8   | 16 | negat.                   | 34108                | 16                  | 0                 | 0  | negat.                                                | negat. | negat. |
| 27449                         | N                   | 32  | 4  | negat.                   | 33991                | 16                  | 2                 | 4  | negat.                                                | negat. | negat. |

N = nerobilo sa

0 = 1 : 2 MAR

\* = recipročná hodnota titrov protilátok

II<sup>+</sup> = námatkovo vybrané dojnice podľa pribl. titra protilátok voči *C. burneti*

++ = 21 dní po vakcinácii

+++ = 53 dní po vakcinácii

Prirodzene infikované zvieratá vylučujú obrovské množstvá *C. burneti*, najmä v čase pôrodov, plodovými obalmi (Welsh a kol. 1951), vodami, močom, trusom a dlhodobé mliekom (Huebner a kol. 1949) a sú najčastejším prameňom nákazy ľudí a zvierat. Priaznivý výsledok tlmenia Q horúčky závisí teda od rozsahu ochrany hospodárskych zvierat pred infekciou; jednu možnosť poskytuje účinná vakcinácia hovädzieho dobytká.

Zo štúdia antigénnych vlastností *C. burnetti* vyplýva, že účinnú protektívnu antigénnu zložku proti prirodzenej infekcii majú kmene *C. burneti* fázy I (Brezina 1968).

V čase prvého vakcinačného pokusu hovädzieho dobytká proti Q horúčke sa ešte nevedelo o význame protektívnej zložky fázy I. V práci Luota a kol. (1952) v charakteristike kmeňa Henzerling chýba údaj o počte prekonaných vaječných pasáží, čo vylučuje možnosť aspoň približného určenia fázy. Autori používali reakciu väzby komplementu, ktorá podľa našich poznatkov v porovnaní s mikroaglutinačnou reakciou podľa Fiseta a kol. (1959) neodkrýva ani 50 % reagentov. Ak máme na zreteli skutočnosť, že do pokusu zaradili takto vyšetrené zvieratá, pochádzajúce z oblastí zamorených Q horúčkou, získané výsledky nemožno posudzovať bez určitých pochybností.

Od roku 1954 sa Q horúčka stala na území Slovenska naliehavým nákazovým problémom. Hromadné ochorenia ľudí na Q horúčku vo dvoch hospodárstvach južnej časti západného Slovenska v roku 1970–71 a v siedmi lokalitách košického okresu v roku 1973 pri ktorých sa zistilo, že prameňom infekcie bol prevažne nakazený hovädzí dobytok, zdôrazňujú význam ochrany zdravia ľudí a zvierat pred infekciou *C. burneti*.

Aj keď je variabilnosť epizootologického procesu v chovoch hovädzieho dobytká veľká a stanovenie klinickej diagnózy Q horúčky veľmi ťažké, nemožno súhlasiť s vyradovaním nákazou postihnutých zvierat z chovu na základe laboratórne neoverenej diagnózy. Takýto spôsob brakovania zastiera nákazovú situáciu Q horúčky v chove, znemožňuje vyčíslenie škôd vzniknutých zmetaniami plodov už v prvých mesiacoch breživosti, bronchopneumóniami, keratokonjunktivitídami, najmä mladého dobytká a hynutím neduživých mláďat. Rozsah škôd je podobný stratám, aké zapríčiňuje brucelóza (Huebner 1951).

Keďže sa v posledných rokoch stále vyskytujú hromadné ochorenia ľudí na Q horúčku, čo vyplýva z premorenosti chovov hovädzieho dobytká *C. burneti*, je nevyhnutné chrániť účinnou imunoprofylaxiou predovšetkým panenské chovy hovädzieho dobytká pred touto infekciou.

Výsledky nášho predbežného a pritom nie rozsiahleho pokusu dokazujú, že vakcinácia purifikovanou suspenziou fázy I *C. burneti* zabezpečuje jaloviciam, ktoré pred vakcináciou neprišli do kontaktu s pôvodcom nákazy, ochranu pred infekciou *C. burneti* najmenej na tri roky.

Porovnaním výsledkov vyšetrení krvi prirodzene infikovaných a vakcinovaných zvierat mikroaglutinačnou reakciou a reakciou väzby komplementu sa ukázalo, že citlivosť MAR podstatne prevyšuje citlivosť RVK a že bez vyšetrenia MAR nemožno zaradiť do vakcinačného pokusu jalovice pochádzajúce z oblastí zamorených Q horúčkou.

Pri sledovaní titrov protilátok v krvi vakcinovaných jalovíc a prirodzene infikovaných dojníc, ktoré na začiatku sledovania mali približne rovnaké hodnoty, sme v čase sledovania pokusu zistili, že u vakcinovaných jalovíc došlo



k náhlemu a trvalému poklesu titrov o 5 až 6 riedení, kým u prirodzene infikovaných maximálne o jedno až dve riedenia. Tento poznatok zdá sa mať orientačný význam pri zisťovaní kontaktu zvierat so živým pôvodcom nákazy.

Pretože kritériom úspešnosti pokusu bolo zisťovanie *C. burneti* v plodových obaloch, kolostre a dlhodobe v mlieku, vakcinované jalovice sme do prirodzene nakazeného chovu dojnic preradili až po zistení, že tri mesiace pobytu kontrolnej skupiny nevakcinovaných jalovic v tomto prostredí sú dostačujúce, aby sa z 12 kusov 8 infikovalo *C. burneti*.

Tieto výsledky a zistenia, že v krvi vakcinovaných zvierat sme doposiaľ nezaznamenali vzostup titrov protilátok v krvi, ktorý by dokazoval prípadnú prirodzenú infekciu pôvodcom nákazy, považujeme za rozhodujúce pre účinnosť vakcinácie zdravých jalovic proti Q horúčke v terénnych podmienkach.

## Literatúra

- BREZINA R., 1968, New advances in the study of rickettsial antigens. Zentbl. Bakt. I. Orig 206 : 313-319.
- FISSET P., ORMSBEE R. A., SILBERMAN R., PEACOCK M., SPIELMAN S. H., 1969, A microagglutination technique for detection and measurement of rickettsial antibodies. Acta virol., Praha, 13 : 60-66.
- FRICOVÁ M., JANOK J., LUKÁČOVÁ V., ROJKOVIČ D., TARABČÁK M., WILNER L., 1967, Epidémia Q horúčky vo Svidníku. Bratisl. lek. Listy 48 : 233-242.
- GMITTER J., 1961, Epizootológia a prevencia koxielózy na Slovensku. Kand. diz. práca, VŠV Košice.
- LUOTO L., WINN J., HUEBNER R., 1952, Q fever studies in Southern California. XIII Vaccination of dairy cattle against Q fever. Am. J. Hyg. 55 : 190.
- HUEBNER R., JELLISON W. L., BECK M. D., WILCOX F. P., 1949, Q fever studies in Southern California. III. Effects of pasteurisation on survival of *C. burneti* in naturally infected milk. Publ. Hlth Rep., Washington, 16 : 499-511.
- HUEBNER R. J., 1951, Q fever studies in Southern California. Summary of Current results and a discussion of possible control measures. Am. Med. Ass. v. 145 : 301-305.
- NIŽNÁNSKY F., GMITTER J., 1956, Príspevok k epizootológii a ohniskovosti koxielózy oviec. Vet. Čas. 5 : 328-339.
- ORMSBEE R. A., 1962, A method of purifying *Coxiella burneti* and other pathogenic Rickettsiae. J. Immun. 88 : 100-108.
- PALANOVÁ A., 1973, Príspevok k epidemiologickému výskumu Q horúčky. Kand. diz. práca, VŠV Košice.
- REHÁČEK J., ÁC P., MAJERSKÁ M., 1970, Q fever investigation in Slovakia. I. Isolation of the agent from ticks and serological surveys in small mammals in the district of Zvolen and Lučenec, Central Slovakia Region. Journal of HEMI : 230-239.
- SCHRAMÉK Š., BREZINA R., POSPÍŠIL V., 1970, Improved method of preparing phase. II. *Coxiella burneti* antigen for the microagglutination test. Acta virol., Praha, 14 : 415.
- TARABČÁK M., KUHN J., KISS L., KRATOCHVÍL J., LUKÁČOVÁ V., 1970, Epidémia Q horúčky v Rožňavskom okrese. Bratisl. lek. Listy 33 : 672-681.
- WELSH H. H., LENNETTE E. H., ABINANTI F. R., WINN J. F., 1951, Q-fever in California. IV. Occurrence of *C. b.* in placenta of naturally infected sheep. Publ. Hlth Rep., Washington, 66 : 1473.

Došlo dne 29. 4. 1974

---

САДЕЦКИ Э., БРЕЗИНА Р., МИХАЛОВИЧ М. (Вирологический институт САН, Братислава; Районное ветеринарное управление, Комарно, Чехословакия). Иммунизация крупного рогатого скота против горячки Ку. Vet. Med. (Praha) 19 (11) : 653-660, 1974.

Так как коксиелловые штаммы обладают защитным антигенным компонентом против естественной инфекции в I фазе, для вакцинирования телок была использована мертвая сус-

пензия коксиелового штамма BUD в I фазе. Вакцинированные телки в течение 3-месячного пребывания в естественно зараженном стаде не заразились *C. burneti* в отличие от контрольной невакцинированной группы, где из 12 животных было заражено в естественном порядке 8 (66,6 %). У вакцинированных коров возбудитель болезни не был обнаружен ни непосредственно после отела, ни в плаценте либо молозиве, а в ходе длительных наблюдений (3 года спустя вакцинации) — ни в молоке. Для определения антител в крови вакцинированных и естественно зараженных животных предпочтительно пользоваться микроагглютинационной реакцией Фисета (1969), чем комплементфиксационной. Результаты могут найти практическое применение при защите здоровых телок от инфекции *C. burneti* на местах.

горячка Ку; иммунизация; крупной рогатой скот

SÁDECKÝ E., BREZINA R., MICHALOVIČ M. (Virological Institute of the Slovak Academy of Sciences, Bratislava; District Veterinary Station, Komárno, Czechoslovakia). *Immunization of Cattle against Q-Fever*. Vet. Med. (Praha) 19 (11): 653-660, 1974.

Since a protective antigenic component against natural infection was found in Coxiella strains in the first phase, a dead suspension of the Coxiella strain BUD in the first phase was used in the vaccination of heifers. In the course of three-month stay in a naturally infected herd, the vaccinated heifers were not infected by *C. burneti*, as distinct from the control unvaccinated group of heifers in which 8 of 12 animals (66.6 %) were naturally infected. In the vaccinated heifers, the causative agent of the infection was detected neither in placenta nor in colostrum immediately after parturition; in the course of a long-term study for three years after vaccination, the causative agent was not found even in milk. In the examination of antibodies in the blood of vaccinated and naturally infected animals it is advantageous to use microagglutination reaction according to Fiset (1969) rather than complement-fixation reaction. The results obtained seem to be of practical importance in the protection of healthy heifers against *C. burneti* infection under field conditions.

Q fever; immunization; cattle

SÁDECKÝ E., BREZINA R., MICHALOVIČ M. (Virologisches Forschungsinstitut der Slowakischen Akademie der Wissenschaften, Bratislava; Veterinäre Kreiseinrichtung, Komárno, Tschechoslowakei). *Immunisierung von Rindern gegen Q-Fieber*. Vet. Med. (Praha) 19 (11): 653-660, 1974.

In Hinsicht darauf, daß die Coxiella-Stämme die protektive Antigenkomponente gegen natürliche Infektion in der I. Phase aufweisen, benützten wir bei der Vakzination von Färsen eine tote Suspension des Coxiella-Stammes BUD in der I. Phase. Die vakzinierten Färsen infizierten sich während eines dreimonatigen Aufenthalts in einer natürlich infizierten Milchkuhherde mit *Coxiella burneti* nicht, zum Unterschied von einer nichtvakzinierten Färsengruppe, in der sich von 12 Tieren acht auf natürliche Weise infizierten (66,6 %). Bei den vakzinierten Färsen konnten wir den Erreger der Infektion unmittelbar nach dem Abkalben weder in der Plazenta noch im Kolostrum und bei langandauernder Verfolgung im Verlaufe von drei Jahren nach der Vakzination auch in der Milch nicht nachweisen. Bei der Bestimmung von Antikörpern im Blut vakzinierter und natürlich infizierter Tiere ist die Benutzung der Mikroagglutinationsreaktion nach Fiset (1969) vorteilhafter als die Anwendung der Komplementfixationsreaktion. Die erlangten Resultate scheinen praktisch bedeutsam für den Schutz gesunder Färsen vor der *Coxiella-burneti*-Infektion unter praktischen Bedingungen zu sein.

Q-Fieber; Immunisierung; Rind

---

Adresa autorů:

MVDr. E. Sádecký, MUDr. R. Brezina, Virologický ústav SAV, Mlynská dolina 1, 809 39 Bratislava 9,  
MVDr. M. Michalovič, Okresné veterinárne zariadenie, 945 00 Komárno

---

# **PATOLOGICKO-MORFOLOGICKÉ VLASTNOSTI IZOLÁTU D-2 MARKOVEJ CHOROBY NA NIEKTORÝCH BUNKOVÝCH KULTÚRACH AVIÁRNEHO PÔVODU**

**F. Lešník, M. Pavlak, O. J. Vrtiak**

*Vysoká škola veterinárska, Košice*

---

LEŠNÍK F., PAVLAK M., VRTIAK O. J. *Patologicko-morfologické vlastnosti izolátu D-2 Markovej choroby na niektorých bunkových kultúrach aviárneho pôvodu. Vet. Med. (Praha) 19 (11) : 661-666, 1974.*

Študovali sa kultivačné vlastnosti izolátu D-2 vírusu Markovej choroby za použitia primárnych kuracích obličkových buniek, sekundárnych kačacích embryonálnych buniek a sekundárnych kuracích embryonálnych buniek. Cytopatické zmeny sú v zhode s doteraz publikovanými prácami tohto charakteru. Okrem charakteristických cytopatických zmien sa zistilo aj nápadné zväčšovanie sa jadier infikovaných buniek, ktoré u primárnych kuracích obličkových buniek boli väčšie o 3—4 × 2—3 mikrónov oproti kontrole. Ďalej sa pozoroval výskyt bazofilne sa farbiacich útvarov, ktoré po farbení akridinovou oranžou intenzívne žltozeleno fluoreskovali, čo poukázalo na prítomnosť desoxyribonukleovej kyseliny (DNK). V primárnych kuracích obličkových bunkách tieto útvary dosahovali veľkosť okolo 8 × 11 mikrónov. Podobné bunkové útvary sa pozorovali aj v náteroch z bunkovej suspenzie obličiek kurčiat patologicko-morfologicky pozitívnych na Markovu chorobu. V závere práce je diskutovaný pôvod týchto bunkových útvarov ako aj efektívnosť použitých bunkových kultúr.

Markova choroba; izolát D-2; primárne kuracie obličkové bunky; sekundárne kačacie embryonálne bunky; sekundárne kuracie embryonálne bunky; fluorescencia; akridinová oranž; May-Grünwald-Giemsa

---

Herpesvírusový pôvod Markovej choroby (MCh) nezávisle od seba prvýkrát opísal Churchill a Biggs (1967) a Nazerian a kol. (1968). Vírus na základe svojich vlastností bol začlenený medzi herpetické vírusy skupiny B (Churchill a Biggs 1967).

Herpesvírus MCh sa vyznačuje relatívnou hostiteľskou špecifickosťou k bunkovým kultúram aviárneho pôvodu, u ktorých vytvára cytopatické zmeny ložiskového charakteru. Vírus MCh sa najčastejšie pomnožuje v embryonálnych bunkách kurčiat alebo kačíc, v kuracích obličkových bunkách, v epiteliálnych bunkách perových folikul, bunkách kostnej drene a leukocytoch (Churchill a Biggs 1967, Nazerian a Burmester 1968, Solomon a kol. 1968).

Nedávno sme referovali o izolácii izolátu D-2 vírusu MCh na východnom Slovensku (Lešník a kol. 1974a). V tejto práci referujeme o jeho patologicko-morfologických vlastnostiach za použitia niektorých druhov bunkových kultúr aviárneho pôvodu.

Bunkové kultúry sa infikovali bielymi krvnými bunkami, ktoré sa získali buď metódou „buffy coat“, alebo separáciou slepačej krvi sterilným roztokom 35 % ľudského albumínu (Parker 1961). V niektorých prípadoch sa na infikovanie použili iba premyté krvné bunky (Solomon a kol. 1968). Avšak ani v jednom prípade neboli zaznamenané rozdielne výsledky v dôsledku použitia rozdielných metód izolácie krvných buniek a ani cytotoxický účinok krvných buniek na bunkové kultúry. Počet bielych krviniek bol upravený približne na  $10 \times 10^6$  bielych krviniek per 60 mm Petriho misku. Ako bunkové kultúry sa použili sekundárne kuracie embryonálne bunky, primárne kuracie obličkové bunky a sekundárne kačacie embryonálne bunky. Bunky kuracieho pôvodu boli pripravené z RIF-prostých násadových vajec, pochádzajúcich od plemena Kraak Brown Leghorn.

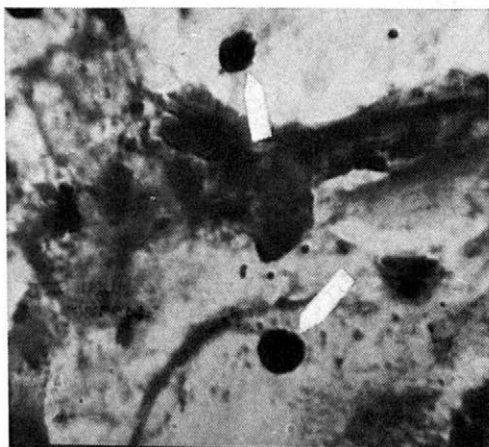
Na prípravu sekundárnych kuracích embryonálnych buniek sa použili 10–12-dňové kuracie embryá; na prípravu kuracích obličkových buniek 1 až 2-dňové kurčatá; na sekundárne kačacie embryonálne bunky 12–14-dňové kačacie embryá. Ako rastové médium pre embryonálne bunky sa použilo Earlovo médium (ÚSOL Praha) s 10 % tryptozofosfátovým bujónom (Difco) a 10 % telacím sérom. Na kuracie obličkové bunky sa používalo médium MEM-Eagle (ÚSOL Praha) v podobnom zložení ako predošlé médium. Udržiavacie médium bolo zhodné s rastovým, lenže bol vynechaný tryptozofosfátový bujón a obsah telacieho séra bol redukovaný na 1 %. Rastové ako aj udržiavacie médium obsahovalo ešte antibiotika (PNC a STM) a antimykotikum (Fungizone-Amphotericin B). Bunkové kultúry sa kultivovali pri 37,5 °C za prítomnosti 5 % CO<sub>2</sub>. Okrem bunkových kultúr bola pripravená aj bunková suspenzia metódou trypsinizácie z obličiek 60–70-dňových kurčiat infikovaných s izolátom D-2 vírusu MCh.

Uvedené kurčatá boli patologicko-anatomicky a patologicko-histologicky pozitívne na MCh. Koncentrácia bunkovej suspenzie bola upravená na  $11–16 \times 10^6$  per ml. Kultivácia buniek sa robila vo forme sklíčkovej kultúry pre farbenie akridinovou oranžou a May-Grünwald-Giemsom.

Infikované a kontrolné bunkové kultúry sa v určitých časových intervaloch fixovali Carnoyovým roztokom a farbili May-Grünwald-Giemsom a akridinovou oranžou na dôkaz DNK a RNK podľa Bodona (1967) a Korbeckého (1967). Veľkosť bunkových útvarov sa merala bežnou metódou za použitia okulárového a objektívového mikrometra.

## VÝSLEDKY

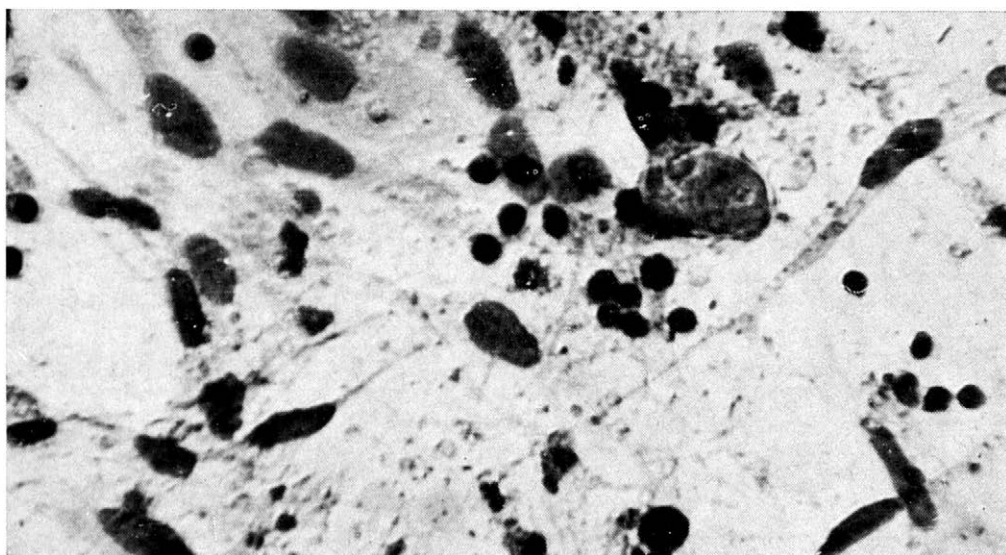
Pri kultivácii izolátu D-2 vírusu MCh na primárnych kuracích obličkových bunkách boli prvé zmeny pozorovateľné na 4.–5. deň po inokulácii vo forme okrúhlych refraktílnych buniek a výskytu dvoj- alebo viacjadrových buniek. Súčasne u niektorých buniek dochádzalo aj k výraznému zväčšovaniu jadier (oproti kontrole o 3–4  $\times$  2–3 mikrónov). Od 8. dňa po inokulácii začali sa objavovať bazofilne sa farbiace bunkové útvary dosahujúce veľkosť okolo 8  $\times$  11 mikrónov (obr. 1). Podobné bunkové útvary boli viditeľné aj v náteroch z bunkovej suspenzie obličiek z kurčiat pozitívnych na MCh. Ich veľkosť bola však o niečo menšia (okolo 7–9 mikrónov). Intenzívne žltozelené fluoreskujúce okrúhle bunkové útvary prítomné v bunkových kultúrach farbených s akridino-



1. Bunková degenerácia primárnej kuracej obličkovej kultúry na 8. deň po inokulácii s izolátom D-2. Okrem väčších bazofilných bunkových útvarov je vidieť aj malé bazofilne sa farbiace granulá (farbené May-Grünwald-Giemsom)

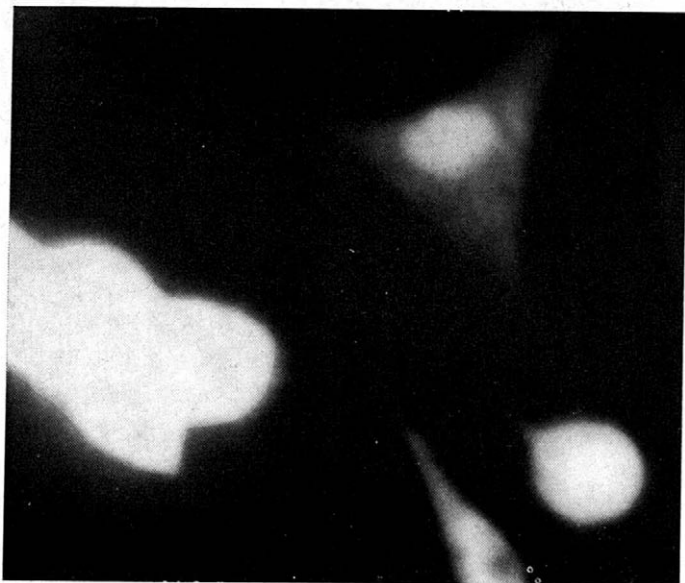


2. Výskyt veľkých pretiahlych jadier u sekundárnej kuracej obličkovej kultúry na 4.—6. deň po inokulácii s izolátom D-3 (farbené akridinovou oranžou)

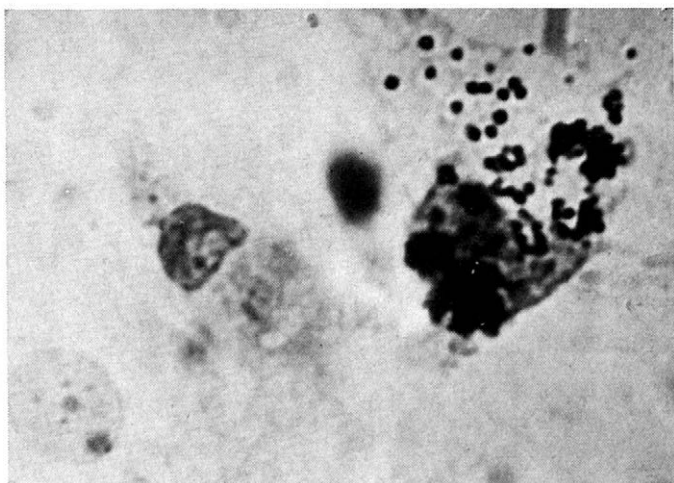


3. Výskyt obrovských jadier a bazofilne sa farbiacích bunkových útvarov u sekundárnej kuracej embryonálnej kultúry na 8. deň po inokulácii s izolátom D-2 (farbené May-Grünwald-Giemsom)





4. Výskyt zhluku zaguľatých intenzívne žltotozeleno fluoreskujúcich bunkových útvarov ako aj samostatnej zaguľatenej bunky rovnako intenzívne fluoreskujúcej u sekundárnej kuracej embryonálnej bunkovej kultúry na 6.—8. deň po inokulácii s izolátom D-2 (farbené May-Grünwald-Giemsom)



5. Uvoľňovanie drobných bazofilne sa farbiacich granúl z obrovskej bunky sekundárnej kuracej embryonálnej bunkovej kultúry na 8. deň po inokulácii s izolátom D-2 (farbené May-Grünwald-Giemsom)



vou oranžou poukazovali na obsah DNK. Takáto fluorescencia sa zistila ako v infikovanej bunkovej kultúre kuracích obličkových buniek, tak aj u náterov z bunkovej suspenzie z kurčiat pozitívnych na MCh. Okrem tohto typu fluorescencie sa zistila aj slabo žltozelená fluorescencia, ktorá taktiež bola viazaná na okrúhle bunkové útvary. Okolo 11 dňa po inokulácii v niektorých obrovských bunkách boli detekovateľné bazofilne inklúzne telieska Cowdryho A typu.

V sekundárnych kuracích embryonálnych bunkách prvé zmeny sa začali objavovať od 3. dňa po inokulácii vo forme výskytu okrúhlych buniek. Od 4. dňa po inokulácii bol pozorovaný výskyt pretiahlych veľkých jadier. Tieto jadrá po ofarbení s akridinovou oranžou žltó fluoreskovali (obr. 2). Okrem toho bol pozorovaný aj výskyt strapcov okrúhlych bunkových útvarov. Uvedené útvary sa farbili bazofilne a po ofarbení s akridinovou oranžou vykazovali intenzívnu žltozelenú fluorescenciu.

V niektorých prípadoch sa pozoroval aj výskyt drobných bazofilných granúl, ktoré po ofarbení s akridinovou oranžou intenzívne žltozeleno fluoreskovali. Granuly sa nachádzali v extracelulárnom priestore a boli buď cirkulárne alebo nepravidelne usporiadané. Granuly niekedy boli pozorované vo väčšom počte v obrovských bunkách, z ktorých sa potom uvoľňovali akoby po prasknutí cytoplazmatickej membrány do extracelulárneho priestoru (obr. 5). Na 6. deň po inokulácii v niektorých bunkách bola pozorovaná vakuolizácia cytoplazmy, výskyt obrovských buniek a bunkových útvarov, ktoré po ofarbení s akridinovou oranžou žltozeleno fluoreskovali. Na 8. deň po inokulácii uvedené zmeny sa naďalej udržiavali a ich intenzita sa stupňovala. Bol pozorovaný ojedinelý výskyt intenzívne žltozeleno fluoreskujúcich strapcov okrúhlych bunkových útvarov, ako aj prítomnosť okrúhlych jadier s intenzívne sa farbiacimi jadierkami (obr. 4). Okrem toho boli viditeľné aj drobné bazofilne sa farbiace granulá (obr. 3). Inklúzne telieska neboli pozorované.

V sekundárnych kačacích embryonálnych bunkách sa prvé málo výrazné zmeny začali objavovať už na druhý deň po inokulácii vo forme drobných bazofilných granúl a zaguľatenie buniek. Na 7.—8. deň po inokulácii bol pozorovaný výskyt pyknotických pretiahlych jadier s granulovaným pozadím. Jadrová membrána bola nepravidelne zhrubnutá. Tieto zmeny sa stupňovali až do 15. dňa po inokulácii, kedy už nastupoval konečný stupeň bunkovej degenerácie.

## DISKUSIA

Výsledky získané štúdiom kultivačných vlastností izolátu D-2 vírusu MCh sú v zhode s doteraz publikovanými prácami rôznych autorov (Anderson a Sevoian 1969, Eidson a kol. 1969, Witter a kol. 1969, Spencer 1969, Sharma a kol. 1969, Katz a Kohn 1970, Mikami a Bankowski 1970, Izawa a kol. 1971, Prasad 1972, Drén 1972, Ayaz a kol. 1972 a i.).

Charakteristickým prejavom pomnoženia vírusu MCh je tvorba refraktílnych okrúhlych buniek, ich fúzia (syncytia) a tvorba bunkových fokusov. Nakoniec dochádza k uvoľneniu buniek z podložky a k tvorbe plakov. Okrem toho sú pozorované aj inklúzne telieska Cowdryho A typu (Izawa a kol. 1971). Uvedené zmeny sú zhruba v zhode pre všetky nami používané bunkové kultúry infikované s izolátom D-2. Rozdiel bol pozorovaný len v počte buniek vnímaných voči vírusu a v čase nástupu zmien u jednotlivých druhov používaných

buniek. Tento poznatok potvrdil aj Esposito a kol. (1972). Hoci u kuracích embryonálnych buniek je menšia vnímavosť, je známych niekoľko prác referujúcich o tvorbe cytopatických zmien po ich infikovaní s vírusom MCh (Kottaridis a kol. 1968, Esposito a kol. 1972, Drén 1972, Prasad 1972, a i.).

Naše výsledky sú v zhode s poznatkom Dréna (1972), že kuracie embryonálne bunky nie sú najvhodnejšou bunkovou kultúrou na primoizoláciu vírusu MCh. Hoci kuracie embryonálne bunky sú vnímavé, nevytvárajú také typické zmeny ako ostatné bunky aviárneho pôvodu.

Pri farbení buniek May-Grünwald-Giemsom k typickým zmenám patril aj výskyt bazofilne sa farbiacich okrúhlych bunkových útvarov, ktoré sa pozorovali aj v náteroch suspenzie obličkových buniek pochádzajúcich z kurčiat postihnutých MCh. Ich fluorescencia po farbení akridinovou oranžou poukazovala na prítomnosť DNK. Tieto útvary sa svojou veľkosťou (8–11 mikrónov u primárnych kuracích obličkových kultúr a 7–9 mikrónov u obličkových buniek z kurčiat chorých na MCh) sa blížili k veľkosti jadier z kontrolnej kuracej obličkovej bunkovej kultúry (7–10 mikrónov). Podľa toho by sa mohlo jednať o karyocyty, ktoré sa zúčastňujú na vytváraní cirkulárnych, nepravidelných, alebo bazofilných polyokaryocytov v infikovaných bunkových kultúrach, ako to opisuje aj Ayaz a kol. (1972) u kačacích embryonálnych buniek a kuracích obličkových buniek.

Okrem týchto útvarov sme pozorovali aj drobné okrúhle taktiež bazofilne sa farbiace granulá. K výrazným zmenám u infikovaných kuracích embryonálnych buniek a kuracích obličkových buniek patrilo výrazné zväčšovanie sa jadier. U kontrolných kuracích obličkových buniek priemerná veľkosť jadier sa pohybovala okolo  $7 \times 10$  mikrónov a u infikovaných 10–13 mikrónov. Nezriedka boli viditeľné takéto veľké jadrá aj voľne okrem cytoplazmy. Avšak aj v kontrolných bunkách boli ojedinele viditeľné zväčšené jadrá, na rozdiel od infikovaných, kde takéto veľké jadrá nevytvárali zhluky.

Výsledky získané s kačacími embryonálnymi bunkami po ich infikovaní s krvnými bunkami z kurčiat pozitívnych na MCh sú tiež v zhode s doteraz publikovanými prácami (Nazerian a kol. 1968).

Nepravidelný výskyt inklúzných teliesok Cowdryho A typu sa vysvetľuje tým, že v prípade infikovania buniek s krvnými bunkami (primoizolácia) ich výskyt nie je tak častý ako pri kontinuálnom sériovom pasážovaní (Sharma a kol. 1969).

Všetky nami uvedené výsledky, ako aj predchádzajúce štúdiá zahrňujúce imunologické testy (Lešník a kol. 1974a, b) poukazujú na to, že izolát D-2 je herpetický vírus Markovej choroby prenosný na bunkové kultúry aviárneho pôvodu s bielymi krvnými bunkami.

## Literatúra

- ANDERSON K., SEVOIAN M., 1969, Morphological description of cell cultures containing A type-II (Marek's leukosis virus/JM strain). Avian Dis. 13 : 470-485.  
AYAZ M., SHARMA J. M., KENZY S. G., 1972, Comparison of cytopathic effects of a classical isolate of Marek's disease virus in cell cultures of duck embryo fibroblast and chicken kidney. Avian Dis. 16 : 291-307.  
BODON L., 1967, Az akridinoranzs-fluorescencia alkalmazásanak lehetőségei. Magyar Állatorv. Lap. 22 : 466-468.  
DRÉN CS., 1972, Isolation and identification of Marek's disease virus. Magyar Állatorv. Lap. 27 : 307-311.

- EIDSON C. S., RICHEY D. J., SCHMITTLE S. C., 1969, Studies on acute Marek's disease. XI. Propagation of the GA isolate of Marek's disease in tissue culture. Avian Dis. 13 : 636-653.
- ESPOSITO J., LUKERT P. D., EIDSON C. S., 1972, Marek's disease herpesvirus: Growth and detection *in vivo* and *in vitro*. Am. J. vet. Res. 33 : 171-175.
- CHURCHILL A. E., BIGGS P. M., 1967, Agent of Marek's disease in tissue culture. Nature 215 : 528-530.
- IZAWA H., NAGABAYASHI T., MORIGUCHI R., EIKI T., SAITO Y., SOEKAWA M., 1971, Herpes viral isolates related to Marek's disease virus from chicken and turkey kidney cell cultures. Zentbl. VetMed., B. 18 : 719-728.
- KATZ D., KOHN A., 1970, Isolation and identification of Marek's disease herpesvirus by yolk-sac inoculation method. Avian Dis. 14 : 187-198.
- KORBECKI M., 1967, Influence of infection with parainfluenza 3 virus on the staining of KB cells acridine orange. Bull. Acad. Polon. Sci., Sér. Sci. Biol. 15 : 17-19.
- KOTTARIDIS S. D., LUGINBUHL R. E., FREDERICKSON T. N., 1968, Marek's disease. II. Propagation of the Connecticut-A isolate in cell cultures. Avian Dis. 12 : 246-258.
- LEŠNÍK F., PAUER T., PAVLAK M., VRTIAK O. J., 1974a, Izolácia vírusu Markovej choroby na východnom Slovensku. Veterinárství 24, 6 : 261-262.
- LEŠNÍK F., PAVLAK M., VRTIAK O. J., 1974b, Dôkaz imunofluorescentných vírus-špecifických antigénov v tumoroch Markovej choroby. (V tisku.)
- MIKAMI T., BANKOWSKI R. A., 1970, The effect of DMSO and cultural behavior of two herpesviruses associated with Marek's disease. Avian Dis. 14 : 242-253.
- NAZERIAN K., BURMESTER B. R., 1968, Electronmicroscopy of a herpesvirus associated with the agent of Marek's disease in cell culture. Cancer. Res. 28 : 2454-2462.
- NAZERIAN K., SOLOMON J. J., WITTER R. L., BURMESTER B. R., 1968, Studies on the etiology of Marek's disease. II. Finding of a herpesvirus in cell culture. Proc. Soc. exp. Biol. Med. 127 : 177-182.
- PARKER R. C., 1961, Methods of tissue culture. 3rd ed., N. Y., USA.
- PRASAD L. B. M., 1972, Characteristics of the Marek's disease agent in cell cultures. Poultry Sci. 51 : 1332-1338.
- SHARMA J. M., KENZY S. G., RISSBERGER A., 1969, Propagation and behavior in chicken kidney cultures of the agent associated with classical Marek's disease. J. natn. Cancer Inst. 43 : 907-916.
- SOLOMON J. J., WITTER R. L., NAZERIAN K., BURMESTER B. R., 1968, Studies on the etiology of Marek's disease. I. Propagation of the agent in cell culture. Proc. Soc. exp. Biol. Med. 127 : 173-177.
- SPENCER J. L., 1969, Marek's disease herpesvirus: *In vivo* and *in vitro* infection of kidney cells of different genetic strains of chickens. Avian Dis. 13 : 753-761.
- WITTER R. L., SOLOMON J. J., BURGOYNE G. H., 1969, Cell culture techniques for primary isolation of Marek's disease-associated herpesvirus. Avian Dis. 13 : 101-118.

Došlo dne 20. 8. 1973

ЛЕШНИК Ф., ПАВЛЯК М., ВРТИАК О. И. (Ветеринарный институт, Кошице, Чехословакия). Патолого-морфологические свойства изолята Д-2 болезни Марка на некоторых клеточных культурах птичьего происхождения. Vet. Med. (Praha) 19 (11) : 661-666, 1974.

Изучали культивационные свойства изолята Д-2 вируса болезни Марка при использовании первичных куриных почечных клеток, вторичных утиных эмбриональных клеток и вторичных куриных эмбриональных клеток. Цитопатические изменения отвечают опубликованным ранее работам того же характера. Помимо характерных цитопатических изменений установлены и заметные увеличения ядер зараженных клеток, которые у первичных куриных почечных клеток в 3—4 раза 2—3 микрона больше контроля. Кроме того, наблюдается появление базофильно окрашенных структур, которые вследствие окраски акридиновой оранжевой интенсивно флуоресцируют желто-зеленым светом, что свидетельствует о наличии дезоксирибонуклеиновой кислоты (ДНК). В первичных куриных почечных клетках эти структуры достигают величины около 8—11 микронов. Подобные клеточные структуры на-

блюдаются и в мазках из клеточной суспензии цыплячих почек, положительных в патолого-морфологическом отношении к болезни Марека. В заключение работы обсуждаются происхождение этих клеточных образований, а также эффективность примененных клеточных культур.

болезнь Марека; изолят D-2; первичные куриные почечные клетки; вторичные утиные эмбриональные клетки; вторичные куриные эмбриональные клетки; флюоресценция; акридиновая оранжевая

LEŠNÍK F., PAVLAK M., VRTIAK O. J. (University School of Veterinary Medicine, Košice, Czechoslovakia). *Pathological-Morphological Characteristics of the D-2 Isolate of Marek's Disease on Some Cell Cultures of Avian Origin*. Vet. Med.(Praha) 19 (11) : 661-666, 1974.

The authors studied the cultivation characteristics of D-2 isolate of Marek's Disease virus by means of primary chicken kidney cells, secondary duckling embryonal cells, and secondary chicken embryonal cells. Cytopathic changes are in keeping with the existing papers on this subject. Besides characteristic cytopathic changes, the authors observed also conspicuous enlargement of the nuclei of infected cells to a size greater by 3-4X 2-3 microns in comparison with the control. Furthermore, they observed the occurrence of formations assuming a basophilic colour which showed intensive yellow-green fluorescence after dyeing with acridine orange; this testified to the presence of desoxyribonucleic acid. In the primary chicken intestinal cells these formations reached the size of about 8 x 11 microns. Similar cell formations were observed also in the kidney cell suspension smears from chickens showing a pathologically-morphologically positive response to Marek's Disease. In the conclusion, the authors discuss the origin of these cell formations and the effectiveness of the cell cultures used in the study.

Marek's disease; D-2 isolate; primary chicken kidney cells; secondary duckling embryonal cells; secondary chicken embryonal cells; fluorescence; acridine orange; May-Grünwald-Giemsa

LEŠNÍK F., PAVLAK M., VRTIAK O. J. (Veterinärmedizinische Hochschule, Košice, Tschechoslowakei). *Pathologisch-morphologische Eigenschaften des D-2-Isolats der Marek'schen Hühnerlähme auf einigen Zellkulturen aviärer Herkunft*. Vet. Med. (Praha) 19 (11) : 661-666, 1974.

Es wurden die Kultivationaleigenschaften des D-2-Virusisolats der Marek'schen Hühnerlähme bei Benutzung primärer Kückennierenzellen, sekundärer Entenkücken-Embryozellen und sekundärer Kückenembryozellen untersucht. Die zytopathologischen Veränderungen stehen im Einklang mit den bisher publizierten Arbeiten dieses Charakters. Außer den charakteristischen zytopathischen Veränderungen wurde auch eine auffällige Vergrößerung der Kerne infizierter Zellen festgestellt, die bei den primären Kückennierenzellen um 3-4X 2-3 Mikrometer im Vergleich zur Kontrolle größer waren. Ferner wurde ein Vorkommen basophil sich färbender Gebilde beobachtet, die nach Färbung mit Akridinorange intensiv gelbgrün fluoreszierten, was von der Gegenwart der Desoxyribonukleinsäure (DNS) zeugt. In den primären Kückennierenzellen erreichten diese Gebilde die Größe von zirka 8 x 11 Mikrometer. Ähnliche Zellgebilde wurden auch in den Aufstrichen aus der Nierenzellsuspension von in Hinsicht auf die Marek'sche Hühnerlähme pathologisch-morphologisch positiven Kücken festgestellt. Zum Schluß der Arbeit wird die Herkunft dieser Zellgebilde als auch die Effektivität der benutzten Zellkulturen erörtert.

Marek'sche Hühnerlähme; D-2-Isolat; primäre Kückennierenzellen; sekundäre Entenkücken-Embryozellen; sekundäre Kücken-Embryozellen; Fluoreszenz; Akridinorange; May-Grünwald-Giemsa

---

Adresa autorů:

MVDr. F. Lešník, CSc., MVDr. M. Pavlak, prof. MVDr. O. J. Vrtiak, DrSc., Vysoká škola veterinárská, Komenského 71, 041 81 Košice

---

# UTILIZACE GLUKÓZY A ZMĚNY V KONCENTRACI TĚKAVÝCH MASTNÝCH KYSELIN U KŮZLAT BĚHEM PRVNÍCH PĚTI MĚSÍCŮ ŽIVOTA

J. Hofman, S. Bartoš, L. Emanuel

*Ústav fyziologie a genetiky hospodářských zvířat ČSAV, Uhřetěves*

HOFMAN J., BARTOŠ S., EMANUEL L. *Utilizace glukózy a změny v koncentraci těkavých mastných kyselin u kůzlat během prvních pěti měsíců života.* Vet. Med. (Praha) 19 (11): 667-675, 1974.

Utilizace glukózy a koncentrace těkavých mastných kyselin (TMK) v krevní plazmě byla sledována u čtyř kůzlat plemene česká bílá koza od 5. do 150. dne stáří. Rychlost utilizace glukózy byla stanovena pomocí krevního clearance glukózy po jednorázové intravenózní aplikaci 40% roztoku glukózy v množství 1 g glukózy na 3 kg živé váhy. Hodnota krevního clearance glukózy významně poklesla z 33,2 ml za minutu na  $\text{kg}^{0,75}$  ve stáří kůzlat 5 dní na 7,8 ml za minutu  $\text{kg}^{0,75}$  ve stáří 90 dní ( $P < 0,01$ ). Od 90. dne do 150. dne hodnota krevního clearance glukózy se téměř neměnila a odpovídala hodnotám, které byly zjištěny u dospělých koz. Hladina glukózy významně poklesla v průběhu prvních tří měsíců života z hodnoty 101,5  $\text{mg}\%$  zjištěné v 5. dni na 44,0  $\text{mg}\%$  v 90. dni věku ( $P < 0,01$ ). Od 90. dne glykémie odpovídala hodnotám, které byly zaznamenány u dospělých koz. Pokles krevního clearance glukózy koreloval s poklesem glykémie během prvních tří měsíců života. V průběhu ontogeneze dochází k významnému poklesu trendu distribučního objemu glukózy, a to z hodnoty 33,6% tělesné váhy u pětidenních na hodnotu 19,7% u 90 dní starých kůzlat. Koncentrace TMK v plazmě se během prvního měsíce života téměř nezměnila. Mezi 30. a 90. dnem věku došlo k významnému vzestupu koncentrace TMK v plazmě z 963,8  $\mu\text{ekv l}^{-1}$  na 1355  $\mu\text{ekv l}^{-1}$  ( $P < 0,05$ ) a hladina TMK dosáhla hodnot dospělých koz. Od 90. do 150. dne stáří koncentrace TMK v plazmě nevýznamně stoupala. Pokles glykémie a utilizace glukózy je významný již během prvního a druhého měsíce života, kdežto vzestup koncentrace TMK v plazmě je signifikantní teprve až v 90. dni stáří. Domníváme se proto, že pokles glykémie a utilizace glukózy je ontogenetický jev, který nemůžeme výhradně spojit s vývojem bachoru a rozvojem bachorové fermentace.

prežvýkavci; krevní clearance glukózy; distribuční objem glukózy; glykémie; mláďata

U monogastrických zvířat a mláďat prežvýkavců hlavní část glukózového vstupu je představována glukózou, která je resorbována v zažívacím traktu. Dospělí prežvýkavci mají na rozdíl od nepřezvýkavců ze zažívacího traktu velmi nízký přívod glukózy, který musí kompenzovat jednak vysokou glukoneogenezou, jednak náhradou glukózy v některých metabolických cestách jinými látkami. Glukózový vstup je proto u nich reprezentován glukoneogenezou z kyseliny propionové a bílkovin. Glukóza vytvořená z glukogenních precursorů v játrech je pro prežvýkavce velmi cennou látkou. V průběhu ontogeneze dochází



proto k aktivaci celé řady regulačních mechanismů, které umožňují maximální úspornost ve využívání glukózy. Jako příklad můžeme uvést pokles aktivity glykolytické cesty, sníženou syntézu glykogenu a mastných kyselin z glukózy a „sparing effect“ acetyl KoA na oxidaci glukózy.

Řada autorů se zabývala studiem poklesu glykémie u přežvýkavců během postnatálního období (McCandless a Dye 1950; Hibbs a kol. 1952; Reid 1953; McCarthy a Kessler 1956; Attbery a Colvin 1963; Head a Ventura 1967). Přes velký počet prací věnovaných glycidovému metabolismu přežvýkavců není celá problematika, zvláště problematika intermediárního metabolismu, ještě zcela objasněna. Dosud nejsou jednotné názory na to, zda věk, dieta, vývoj bachorové fermentace anebo jiné fyziologické události, jež se současně vyskytují během růstu a vývoje přežvýkavců, jsou odpovědné za pokles glykémie a glukózové tolerance v postnatálním období. Ve své práci jsme se pokusili přispět k této problematice sledováním vývoje utilizace glukózy a hladiny těkavých mastných kyselin v plazmě u kůzlat od 5 do 150 dnů stáří.

## METODA

K pokusům jsme použili čtyři kůzlata plemene česká bílá koza obojího pohlaví ve stáří od 5. do 150. dne. Kůzlata do stáří 85 dnů byla umístěna společně se svými matkami v kotcích a měla volný přístup ke šrotu a objemné píci. V 85. dni věku byla kůzlata odstavena a byla krmena pouze senem a ječným šrotem. Příjem šrotu a objemné píce byl pozorován u kůzlat od 12. dne stáří.

Jednu hodinu před pokusem byla zavedena polyetylénová kanyla do *v. jugularis* (Doležel a kol. 1970). Glukózové toleranční křivky byly sledovány po intravenózní aplikaci glukózy v množství 1 g na 3 kg živé váhy ve formě 40 % roztoku. Vzorky krve byly odebírány bezprostředně před aplikací glukózy (nulový vzorek), pak dvě minuty po aplikaci a dále v pravidelných intervalech po šesti minutách až do 38. minuty do lahviček, které obsahovaly heparin v substanci. Poprvé jsme krev kůzlatům odebírali čtyři hodiny po krmení.

Glukózu v krvi jsme stanovovali modifikovanou metodou podle Somogyi-Nelsona (Frank a Kirberger 1950). Glykemické křivky byly matematicky zpracovány podle Brodана a kol. (1968). Byly vypočítány následující hodnoty:

- poločas mizení glukózy ( $t_{1/2}$ ) grafickou metodou na semilogaritmickém papíru;
- rychlostní konstanta  $k$  z poločasu použitím vzorce  $k = 0,6931 (t_{1/2})$ ;
- krvní clearance glukózy ( $C_G$ ) z rovnice

$$C_G = \frac{I}{S}$$

kde:  $S$  — plocha vymezená glykemickou křivkou od času až do asymptotického přiblížení bazální hodnotě glykémie

$I$  — aplikované množství glukózy

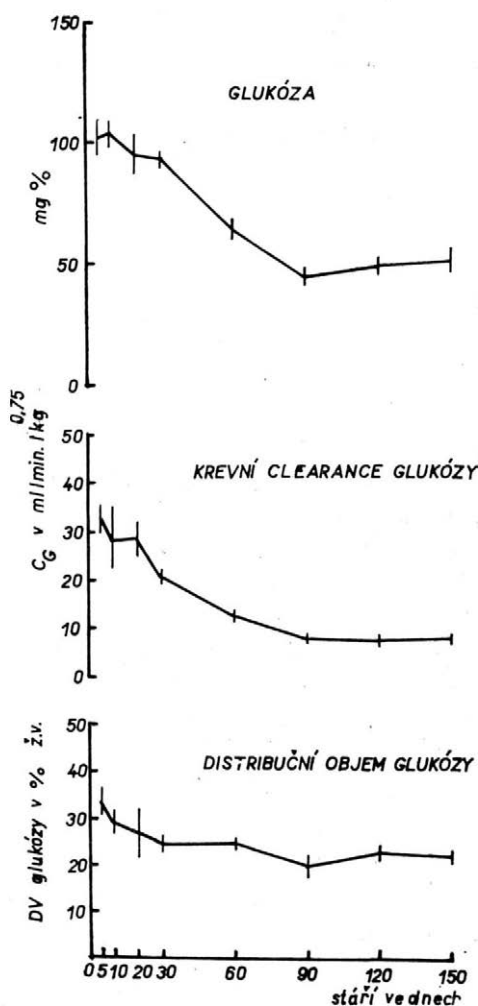
- distribuční objem glukózy ( $DV$ ) podle vzorce  $DV = (I) (koncentrace glukózy v čase 0 - bazální hodnota glykémie)$ .

V plazmě nulového vzorku byly stanoveny těkavé mastné kyseliny destilací s vodní parou (Friedemann a Brook 1938).



## VÝSLEDKY

U kůzlat během 150 dnů po narození jsme zjistili významný pokles glykémie. Kůzlata stará pět dní měla glykémii 101,5 mg %, kdežto ve 150. dnu byla glykémie 51,5 mg %, což je hodnota téměř poloviční ve srovnání s hodnotou u kůzlat v časném postnatálním období. Pokles glykémie byl zaznamenán již v průběhu prvního měsíce života. K největšímu poklesu glykémie došlo mezi 30. a 90. dnem stáří, a to z hodnoty 93,0 mg % na hodnotu 44,0 mg %. Nejnižší hodnota byla zjištěna v 90. dnu. Tato nízká koncentrace glukózy v krvi do jisté míry souvisí s odstavem kůzlat v 85. dnu. Od 90. do 150. dne stáří došlo k mírnému vzestupu glykémie z 44,5 mg % na 51,5 mg % (tab. I a obr. 1).



1. Vývoj glykémie, utilizace glukózy vyjádřená jako krevní clearance glukózy ( $C_G$ ) a distribuční objem glukózy (DV) vyjádřený v % živé váhy u kůzlat během prvních pěti měsíců života (výsledky jsou průměry hodnot naměřených u čtyř kůzlat  $\pm$  s)

I. Průměrné hodnoty glykémie ( $\text{mg}\%$ ), poločasu mizení glukózy ( $t_{1/2}$ ), rychlostní konstanty ( $k$ ), krevního clearance glukózy ( $C_G$ ) a distribučního objemu glukózy ( $DV$ ) u kůzlat během prvních pěti měsíců života (výsledky jsou průměry hodnot naměřených u čtyř kůzlat  $\pm s$ )

| Stáří<br>ve dnech | Bazální hodnota<br>glykémie<br>$\text{mg}\%$ | $t_{1/2}$<br>min | $k$<br>$\text{min}^{-1}$ | $C_G$<br>$\text{ml/min/kg}^{0,75}$ | $DV$<br>% živé váhy |
|-------------------|----------------------------------------------|------------------|--------------------------|------------------------------------|---------------------|
| 5                 | 101,5 $\pm$ 6,5                              | 9,5 $\pm$ 1,1    | 0,073729                 | 33,2 $\pm$ 2,4                     | 33,6 $\pm$ 1,9      |
| 10                | 103,5 $\pm$ 4,4                              | 9,8 $\pm$ 0,9    | 0,071585                 | 28,0 $\pm$ 6,8                     | 28,8 $\pm$ 2,0      |
| 20                | 95,0 $\pm$ 8,0                               | 9,9 $\pm$ 0,6    | 0,070410                 | 28,4 $\pm$ 2,9                     | 26,4 $\pm$ 4,6      |
| 30                | 93,0 $\pm$ 2,9                               | 12,9 $\pm$ 0,3   | 0,053848                 | 20,8 $\pm$ 0,8                     | 24,2 $\pm$ 1,2      |
| 60                | 64,0 $\pm$ 3,4                               | 25,3 $\pm$ 1,7   | 0,027547                 | 12,5 $\pm$ 0,7                     | 24,4 $\pm$ 0,3      |
| 90                | 44,0 $\pm$ 2,6                               | 34,8 $\pm$ 1,0   | 0,019887                 | 7,8 $\pm$ 0,3                      | 19,7 $\pm$ 1,7      |
| 120               | 49,0 $\pm$ 2,6                               | 44,0 $\pm$ 3,2   | 0,015818                 | 7,6 $\pm$ 0,3                      | 22,5 $\pm$ 1,4      |
| 150               | 51,5 $\pm$ 5,3                               | 41,3 $\pm$ 1,5   | 0,016768                 | 8,1 $\pm$ 0,3                      | 21,5 $\pm$ 0,3      |

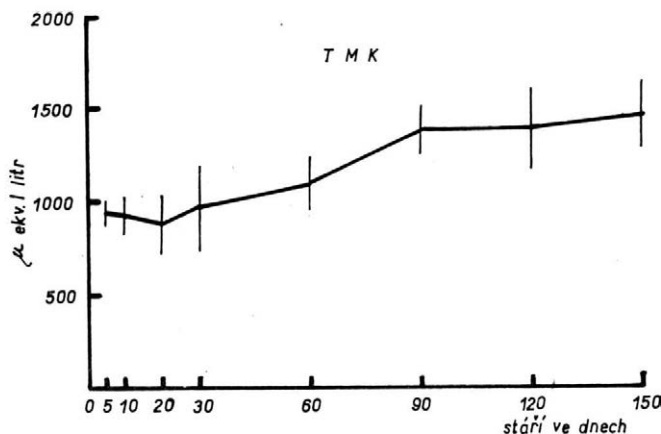
Krevní clearance glukózy a glykémii jsme sledovali v celkové krvi a nikoliv jen v plazmě, protože u mláďat přežvýkavců je glukóza obsažena nejen v plazmě, ale i v erytrocytech (Reid 1953; Mrskoš a Holub 1964). Vliv měnící se váhy zvířete na hodnotu krevního clearance glukózy se stoupajícím věkem zvažovat jsme eliminovali tím, že jsme použili přepočtení na  $\text{kg}^{0,75}$  (Kleiber 1961). Změny v rychlosti mizení glukózy z krve můžeme interpretovat jako změny v rychlosti utilizace glukózy v tkáních. Krevní clearance glukózy vyjadřuje, kolik ml krve se vyčistí od glukózy za minutu, tzn. že udává rychlost utilizace glukózy. Je to tedy veličina úměrná hodnotě obratu glukózy. Zároveň s poklesem glykémie docházelo i k poklesu velikosti krevního clearance glukózy (tab. I a obr. 1). Mezi 5. a 30. dnem stáří došlo k největšímu poklesu krevního clearance glukózy z hodnoty 33,2 na 20,8 ml za minutu na  $\text{kg}^{0,75}$  ( $P < 0,01$ ). Rovněž mezi 30. a 60. dnem věku velikost krevního clearance signifikantně klesá z hodnoty 20,8 na 12,5 ml za minutu na  $\text{kg}^{0,75}$  ( $P < 0,01$ ). Od 60. do 120. dne jsme zaznamenali nevýznamný pokles krevního clearance glukózy na hodnotu 7,6 ml za minutu na  $\text{kg}^{0,75}$ .

Z glykemických křivek, vypočtených podle metody Brodana a kol. (1968), jsme spočítali distribuční objem glukózy, který jsme vyjádřili v procentech živé váhy organismu. V průběhu ontogeneze se jeví významný pokles trendu distribučního objemu glukózy, a to z hodnoty 33,6 % tělesné váhy v pěti dnech na hodnotu 21,5 % ve 150. dnu. K největšímu poklesu distribučního objemu glukózy došlo mezi 5. a 30. dnem stáří, a to z hodnoty 33,6 % na 24,2 %. Od 30. do 60. dne věku dochází ke stabilizaci trendu distribučního objemu. Mezi 60. a 90. dnem věku jeví tento trend vzestupnou tendenci. Potom od 90. do 150. dne trend distribučního objemu glukózy mírně kolísá.

Koncentrace těkavých mastných kyselin (TMK) v plazmě během prvního měsíce života se téměř nezměnila (obr. 2). Teprve mezi 30. a 90. dnem stáří došlo k významnému vzestupu koncentrace TMK z hodnoty 963,8 na 1355,0  $\mu\text{ekv}$  na litr. Koncentrace TMK v 90. dnu odpovídá koncentraci TMK v krvi dospělých koz. Od 90. do 150. dne hladina TMK v plazmě stoupala a dosáhla

maxima 1448,8  $\mu\text{ekv}$  na litr. Tento vzestup nebyl však statisticky významný. Hodnoty TMK v krvi, které byly zjištěny během prvního měsíce života, jsou průkazně nižší ( $P < 0,01$ ) proti hodnotám ve 150. dnu.

2. Koncentrace těkavých mastných kyselin (TMK) v krevní plazmě kůzlat během prvních pěti měsíců života (výsledky jsou průměry hodnot naměřených u čtyř kůzlat  $\pm s$ )



## DISKUSE

Důležitým faktorem, který ovlivňuje hladinu glukózy v krvi přežvýkavců, je věk. V časném postnatálním období je glykémie vyšší než v dospělosti (Anderson a kol. 1930; Hodgson a kol. 1932). McCandless a Dye (1950) a Jarrett a Potter (1952) zjistili, že glykémie u jehňat klesá během prvních pěti až osmi týdnů života na hodnoty, jež mají dospělá zvířata. Bartoš a kol. (1960, 1970) zaznamenali pokles glykémie u telat a kůzlat během postnatálního období.

Pokles koncentrace glukózy v plazmě je spojen s postupným poklesem velikosti glukózového vstupu (Jarrett a kol. 1964; House a Phillips 1968), který můžeme u rostoucích přežvýkavců zčásti přičíst vývinu bachorové fermentace zmenšující absorpci glukózy ze střeva. Glykémie u telat však klesá hlavně během prvního měsíce života, ale obsah těkavých mastných kyselin v plazmě stoupá teprve třetí měsíc stáří (Bartoš a kol. 1960).

Zjistili jsme rovněž významný pokles glykémie v průběhu prvních pěti měsíců života. Současně s poklesem glykémie došlo i k poklesu hodnot krevního clearance glukózy. Významný pokles krevního clearance glukózy ( $P < 0,01$ ) jsme zaznamenali již během prvního měsíce života, kdy hodnota krevního clearance klesla z 33,2 ml za minutu na  $\text{kg}^{0,75}$  u pětidenních kůzlat na 20,8 ml za minutu na  $\text{kg}^{0,75}$  u kůzlat 30 dní starých (tab. I a obr. 1).

Pokles glykémie a utilizace glukózy během prvních čtyř týdnů života je zřejmý ontogenetický jev, který nemůžeme vztahovat pouze k vývoji předžaludků a bachorové fermentace, poněvadž k němu dochází i u zvířat výhradně na mléčné dietě.

Příčinu poklesu glykémie a utilizace glukózy během prvního měsíce života se doposud nepodařilo objasnit. Někteří autoři se domnívají, že pokles glykémie, který je doprovázen sníženou glukózovou tolerancí, je částečně způsoben sníženou schopností pankreatu dospělých přežvýkavců produkovat inzulin (Manns a Boda 1967; Webb a kol. 1969).

Pokusy, které dělali Purser a Bergen (1969) na mladých gnotobiotických kůzlatach, potvrzují skutečnost, že změny v glykémii a glukózové toleranci, ke kterým dochází v postnatálním období, nejsou závislé na vývoji bacheru a produkci těkavých mastných kyselin. Soares a kol. (1970) sledoval hladinu glykémie u gnotobiotů jehňat. Hladina glykémie byla vyšší u gnotobiotů proti konvenčně chovaným jehňatům, avšak ve stáří osmi týdnů byly rozdíly v glykémii celkem nepatrné. Rovněž pokusy Lupiena a kol. (1962) na telatech, kterým byly chirurgicky odňaty předžaludky a jedna třetina slezu, ukázaly, že pokles hladiny krevní glukózy není závislý na rozvoji bacherové fermentace.

Tento závěr je potvrzován také našimi výsledky, že v průběhu prvního měsíce po narození zůstává hladina TMK v plazmě relativně konstantní a k průkaznému vzestupu dochází až ve třetím měsíci stáří (obr. 2). Podobně i utilizace glukózy zůstává do 20 dnů stáří vysoká a průkazný pokles krevního clearance glukózy lze prokázat až po 20. dnu stáří (tab. I a obr. 1). Proto se domníváme, že pokles glykémie v této době souvisí především s poklesem obsahu glukózy v erytrocytech.

Ve své práci jsme zjišťovali velikost distribučního objemu glukózy po jednorázové intravenózní aplikaci roztoku glukózy. Zjistili jsme významný pokles distribučního objemu z průměrné hodnoty 33,6 % živé váhy u pětidenních kůzlat na průměrnou hodnotu 21,5 % živé váhy ve věku 150 dní. Domníváme se, že relativně větší distribuční objem glukózy u mladých zvířat ukazuje na možnost expanze tohoto objemu do intracelulárního prostoru anebo na relativně vyšší objem extracelulárních tekutin. Davis a Brown (1962) zjistili, že telata 14 dní stará mají glukózový prostor o 11 % větší než býčci od pátého do sedmého měsíce stáří. Podle našich výsledků kůzlata ve věku pěti dní měla distribuční objem (prostor) glukózy o 12,1 % větší než kůzlata ve věku pěti měsíců. Skutečnost, že relativně nejprudší pokles distribučního prostoru jsme ve svých pokusech zjistili v prvních třiceti dnech po narození, by mohla souviset také s poklesem erytrocytární glukózy (Jarrett a kol. 1964).

Je zajímavé, že mezi 20. a 30. dnem po narození se vzájemný vztah glykémie a krevního clearance glukózy mění. Pokles glykémie se podstatně zmírňuje a naopak krevní clearance glukózy začíná opět prudce klesat (obr. 1). Zdá se, že tato situace je vyvolána poklesem utilizace glukózy pro syntézu mastných kyselin v tukové tkáni (Bartoš a Škarda 1970). Protože v této době ještě nedochází ke snížení glukózového vstupu vlivem fermentace glycidů, odráží se snížená utilizace glukózy v periferních tkáních v relativním zvýšení glykémie.

## Literatura

- ANDERSON A. K., GALLEY H. E., PRATT A. D., 1930, Studies on the chemical composition of bovine blood. *J. Dairy Sci.* 13 : 336-349.  
 ATTEBERY J. T., COLVIN H. W., 1963, Effect of diet on fasting blood glucose levels in dairy calves 1 to 13 weeks old. *J. Appl. Phys.* 18 : 1221-1225.  
 BARTOŠ S., HATLEOVÁ A., KAFKA K., 1960, Příspěvek k poznání změn glykémie a obsahu TMK v krvi červenostrakatého skotu během ontogenézy. *Živočišná výroba* 5 : 843-850.  
 BARTOŠ S., ŠKARDA J., DOLEŽEL F., 1970, Vztah utilizace glukózy a mastných kyselin u koz v prvních čtyřech měsících života. *Vet. Med. (Praha)* 15, 6-7 : 427-436.  
 BARTOŠ S., ŠKARDA J., 1970, Effect of insulin on metabolism of adipose tissue in goats during ontogeny. *Biol. Neonat.* 16 : 209-214.

- BRODAN V., KUHN E., RATH R., MAŠEK J., 1968, Influence of acute fasting and refeeding on glucose utilization in healthy women. *Nutritio Dieta* 10: 108-122.
- DAVIS C. L., BROWN R. E., 1962, Availability and metabolism of various substrates in ruminants. IV. Glucose metabolism in the young calf and growing steer. *J. Dairy Sci.* 45: 513-516.
- DOLEŽEL F., ŠKARDA J., BARTOŠ S., 1970, Jednoduchá a rychlá kanylace povrchových žil u zvířat. *Vet. Med. (Praha)* 15, 3: 185-187.
- FRANK H., KIRBERGER E., 1950, Eine kolorimetrische Methode zur Bestimmung der „wahren Glucose“ und Galactose in 0,05 cm<sup>3</sup> Blut. *Biochem. Z.* 320: 359-367.
- FRIEDEMANN T. E., BROOK T., 1938, The identification and determination of volatile alcohols and acids. *J. biol. Chem.* 123: 161-184.
- HEAD H. H., VENTURA M., 1967, Relationship of age and glucose metabolism in dairy calves. *J. Dairy Sci.* 50: 612-613.
- HIBBS J. W., CONRAD H. R., POUNDEN W. D., 1952, Changes in the blood sugar level and volatile fatty acid content of the rumen juice in calves raised on the high roughage system. *J. Anim. Sci.* 11: 764.
- HODGSON R. E., RIDDEL W. H., HUGHES J. S., 1932, Factor influencing the blood sugar level of dairy cattle. *J. agric. Res.* 44: 357-365.
- HOUSE W. A., PHILLIPS R. W., 1968, Changes in glucose metabolism during post-natal development of the lamb. *Fedn. Proc.* 27: 557.
- JARRETT I. G., POTTER B. J., 1952, Carbohydrate metabolism in the young lamb. *Aust. exp. Biol. med. Sci.* 30: 207-212.
- JARRETT I. G., JONES G. B., POTTER B. J., 1964, Changes in glucose utilization during development of the lamb. *Biochem. J.* 90: 189-194.
- KLEIBER M., 1961, The fire of life. An introduction to animal energetics. John Wiley and Sons, Inc., Publishers. New York - London.
- LUPIEN P. J., SAUER F., HATINA G. V., 1962, Effects of removing the rumen, reticulum, omasum, and proximal third of the abomasum on digestion and blood changes in calves. *J. Dairy Sci.* 45: 210-217.
- MANNS J. G., BODA J. M., 1967, Insulin release by acetate, propionate, butyrate, and glucose in lambs and adult sheep. *Am. J. Physiol.* 212: 747-755.
- MC CANDLESS E. L., DYE J. A., 1950, Physiological changes in intermediary metabolism of various species of ruminants incident to functional development of rumen. *Am. J. Physiol.* 162: 434-445.
- MC CARTHY R. D., KESLER E. M., 1956, Relation between age of calf, blood glucose, blood and rumen levels of volatile fatty acids and *in vitro* cellulose digestion. *J. Dairy Sci.* 39: 1280-1287.
- MRSKOŠ A., HOLUB A., 1964, Skutečná glykémie telat v prvních třech měsících života. *Čs. Fyziol.* 13: 253-254.
- PURSER D. B., BERGEN W. G., 1969, Glucose utilization and hepatic enzyme activities in young gnotobiotic ruminants. *J. Dairy Sci.* 52: 790-795.
- REID R. L., 1953, Studies on the carbohydrate metabolism of sheep. VI. Interrelationships between changes in the distribution and levels of glucose and in the levels of volatile fatty acid in the blood of lambs. *Aust. J. Agr. Res.* 4: 213-223.
- SOARES J. H., LEFFEL E. C., LARSEN R. K., 1970, Neonatal lambs in gnotobiotic environment. *J. Anim. Sci.* 31: 733-740.
- WEBB D. W., HEAD H. H., WILCOX C. J., 1969, Effect of age on glucose tolerance and plasma insulin levels in calves. *J. Dairy Sci.* 52: 561.

Došlo dne 15. 2. 1974

ГОФМАН Й., БАРТОШ С., ЭМАНУЕЛ Л. (Институт физиологии и генетики с/х животных, АН ЧССР, Ургиневес, Чехословакия). Утилизация глюкозы и изменения концентрации жидких жирных кислот у козлят в течение первых 5 месяцев жизни. *Vet. Med. (Praha)* 19 (11): 667-675, 1974.

Утилизацию глюкозы и концентрацию жидких жирных кислот (ЖЖК) в кровяной плазме изучали у 4 козлят белой чешской породы с 5-го до 150-го дней возраста. Скорость утилизации глюкозы определяли с помощью кровяного клиренса глюкозы в количестве 1 г/3 кг ж. в., значения которого заметно понизились: с 33,2 мл в мин на кг 0,75 в возрасте козлят 5 дней до 7,8 мл в мин на 0,75 в возрасте 90 дней ( $P < 0,01$ ). В период возраста

от 90 до 150 дней величины кровяного клиренса глюкозы почти не меняются и отвечают значениям, установленным у взрослых коз. Уровень глюкозы в ходе первых 3 месяцев жизни понизился с 101,5 мг/о (установлено на 5-м дне) до 44,0 мг/о на 90-м дне ( $P < 0,01$ ). Начиная с 90-го дня глюкозия отвечала значениям, установленным у взрослых коз. Понижение кровяного клиренса глюкозы коррелировало с понижением глюкозии в ходе первых 3 месяцев жизни. В ходе онтогенеза заметно понижается тренд дистрибутивного объема глюкозы: с 33,6% телесного веса у 5-дневных до 19,7% у 90-дневных козлят. Концентрация ТМК в плазме в течение первого месяца жизни осталась почти без изменений. Между 30-м и 90-м днями возраста концентрация ТМК в плазме резко повышается: с 963,9 уэв  $1^{-1}$  до 1355 уэв  $1^{-1}$  ( $P < 0,05$ ), так что уровень ТМК достиг значений взрослых коз. В возрасте от 90 до 150 дней эта концентрация слабо возрастает. Понижение глюкозии и утилизации глюкозы важно уже на первом—втором месяцах жизни, тогда как концентрация ТМК в плазме значима начиная с 90-го дня. Поэтому мы считаем понижение глюкозии и утилизации глюкозы явлением онтогенетики, которое не следует связывать лишь с развитием рубца и рубцовой ферментации.

жвачные; кровяной клиренс глюкозы; дистрибутивный объем глюкозы; глюкозия; молодняк

HOFMAN J., BARTOŠ S., EMANUEL L. (Institute of Farm Animal Physiology and Genetics, Czechoslovak Academy of Sciences, Uhřetěves, Czechoslovakia). *The Utilization of Glucose and Changes in the Concentration of Volatile Fatty Acids in Kids During the First Five Months of Life*. Vet. Med. (Praha) 19 (11): 667-675, 1974.

Glucose utilization and volatile fatty acid concentration in blood plasma were studied in four kids of the breed Bohemian White Goat from 5th to the 150th day of age. Glucose utilization rate was determined through blood glucose clearance in the amount of 1 g of glucose per 3 kg of live weight. The value of blood glucose clearance showed a significant decrease from 33.2 ml per minute per kg 0.75 at the age of 5 days to 7.8 ml per minute per 0.75 at the age of 90 days ( $P < 0.01$ ). From the 90th day to the 150th day the value of blood glucose clearance remained almost unchanged; it corresponded to values found in adult goats. Glucose level showed a significant decrease during the first three months of life from 101.5 mg/о (the 5th day) to 44.0 mg (the 90th day) of age ( $P < 0.01$ ). Starting the 90th day, glycaemia corresponded to values for adult goats. The decrease of blood glucose clearance was in correlation with a decrease of glycaemia in the first three months of life. A considerable drop of the trend of the distribution volume of glucose from the value of 33.6% of body weight in five-day-old animals to 19.7% in 90-day-old animals occurs in the course of ontogenesis. The concentration of VFA in plasma remained almost unchanged during the first month of life. The VFA concentration in plasma showed a significant increase from 963.8  $\mu\text{eq } 1^{-1}$  to 1,355  $\mu\text{eq } 1^{-1}$  ( $P < 0.05$ ) between the 30th and 90th day of age, and the VFA level reached the values of adult goats. An insignificant increase of VFA concentration in plasma was observed from the 90th to the 150th day. The drop of glycaemia and glucose utilization is significant already in the course of the first and second month of life whereas the increase of VFA concentration in plasma is significant only on the 90th day of age. We believe, for this reason, that the decrease of glycaemia and glucose utilization is an ontogenetic phenomenon which cannot be connected exclusively with the development of rumen and with the development of ruminal fermentation.

ruminants; blood glucose clearance; distribution volume of glucose; glycaemia; young animals

HOFMAN J., BARTOŠ S., EMANUEL L. (Institut für Physiologie und Genetik landwirtschaftlicher Nutztiere, Tschechoslowakische Akademie der Wissenschaft, Uhřetěves Tschechoslowakei). *Glukoseutilisierung und Veränderungen der Konzentration flüchtiger Fettsäuren bei Zicklein in den ersten fünf Lebensmonaten*. Vet. Med. (Praha) 19 (11): 667-675, 1974.

Bei vier Zicklein der Böhmisches weißen Ziegenrasse wurde im Alter von 5 bis 150 Tagen die Glukoseutilisierung und die Konzentration der flüchtigen Fettsäuren (FFS) verfolgt. Die Glukoseutilisierungsschnelligkeit wurde mit Hilfe des Glukoseblutclearance in einer Menge von 1 g Glukose je 3 kg Lebendgewicht bestimmt. Der Glukoseblutclearance-Wert verringerte sich signifikant von 33,2 ml pro Minute je kg 0,75 im Alter von 5 Tagen auf 7,8 ml pro Minute je kg 0,75 im Alter von



90 Tagen ( $P < 0,01$ ). Vom 90. bis zum 150. Alterstag veränderte sich der Glukoseblutclearance-Wert fast nicht und entsprach den bei erwachsenen Ziegen festgestellten Werten. Das Glukoseniveau verringerte sich im Verlaufe der ersten drei Lebensmonate von dem am 5. Tag festgestellten Wert  $101,5 \text{ mg}\%$  auf  $44,0 \text{ mg}\%$  am 90. Lebenstag ( $P < 0,01$ ). Vom 90. Lebenstag an entsprach die Glykämie den bei erwachsenen Ziegen festgestellten Werten. Die Abnahme des Glukoseblutclearance-Wertes korrelierte mit der Glykämieabnahme während der ersten drei Lebensmonate. Im Verlaufe der Ontogenese kommt es zu einer signifikanten Verringerung des Trends des Glukosedistributionsvolumens, und zwar vom Wert  $33,6\%$  des Körpergewichts bei fünftägigen auf  $19,7\%$  bei neunzigtagigen Zicklein. Die FFS-Konzentration im Plasma veränderte sich während des ersten Lebensmonats fast nicht. Zwischen dem 30. und 90. Lebenstag kam es zu einer signifikanten Erhöhung der FFS-Konzentration im Plasma von  $963,8 \mu\text{ekv l}^{-1}$  auf  $1355 \mu\text{ekv l}^{-1}$  ( $P < 0,05$ ) und das FFS-Niveau erreichte die Werte bei erwachsenen Ziegen. Vom 90. bis 150. Lebenstag erhöhte sich die FFS-Konzentration im Plasma unsignifikant. Die Abnahme der Glukoseglykämie und -utilisierung ist bereits während des ersten und des zweiten Lebensmonats signifikant, während die Erhöhung der FFS-Konzentration im Plasma erst am 90. Lebenstag wesentlich zunimmt. Wir nehmen deshalb an, daß die Abnahme der Glukoseglykämie und -utilisierung eine ontogenetische Erscheinung ist, die man ausschließlich mit der Entwicklung des Pansens und der Pansenfermentation nicht verbinden kann.

Wiederkäuer; Glukose-Blutclearance; Glukosedistributionsvolumen; Jungtiere

---

*Adresa autorů:*

Ing. J. Hofman, CSc., Výzkumný ústav krmivářského průmyslu a služeb, 289-11 Pečky

Ing. S. Bartoš, DrSc., ing. L. Emanuel, Ústav fyziologie a genetiky hospodářských zvířat, ČSAV, 521 61 Uhřetěves

---

**Výběr z nových přírůstků  
Ústřední zemědělské a lesnické knihovny ÚVTI  
z úseku veterinární medicína**

Uvedené publikace je možno si zapůjčit osobně nebo písemně v ÚZLK, výpůjční oddělení, 120 56 Praha 2, Slezská 7. Výpůjční doba: pondělí až pátek od 9 do 18 hodin. U každé žádané publikace uveďte signaturu.

D 62.753

**Veterinarija — životnovodstvu.** Riga, Zinatne 1973. 80 s. obr. tab. (Riga — Výzkumný ústav zootechnický a veterinární — sborník / Veterinární výzkumnictví — sborník — SSSR — Lot. SSR)

C 17.627

**Veterynarija.** Respublikanskyj mižvidomčyj tematyčnyj naukovyj zbirnyk. 34. Kyjiv, Urožaj 1973. 102 + 9 s. tab. (Veterinářství — sborník — SSSR — USSR)

POLJAKOV, A.

D 61.890

**Osnovi na veterinarnata sanitarija.** Sofija, Zemizdat 1973. 370 s. tab. (Veterinární zdravotnictví — příručka)

BERG, R.

C 22.577

**Angewandte und topographische Anatomie der Haustiere.** Jena, VEB Gustav Fischer Verlag 1973. 416 s. 200 obr. (Anatomie hospodářských zvířat — příručka)

C 22.627/106

**Voprosy embriologii.** Kišinev, Seľskochoz. institut im. M. V. Frunze 1973. 112 s. obr. tab. Trudy Kišinevskogo seľskochoz. inst. im. M. V. Frunze 106. (Veterinární embryologie — sborník / Kišinev — Výzkumný ústav zemědělský — veterinární embryologie — sborník)

PLÖEN, L.

D 62.922

**Observations on rabbit spermatogenesis.** Electron and light microscope studies with special reference to normal spermateleosis and to the immediate and delayed effects on spermateleosis of short-time experimental cryptorchidism. Stockholm, Depart. of anatomy and histology 1973. 27 s. (Spermatogenese — králík — výzkum — Švédsko)

STANKIEWICZ, W.

D 62.675

**Hematologie weterynaryjna.** Warszawa, PWRiL 1973. 422 s. 78 obr. 63 tab. 4 příl. (Veterinární hematologie — příručka)

# ÚČINOK SYNTETICKÉHO LH-RH A L-DOPA NA HLADINU LH U ANESTRÁLNYCH OVIEC

L. Itze, J. Arendarčík, A. Marossy, I. Maraček, J. Halagan

Vysoká škola veterinárska, Košice

ITZE L., ARENDARČIK J., MAROSSY A., MARAČEK I., HALAGAN J. Účinnok syntetického LH-RH a L-Dopa na hladinu LH u anestrálnych oviec. Vet. Med. (Praha) 19 (11) : 677-686, 1974.

V príspevku študujeme dynamiku hladiny LH u anestrálnych oviec, ktorým sme intravenózne aplikovali spúšťací hormón LH (LH-RH) a L-Dopa. Na určovanie sme použili radioimunologickú metódu (RIA), ktorá bola v našom laboratóriu najprv modifikovaná a otestovaná tak, aby bola vylúčená vzájomná imunochemická reakcia medzi LH, LH-RH a L-Dopa. Prvej skupine štyroch oviec merino sme podali 20  $\mu\text{g}$  10  $\text{ml}^{-1}$  vody LH-RH; druhej skupine zvierat sme aplikovali 89 mg 54  $\text{ml}^{-1}$  vody L-Dopa. U prvej skupiny po podaní LH-RH za 20 minút dochádza k maximálnej koncentrácii LH (14,2  $\text{ng ml}^{-1}$ ), počas ďalšieho sledovania dochádza k poklesu, ktorý ešte 110 minút po podaní je zvýšený nad základnú priemernú hladinu (2,2  $\text{ng ml}^{-1}$ ). Po aplikácii L-Dopa sme dostali bifázickú krivku s prvou eleváciou za 10 minút (9,3  $\text{ng ml}^{-1}$ ) vystriedanou v 20. minúte poklesom (2,6  $\text{ng ml}^{-1}$ ). K druhému vzostupu (14  $\text{ng ml}^{-1}$ ) dochádza za 40 minút od injikovania; potom hladina pomaly klesá. V čase 110 minút je stále nad východzu hladinou. Záverom konštatujeme, že účinky vyvolané po aplikácii syntetického LH-RH a preparátu L-Dopa nedosahujú zvýšenie, ktoré by odpovedalo preovulačnému LH vrcholu u ovce.

LH; ovca; aplikácia LH-RH; L-Dopa

V súčasnosti celý rad experimentálnych prác pojednáva o hypotalamických peptidergických neurónoch, ktoré produkujú spúšťacie a inhibujúce faktory, ktoré môžu ovplyvňovať sekréciu hormónov prednej hypofýzy. Ich situovanie sa predpokladá v hypotalamickej ventromediálnej alebo anteromediálnej oblasti (hypofyziotropická area), no žiaden z bb. sa zatiaľ nepodarilo špeciálne identifikovať (Arendarčík 1972).

Izolácia, purifikácia a identifikácia luteinizačného spúšťacieho hormónu (LH—RH) z ovčieho a prasačieho hypotalamu v laboratóriách Schallyho a kol. (1971) položili základ k možnej chemickej syntéze týchto dvoch peptidov ďalšími nasledovníkmi. Pre ilustráciu žiada sa spomenúť, že k izolovaniu 1 mg LH-RH treba až 3 kg prasačích hypotalamov, no minimálna účinná dávka pre krysu je  $5 \times 10^{-9}$  g.

Schéma aminokyselín ako u ovčieho, tak aj prasačieho LH-RH je rovnaká, oboje vysoko účinné u mnohých druhov; má sa za to, že štruktúra tohto deka-peptidu (pyro / glu-His-Trp-Ser-Tyr-Gly-Leu-Arg-Pro-Gly-NH<sub>2</sub>) bude veľmi podobná pri všetkých cicavcoch. Matsuo a kol. (1971) demonštroval, že syntetický tak i LH-RH izolovaný z prasačieho hypotalamu vykazujú rovnaké

fyziochemické a biologické vlastnosti u testovaných kryš. S dostupnosťou syntetického preparátu vzniká explózia extenzívnych štúdií v biológii, v reprodukci v laboratóriách celého sveta. Od r. 1968 sa začína užívať pre luteinizačný spúšťač faktor Schallym navrhnutá terminológia LH-RH (releasing hormon), i keď okolo tejto nomenklatury sú početné stále diskusie (Bogdanove 1972).

Nadväzujúci problém súvisiaci s mechanizmom účinku LH-RH je identifikácia synaptického prenášača, ktorý indukuje uvoľňovanie RH. Vhodnou hypotézou zdá sa byť, že je to dopamin, ktorého prítomnosť v krajine *mediana eminentia* sa dokázala pomocou fluorescenčnej mikroskopie. Ďalšie podporenie tejto hypotézy bude vyžadovať hlboké elektrofyziologické a neurofarmakologické štúdiá.

Boyd a kol. (1970) demonštrovali zvýšenie hladiny HGH u pacientov s Parkinsonovou chorobou, liečených L-Dopa; na základe ich objavov bol postulovaný catecholamínový mechanizmus pri uvoľňovaní hypofyzárnych hormónov s možnosťou využitia takýchto pozorovaní ako základ pre nový test uvoľňovania trofických hormónov. Zatiaľ identifikovateľné u jedincov *in vivo* sú veľké neurony supraoptických a paraventriculárnych jadier, pri dráždení ich axónov elektrickým nábojom v zadnom laloku hypofýzy so spätnou registráciou impulzov prechádzajúcich do bunkového tela.

Na týchto bb. sa zdajú byť zakončenia synaptické ako excitačné tak inhibičné, ktoré pravdepodobne užívajú acetylcholín a noradrenalín ako nových vzájomných prenášačov.

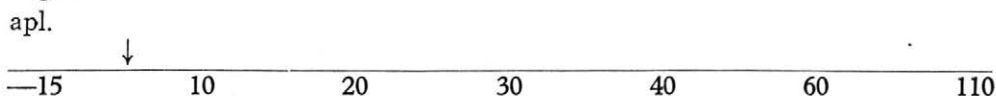
Je pravdepodobné, že mechanizmus kontrolujúci releasing faktory bude zložitejší, vychádzajúc už z tej skutočnosti, že spúšťačích hormónov je niekoľko, zatiaľ čo v neurohypofýze sú hormóny iba dva.

V našom príspevku študujeme dynamiku hladiny LH u anestrálnych oviec, ktorým sme intravenózne aplikovali syntetický LH-RH a L-Dopa.

## MATERIÁL A METÓDY

LH-RH bol synteticky pripravený a láskave dodaný od fy HOECHST, Frankfurt, NSR (pyro-glu-His-Trp-Ser-Tyr-Gly-Leu-Arg-Pro-Gly-NH<sub>2</sub>), L-Dopa (L 3,4 dihydroxyfenylalanin) bol získaný darom od fy Calbiochem AG.

Experimentálne zvieratá použité v pokuse boli ovce merino, približnej váhy 50–55 kg, chované v štandardných podmienkach, krmené lucerkovým senom, vodou a solou *ad lib*. Anestrus bol overený vazektomovaným baranom. Ovce boli rozdelené do dvoch skupín: v prvej skupine (4 ovce) aplikovali sme 89 mg/54 ml H<sub>2</sub>O i. v. L-Dopa a druhej skupine (2 ovce) 20 µg/10 ml H<sub>2</sub>O i. v. LH-RH. Odbery vzoriek à 5 ml krvi sa robili podľa nasledujúceho harmonogramu:



## Príprava antiséra

Antisérum proti ovčiemu LH sme pripravili imunizáciou kráľika antigénom NIH-LH-S 18 modifikovanou metódou podľa Samliho a Geschwind a (1967).

Králika približnej telesnej váhy 2 kg injikujeme ovčím LH podľa nasledujúceho protokolu:

0. a 7. deň rozpustíme 2 mg LH v 0,25 ml fyziologického roztoku a výsledný roztok emulgujeme s 0,25 kompletným Freundovým adjuvansom. Materiál bol injikovaný *i. d.* na 10–15 miestach. Na ďalšom mieste kože chrbta sme injikovali 2 ml surovej vakcíny *Bordetella pertusis* (dens.  $300 \times 10^{-9}$ ) v 0. deň. Na 14. a 28. deň boli zvieratá imunizované podobne s pridaním nekompletného Freundovho adjuvansu (bez *bac. tuberc.*). V 42. deň imunizácie bola odobratá krv z *v. auricularis* lat. a anti-LH titer séra zistený agarovou imunodifúziou podľa Manciniho a kol. 1965. Nasledujúci deň po zistení vhodného titru sme odobrali približne 50 ml krvi, oddelili sérum, pridali merthiolát na konc. 1 : 10 000 a uschovali pri teplote  $-20^{\circ}\text{C}$ .

## Radiojodovanie ovčieho LH

Použili sme purifikovaný ovčí LH (LER 1056 — C 2) k radiojodovaniu podľa modifikovanej metódy Greenwooda a kol. (1963). Zmiešali sme 25  $\mu\text{l}$  0,5 M fosfátového pufru (pH 7,5) s 2,5  $\mu\text{g}$  purifikovaného hormónu rozpusteného v destilovanej vode (1  $\mu\text{g } \mu\text{l}^{-1}$ ). Potom sme pridali sírnatan sodný 1 mCi, jodid sodný  $^{131}\text{J}$  prostý thiosulfátu a jemne miešali. Ďalej sme pridávali 20  $\mu\text{g}$  chloramínu T rozpusteného v 40  $\mu\text{l}$  0,05 M fosfátového pufru a reakciu nechali aktivovať po dobu 1,5–2 min. Potom sme pridali sírnatan sodný 1 mCi, jodid sodný  $^{131}\text{J}$  a jemne miešali. Reakciu sme zastavili pridaním 120  $\mu\text{g}$  pyrosiričitanu sodného rozpusteného v 50  $\mu\text{l}$  0,05 M fosfátového pufru. Ďalej sme pridali prenosný roztok 100  $\mu\text{l}$ , ktorý obsahoval 16 % sacharózy a 1  $\mu\text{g}$  KJ; obsah skúmavky sme navrstvili na gélovú filtráciu na kolonu  $15 \times 1 \text{ cm}$  naplnenú Sephadexom G-50, ekvilibrovanom 0,5 M fosfátovým pufrom. Opäť do skúmavky pridáme 100  $\mu\text{l}$  prenosného roztoku obsahujúceho 8 % sacharózy a 0,5  $\mu\text{g}$  KJ, skúmavky vypláchneme a obsah preniesieme na kolonu. Pred použitím, aby sme zabránili nešpecifickej väzbe bielkovín, sme kolonu prepláchli 50 mg hovädzieho sérového albumínu (BSA) rozpusteného v 1 ml fosfátového pufru. Prebytočný albumín sme vyprali voľným prietokom 15–20 ml fosfátového pufru. Potom sme zbierali 1 ml frakcie kolonového eluátu do skúmaviek naplnených 1 ml 0,5 M fosfátového pufru. Značený LH  $^{131}\text{J}$  vychádzal eluátom medzi 2.–4. skúmavkou, zatiaľ čo  $^{131}\text{J}$  medzi 7.–10. skúmavkou.

## Radioimunologické stanovenie

Detekciu LH v ovčom sére sme vykonali podľa modifikovania metódy Niswendera a kol. (1969).

Do skúmaviek sme napipetovali rozličné množstvo (0,2–0,5 ml) vyšetrovaných sér, resp. štandardného riedenia LH a objem doplnili pridaním PBS (0,01 M fosfátový pufer NaCl) — 1 % BSA na celkový objem 500  $\mu\text{l}$ . Prvé boli pipetované v dvoch, štandarda v troch paralelných riedeniach. Antisérum proti LH a neimunné normálne králičie sérum (NRS) riedili sme 1 : 400 v 0,005 M EDTA — PBS pri pH 7,0 a uschovali v mraziacom pulte pri

-20 °C. Pred pokusom sme zriedili anti-ovčie LH sérum na pracovnú koncentráciu 1 : 64 000, potom sme pridali 200  $\mu$ l riedeného antiséra do každej skúmavky, obsah premiešali a nechali inkubovať 24 hod/4 °C.

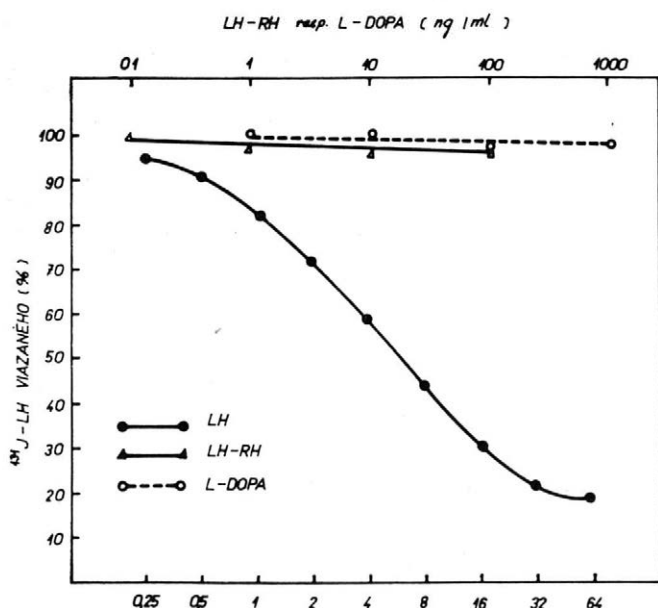
Další deň sme si nariedili LH  $^{131}$ J s roztokom PBS — 0,1 % BSA tak, aby aktivita v čase pridávania do každej skúmavky odpovedala 100  $\mu$ l/50 000 impulzov za minútu (cpm).

Kedže ostáva komplex LH-anti/LH rozpustený v koncentráciách, ktoré sme použili, imunoprecipitáciu urýchlíme kozím antikráličím gama globulínom (GAR). Za 24 hod. po pridaní LH  $^{131}$ J pridali sme 200  $\mu$ l GAR riedený 1 : 10 PBS — 0,1 % BSA ku každej skúmavke. Za ďalších 72 hodín inkubácie, aby sme boli istí, že reakcia je kompletná, pridali sme 3 ml studeného roztoku PBS, aby sa zriedila radioaktivita neviazaného hormónu; protilátky viazaného hormónu oddelíme od voľného hormónu centrifugovaním 1000 g/30 min. Supernatant sme opatrne odsáli a precipitát odčítame.

## VÝSLEDKY

Viditeľné imunoprecipitačné línie sme získali medzi 50.—60. dňom po primárnej imunizácii kráľika s ovčím antigénom NIH-LH-S 18.

Neprítomnosť vzájomnej imunochemickej reakcie medzi LH-RH, L-Dopa a antisérom proti ovčiemu LH znázorňuje obr. 1. Typická štandardná RIA krivka indikuje najoptimálnejšie koncentrácie k odčítaniu, medzi 1—16 ng/ml, pri riedení antiséra 1 : 100 000. Koncentrácia LH-RH a L-Dopa 1—1000 ng/ml v tomto systéme reakciu nedávali. Množstvo LH  $^{131}$ J viazaného protilátkou za neprítomnosti LH neznačeného sme značili hodnotou 100 %.

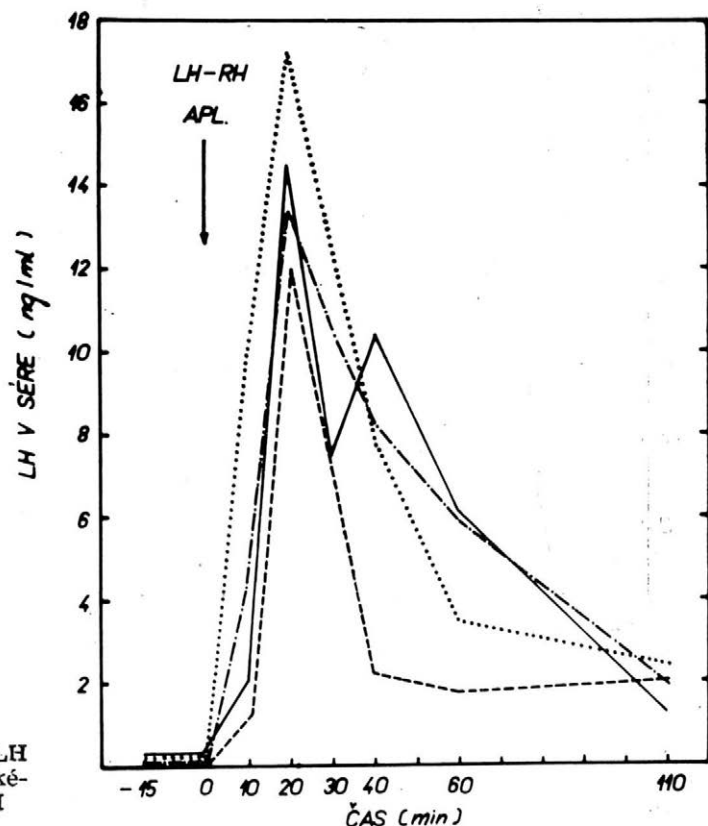


1. Vzájomná imunochemická reakcia medzi antisérom a LH, resp. neprítomnosť interferencie s LH-RH a L-Dopa

Priemerná základná hladina LH u anestrálnych oviec bola nižšia ako 1 ng/ml. Táto bola bratá v čase — 15 min. pred začiatkom aplikácie ako hodnota nulová. Priemerná hladina po aplikácii LH-RH stúpa, aby dosiahla vrchol



14,2 ng/ml 20 min. po podaní preparátu (obr. 2). V ďalšom priebehu nášeho sledovania dochádza u všetkých pokusných zvierat ku graduálnemu poklesu, ktorý ešte v čase 110 min. po aplikácii je v priemere zvýšený (2,2 ng/ml).



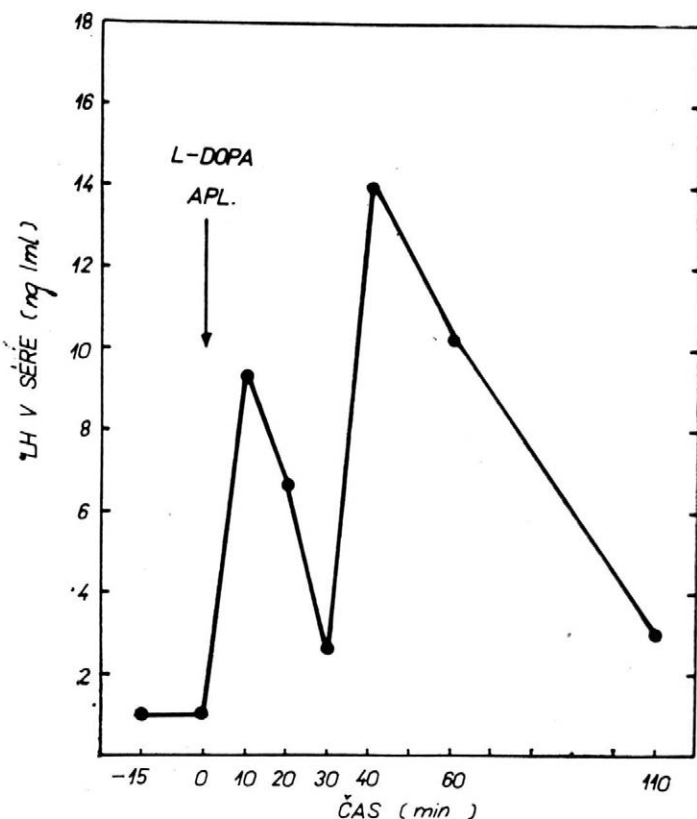
2. Dynamika hladín LH po aplikácii syntetického preparátu LH-RH

Hladinu LH v sére po *i. v.* injikovaní L-Dopa znázorňuje obr. 3. K prvému signifikantnému zvýšeniu dochádza v 10. min. (9,3 ng/ml), ktorý v priebehu ďalších 20 min. je vystriedaný poklesom na 2,6 ng/ml. V 40. min. zaregistrovali sme druhý vzostup (14,0 ng/ml) a pomalý pokles, ktorý na 110. min. bol stále ešte nad základnou hladinou.

Nijaké zo zvierat v čase *i. v.* aplikácie oboch preparátov neprejavovalo vedľajšie klinické príznaky.

## DISKUSIA

Práce, ktoré sledujú dynamiku hladiny LH v priebehu estrálneho cyklu u oviec, demonštrujú, že „ovulačný“ LH vrchol sa pohybuje v rozmedzí 26–460 ng/ml (Itze, Arendarčík 1973). Ďalší výskum smeruje k aplikácii LH-RH surového a čiastočne purifikovaného za účelom indukcie signifikantného uvoľňovania LH (Amoss, Guillemin 1969, Niswender 1969) s možným zásahom do reprodukčného cyklu v estru resp. diestru a vyvolania ovulácie.



3. Hladina LH v sére po aplikácii preparátu L-Dopa

V našom príspevku sledujeme vplyv syntetického LH-RH a L-Dopa u anestrálnych oviec na hladinu LH s podobnými predpokladanými účinkami.

Pri demonštrovaní štandardizácie metodiky evidentne sme zistili, že molekuly ovčieho LH, LH-RH a L-Dopa dávali imunochemickú rozdielnú odpoveď a že teda v nami použité RIA sme výlučne stanovovali prítomnosť LH v sére.

Pozitívne výsledky resp. ovuláciu syntetickými LH-RH podarilo sa vyvolať u hydiny (Tienhoven, Schally 1972); indukcia LH, spúšťanie a ovulácia u krýs, škrečka a králika syntetickým LH-RH demonštrujú Humphrey a kol. (1973), Yanaihara a kol. (1973). Predpokladajú druhové rozdielnosti s rešpektovaním kvantity LH-RH požadovaného k započatiu LH, spúšťaniu a ovulácii.

Úspešnú indukciu ovulácie so syntetickým preparátom LH-RH u anovulačnej infertility ľudí podarilo sa vyvolať Zarate a kol. (1972).

Na rozdiel od Reevesa a kol. (1970), ktorí pri intrakarotidálnej aplikácii vytestovali u oviec 5  $\mu$ g, ako najoptimálnejšiu v našom experimentálnom systéme volili sme dávku vyššiu 20  $\mu$ g, vychádzajúc z možnosti ako aplikácie enterálnej i parenterálnej (Arimura a kol. 1972, Humphrey a kol. 1973).

Ak porovnáваме rýchlosť odpovede v uvoľňovaní hypofyzárneho LH, toto je pomalejšie s najvyššou hladinou okolo 20 min. priemernej hladiny 14,2

ng/ml. Reeves a kol. (1971), Amoss a Guillemin (1969) v diestru obdržali zvýšenie za 2,5–10 min., ktoré odpovedalo približným hodnotám 10–18 ng/ml, nižšie ako sú hladiny, ktoré súvisia s ovuláciou. Toto spomalenie je bezpochyby podmienené spôsobom aplikácie. Našu domnienku podporujú práce Arimura a kol. (1973), ktorí pri porovnávanom štúdiu účinku syntetického LH-RH po sc. i. v. aplikácii u ľudí dostávali najvyššiu odpoveď za 30 až 60 min.

Pri hodnotení účinku L-Dopa na hladinu LH anestrálnych oviec dostali sme v našom predbežnom zdení na dvoch pozorovaniach relatívne protichodné hodnoty podobne ako Souvatzoglou a kol. (1970) u ľudí. Spomenutí autori aplikovali i. v. 100 mg L-Dopa, aby v jednom z piatich prípadov dostali maximálne zvýšenie za 50 min. na 126 % a za 40 min. na 124 % po injikovaní 50 mg L-Dopa. Perlow a kol. (1972) užili ešte vyššie dávky pre orálnu aplikáciu ľudí; pri podaní 0,5 g L-Dopa želatínových kapslí zaznamenali série nepravidelných sekrečných epizód s rýchlymi vzostupmi a pomalejším klesaním.

Intermitujúci trend hladiny LH u krýs ako následok infúzie dopaminu do tretej komory pozorovali Kambert a kol. (1970); pri aplikácii piatich rozdielnych dávok (1,25, 2,5, 5, 10 a 100  $\mu$ g) dostávali najpreukaznejšiu odpoveď u dávky najnižšej, zatiaľ čo najvyššia dávka u tohto monoamínu inhibovala uvoľnenie LH v celkom inverznej relácii k dávke.

V našom experimente sme empiricky volili vysokú, resp. najvyššiu dávku vzhľadom k vodnej rozpustnosti pre i. v. aplikáciu, ktorá bude mať dostatok rezerv pre straty vzniknuté bariérou z krvného riečišťa do *mediana eminentia* na dodatočnú enzymatickú premenu L-Dopa na dopamin a ďalšie aktívne zložky.

Domnievame sa, že prezentovanie predbežného zdenia bude vyžadovať hlbšie štúdium vytitrovania účinku rôznych váhových hodnôt k zisteniu prahovej citlivosti monoaminoergných neurónov, resp. v simultánnej aplikácii s LH-RH; zatiaľ z nášho pozorovania nemôžeme hovoriť o teste s uvoľňovacími LH mechanizmami, resp. o hypofyzárnej LH rezerve a jeho ďalšom vzťahu k estrálnemu cyklu oviec.

Nami použitý syntetický LH-RH vykazuje podobnú odpoveď ako práce so surovými a natívnymi vysoko purifikovanými preparátmi, t. j. zvýšenie hladiny LH je nižšie ako odpovedajúca hladina preovulačného vrcholu.

## Literatúra

- AMOSS M. S., GUILLEMIN R., 1969, Elevation of plasma LH concentrations induced by LH-releasing factor as measured by radioimmunoassay in the sheep. *Endocrinology* 84 : 1517.
- ARENDARČIK J., 1972, Niektoré najnovšie údaje o štruktúre, syntéze a účinku hypotalamických LH a FSH uvoľňovacích hormónov a hypofyzárnych gonadotropínov (FSH, LH). *Folia vet., Košice*, 16, 3/4 : 85-100.
- ARIMURA A., DEBELJUK L., SCHALLY A. V., 1972, Stimulation of FSH release *in vivo* by prolonged infusion of synthetic LH-RH. *Endocrinology* 21, 2 : 529-532.
- ARIMURA A., SAITO M., YAOI J., KUMASAKA T., SATO H., KOYAMA T., NISHI N., KASTIN A., 1973, Comparison of the effects of subcutaneous and intravenous injection of synthetic LH-releasing hormone (LH-RH) on serum LH. *J. clin. Endocr. Metab.* 36, 2 : 385.
- BOGDANOVE E. M., 1972, Current knowledge of gonadotrophin releasing factors. *Med. Coll. Virginia G.* 8, 1 : 5-12.

- BOYD A. E., LEBOVITZ H. E., PFEIFFER J. B., 1970, Stimulation of human-growth-hormone by L-Dopa. *New Engl. J. Med.* 383 : 1425.
- GREENWOOD F. C., HUNTER W. M., GLOVER J. S., 1963, The preparation of  $^{131}\text{I}$  labeled human growth hormone of high specific radioactivity. *Biochem. J.* 89, 114.
- HUMPHREY R. R., DERMODY W. C., BRINK M., BOUSLEY F. G., REEL J. R., 1973, Induction of LH release and ovulation in rats, hamsters and rabbits by synthetic LRF. *Endocrinology* 92, 5, 1515-1526.
- ITZE L., ARENDARČIK J., 1973, The detection of LH activity in sheep urine by radioimmunoassay. *Endocr. Exper.* 7 : 307-314.
- KAMBERI I. A., MICAL R., PORTER J. C., 1970, Effect of anterior pituitary perfusion and intraventricular injection of catecholamines and indoleamines on LH release. *Endocrinology* 87 : 1.
- MANCINI G., CARBONARA A. O., HEREMANS J. F., 1965, Immunochemical quantitation of antigens by single radial immunodiffusion. *Int. J. Immunochemistry* 2 : 235-254.
- MATSUO H., BABA Y., NAIR R. M. G., ARIMURA A., SCHALLY A. V., 1971, Structure of the porcine LH and FSH releasing hormone. I. The proposed amino acid sequence. *Biochem. biophys. Res. Commun.* 43, 6 : 1334-1339.
- NISWENDER G. D., REICHERT L. E., MIDGLEY A. R., NALBANDOV A. V., 1971, Radioimmunoassay for bovine and ovine luteinizing hormone. *Endocrinology* 84, 5 : 1166-1173.
- PERLOW M. J., SASSIN J. F., BOYAR R., HELLMAN L., WEITZMAN E., 1972, Release of human growth hormone FSH and LH in response to L-dihydroxy-phenylalanine (L-Dopa) in normal men. *Nervous system* 33 : 804-810.
- REEVES J. J., ARIMURA A., SCHALLY A. V., 1970, Studies on dose response relationship of luteinizing hormone releasing hormone (LH-RH) in sheep. *J. Anim. Sci.* 31 : 953-956.
- REEVES J. J., ARIMURA A., SCHALLY A., 1971, Pituitary responsiveness to purified luteinizing hormone releasing hormone (LH-RH) at various stages of the estrous cycle in sheep. *J. Anim. Sci.* 32 : 123-126.
- SAMLI M. H., GESCHWIND I. I., 1967, Some effects of the hypothalamic luteinizing hormone releasing factor on the biosynthesis and release of luteinizing hormone. *Endocrinology* 81 : 835.
- SOUVATZOGLOU A., BOTTERMANN P., WERDER K. V., SWARZ K., 1970, Effect of L-Dopa on LH and GH levels in man. *Acta Endocr. (Kbh.) Suppl.* 159 : 60.
- SCHALLY A. V., KASTIN A. I., ARIMURA A., 1971, Hypothalamic FSH and LH regulating hormone: structure, physiology and clinical studies. *Fert. Steril.* 22 : 703.
- Van TIENHOVEN A., SCHALLY A. V., 1972, Mammalian luteinizing hormone — releasing hormone induced ovulation in the domestic fowl. *Gen. Comp. Endocrinol.* 19, 3 : 594-595.
- YANAIHARA T., SAKURAI Y., OKINAGA S., ARAI K., 1973, Induction of ovulation in rabbits by synthetic LH-RH. *Am. J. Obstet. Gynec.* 115 : 855-856.
- ZARATE A., CANALES E. S., SCHALLY A. V., VADES L. A., KASTIN A. J. 1972, Successful induction of ovulation with synthetic luteinizing hormone — releasing hormone in anovulatory infertility. *Fert. Steril.* 25, 9 : 672-674.

Došlo dne 1. 3. 1974

ИТЦЕ Л., АРЕНДАРЧИК Й., МАРОССИ А., МАРАЧЕК И., ХАЛАГАН Й. (Ветеринарный институт, Кошице, Чехословакия). Воздействие синтетического LH-RH и L-Dopa на уровень LH анэстральных овец. *Vet. Med. (Praha)* 19 (11) : 677-686, 1974.

В статье рассматривается динамика уровня LH у анаэстральных овец, которым внутривенно ввели гормон LH (LH-RH) и L-Dopa. Для его определения был использован радиоиммунологический метод (RIA), который в нашей лаборатории был сначала модифицирован и отестирован с целью исключения взаимной иммунохимической реакции между LH, LH-RH и L-Dopa. I гр. из 4 мериновых овец получила 20  $\mu\text{g}$  10  $\text{ml}^{-1}$  воды LH-RH, а II гр. — 89  $\text{mg}$  54  $\text{ml}^{-1}$  воды L-Dopa. В I гр. спустя 20 мин концентрация LH достигает своего максимума (14,2  $\text{ng ml}^{-1}$ ), позднее убывает, но еще 110 мин после дачи остается выше основного среднего уровня (2,2  $\text{ng ml}^{-1}$ ). После введения L-Dopa наблюдается бифазовая кривая с первым повышением спустя 10 мин (9,3  $\text{ng ml}^{-1}$ ), сопровождающимся через 20 мин понижением (2,6  $\text{ng ml}^{-1}$ ). Второе повышение (14  $\text{ng ml}^{-1}$ ) наступает спустя 40 мин, после чего уровень постепенно понижается, но спустя 110 мин все еще превышает исходный уровень. В заключение можно сказать, что действие синтетического LH-RH и препарата L-Dopa не достигает того роста, который отвечал бы преовуляционному LH пику у овец.

LH; овца; введение LH-RH; L-Dopa

ITZE L., ARENDARČIK J., MAROSSY A., MARAČEK I., HALAGAN J. (University School of Veterinary Medicine, Košice, Czechoslovakia). *The Effect of Synthetic LH-RH and L-Dopa on the Level of LH in Anoestral Sheep*. Vet. Med. (Praha) 19 (11): 677-686, 1974.

The paper describes the study of the dynamics of LH level in anoestral sheep to which the releasing hormone LH (LH-RH) and L-Dopa was applied intravenously. The radioimmunological method (RIA) was used for determination; before that, the method was modified and tested in laboratory so as to exclude any immunochemical reaction between LH, LH-RH, and L-Dopa. LH-RH was applied to the first group of four sheep (Merino) in the dose of 20  $\mu\text{g}$  10  $\text{ml}^{-1}$  of water; L-Dopa was applied in the dose of 89  $\text{mg}$  54  $\text{ml}^{-1}$  of water to the second group. In the first group, maximum concentration of LH (14.2  $\text{ng ml}^{-1}$ ) occurs after 20 minutes from LH-RH application; then follows a decrease but the value remains higher than the basic average level (2.2  $\text{ng ml}^{-1}$ ) even after 110 minutes from application. After the application of L-Dopa the first elevation of the biphasic curve occurred after 10 minutes (9.3  $\text{ng ml}^{-1}$ ), followed by a drop for 20 minutes (2.6  $\text{ng ml}^{-1}$ ). Another increase (14  $\text{ng ml}^{-1}$ ) occurred after 40 minutes from injection; then the level slowly decreased. After 110 minutes it was still above the initial level. It is stated in conclusion that the effects of the application of synthetic LH-RH and the L-Dopa preparation do not provide an increase which would correspond to the pre-ovulating LH peak in sheep.

LH; sheep; application of LH-RH; L-Dopa

ITZE L., ARENDARČIK J., MAROSSY A., MARAČEK I., HALAGAN J. (Veterinärmedizinische Hochschule, Košice, Tschechoslowakei). *Wirkung des synthetischen LH-RH und L-Dopa auf das LH-Niveau bei anöstralen Schafen*. Vet. Med. (Praha) 19 (11): 677-686, 1974.

In der vorliegenden Arbeit untersuchten wir die Dynamik des LH-Niveaus bei anöstralen Schafen, denen wir das Hormon LH (LH-RH) und L-Dopa intravenös verabreichten. Zur Bestimmung benutzten wir die radioimmunologische Methode, die in unserem Laboratorium vorerst modifiziert und derart getestet wurde, um gegenseitige immunochemische Reaktionen zwischen LH, LH-RH und L-Dopa auszuschließen. Die erste Gruppe von vier Merinoschafen erhielt 20  $\mu\text{g}$  10  $\text{ml}^{-1}$  Wasser LH-RH, die zweite Gruppe 89  $\mu\text{g}$  54  $\text{ml}^{-1}$  Wasser L-Dopa. Bei der ersten Gruppe kommt es in 20 Minuten nach der LH-RH-Applikation zur maximalen LH-Konzentration (14,2  $\mu\text{g ml}^{-1}$ ), während der weiteren Verfolgung kommt es zur Verringerung derselben, die aber noch 110 Minuten nach Applikation das durchschnittliche Grundniveau (2,2  $\mu\text{g ml}^{-1}$ ) übersteigt. Nach der L-Dopa-Applikation gewannen wir eine Zweiphasenkurve mit erster Elevation in 10 Minuten (9,3  $\mu\text{g ml}^{-1}$ ) die für 20 Minuten durch eine Niveauverminderung (2,6  $\mu\text{g ml}^{-1}$ ) abgewechselt wird. Zur zweiten Erhöhung (14  $\mu\text{g ml}^{-1}$ ) kommt es in 40 Minuten nach der Injektion, wonach das Niveau allmählich absinkt. Innerhalb von 110 Minuten überragt es immer noch

das Ausgangsniveau. Zum Schluß konstatieren wir, daß die durch das synthetische LH-RH und das Präparat L-Dopa hervorgerufenen Wirkungen die dem Präovulations-LH-Gipfel bei Schafen die entsprechende Erhöhung nicht erreichen.

LH; Schaf; LH-RH-Applikation; L-Dopa

---

*Adresa autorů:*

Prof. MVDr. J. Arendarčík, DrSc., MVDr. L. Itze, CSc., MVDr. A. Marossy, MVDr. J. Maraček, CSc., MVDr. J. Halagan, Vysoká škola veterinářská, Komenského 71, 041 81 Košice

---



# VLIV NÍZKÉ TEPLOTY NA PRŮBĚH RŮSTOVÉ KŘIVKY KMENE STAPHYLOCOCCUS AUREUS

J. Lukášová, M. Sluková

Vysoká škola veterinární, Brno

---

LUKÁŠOVÁ J., SLUKOVÁ M. Vliv nízké teploty na průběh růstové křivky kmene *Staphylococcus aureus*. Vet. Med. (Praha) 19 (11): 687-692, 1974.

Působení nízké teploty na kmeny *Staphylococcus aureus* ve studovaných časových intervalech (30 minut, 24 hodiny, týden, měsíc) vyvolalo změny v průběhu růstové křivky těchto kmenů. Především byla zpomalena exponenciální fáze růstu, období zpomaleného množení buněk se značně prodloužilo. Stacionární fáze byla různě dlouhá, což záviselo na použité době mražení. V průběhu růstové křivky bylo zaznamenáno nepravidelně se opakující obnovené zvýšení množení buněk.

*Staphylococcus aureus*; teplota  $-34^{\circ}\text{C}$ ; časové intervaly 30 minut, 24 hodiny, týden, měsíc; průběh růstové křivky; změny jednotlivých fází růstové křivky

---

Problematicku působení nízkých teplot na mikroorganismy lze podle Christophersena (1955) rozdělit na otázky týkající se rezistence vůči mrazu, rozmnožování při nízkých teplotách, výměny látkové, mechanismu usmrcení buňky mrazem a kinetiky odumírání. Toto rozdělení má však jen metodologické oprávnění a napomáhá řešit složité problémy dosud neobjasněné.

Řada autorů jako Campbel, Berry, Gotlieb (Arpai 1960) se shoduje v tom, že při teplotách málo pod  $0^{\circ}\text{C}$  odumírá větší počet mikroorganismů než při teplotách podstatně nižších. O extrémně nízkých teplotách se tvrdí, že nepůsobí germicidně. Lze to vysvětlit tím, že při vysoké rychlosti zmrazování nedochází ke krystalizaci, ale k vitifikaci buněčných tekutin.

Arpai (1964) při studiu vztahů mezi podmínkami mražení a kinetiky růstu mezofilních a psychofilních mikroorganismů zjistil signifikantní závislost nízkoteplotního účinku na konstituční odolnost mikroorganismů. Tento závěr potvrdili Arpai a Tomišová (1966) v práci, v níž studovali specifický účinek zmrazování tekutým dusíkem na mikroorganismy.

Na baktericidní účinek nízké teploty má vliv složení vnějšího prostředí. Tuhy, cukry a bílkoviny působí převážně jako ochranné látky. K přirozeným substrátům s vysokým ochranným účinkem patří i mléko.

Stafylokoky jsou odolné vůči účinkům nízkých teplot. Podle Georgally a Hursta (1963) jsou stafylokoky v mražené suspenzi rezistentnější k uchování v chladu než Gramm negativní tyčinkovité bakterie. Zvýšenou citlivost vykazují k teplotám od  $0^{\circ}\text{C}$  do  $-10^{\circ}\text{C}$ . Ahn a kol. (1964) zjistili, že mražením suspenze stafylokoka v 0,85 % solném roztoku došlo ke snadné redukci

počtu živých buněk. Žádné snížení počtu živých buněk nebylo zaznamenáno u buněk mražených v ředěném albuminovém a glukózovém roztoku.

Řadou pokusů na našem pracovišti jsme prokázali, že při opakovaném působení teploty 34 °C na kmeny *Staphylococcus aureus* se mění jejich morfologické a biochemické vlastnosti (Lukášová 1970a, b). Touto prací jsme navázali na předchozí pokusy a ověřovali opakovaný vliv nízké teploty na kinetiku rozmnožování patogenních stafylokoků.

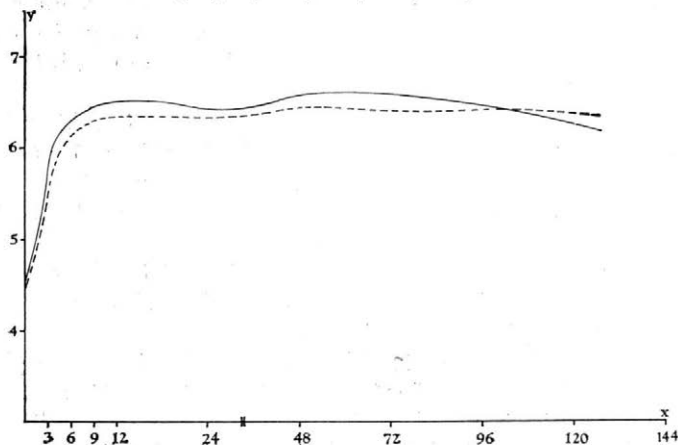
## MATERIÁL A METODA

**Mikroorganismy:** Byly použity dva kmeny *Staphylococcus aureus*. Kmen č. 1 (ATTC 6538-P) z Čs. sbírky mikroorganismů a kmen č. 2 izolovaný z tvarohu. Oba kmeny byly patogenní.

**Příprava bakteriální suspenze:** 18hodinové kultury obou kmenů, vyrostlé na masopeptonovém agaru při teplotě 37 °C, byly suspendovány ve fyziologickém roztoku a jejich hustota byla upravena nefelometricky na hodnotu  $3 \cdot 10^4$  buněk  $\text{ml}^{-1}$ . Potom byly suspenze odstředěny a sediment rozmíchán v 10 ml fyziologického roztoku a v 10 ml sterilního mléka. Takto bylo připraveno celkem osm bakteriálních suspenzí od každého kmene *Staphylococcus aureus*.

**Vlastní pokus:** Připravené suspenze byly rozděleny do čtyř skupin (v každé skupině byly dva kmeny ve fyziologickém roztoku a dva kmeny v mléce). Každá skupina byla mrazena při teplotě -34 °C v různém časovém intervalu: I. skupina 30 minut, II. skupina 24 hodiny, III. skupina 1 týden a IV. skupina 1 měsíc. Po rozmrazení při pokojové teplotě byla suspenze odstředěna a sediment naočkován do 200 ml masopeptonového bujónu a na jednu misku masopeptonového agaru. Kultura z misky byla po inkubaci 18 hodin při teplotě 37 °C smyta fyziologickým roztokem, hustota byla upravena na hodnotu  $3 \cdot 10^4$  buněk  $\text{ml}^{-1}$ ; pokus se opakoval při časových intervalech mrazení 30 minut a 24 hodiny celkem 15 X, při týdenním intervalu 5 X a při mrazení jeden měsíc 2 X.

Z naočkováných bujónů byly během inkubace při 37 °C odebírány vzorky po 10 ml za 3, 6, 9, 12, 24, 48, 72, 96 a 144 hodinách inkubace. Ty byly



1. Základní růstová křivka kmene *Staphylococcus aureus*; kmen č. 1 —, kmen č. 2 ——. Osa x — čas v hodinách, osa y — log počtu buněk  $\text{ml}^{-1}$

odstředěny a sediment důkladně rozmíchán v 10 ml destilované vody. Pulfrichovým nefelometrem byl změřen zákal a k němu určen odpovídající počet mikroorganismů na 1 ml. Ze získaných hodnot byly sestaveny růstové křivky. Pro oba kmeny byly sestaveny křivky rovněž před mražením (obr. 1). Při nefelometrii bylo použito filtru o vlnové délce 615 nanometrů. Směrodatná odchylka při měření byla 0,230. Rychlostní spád mrazení byl  $1^{\circ}\text{C s}^{-1}$ .

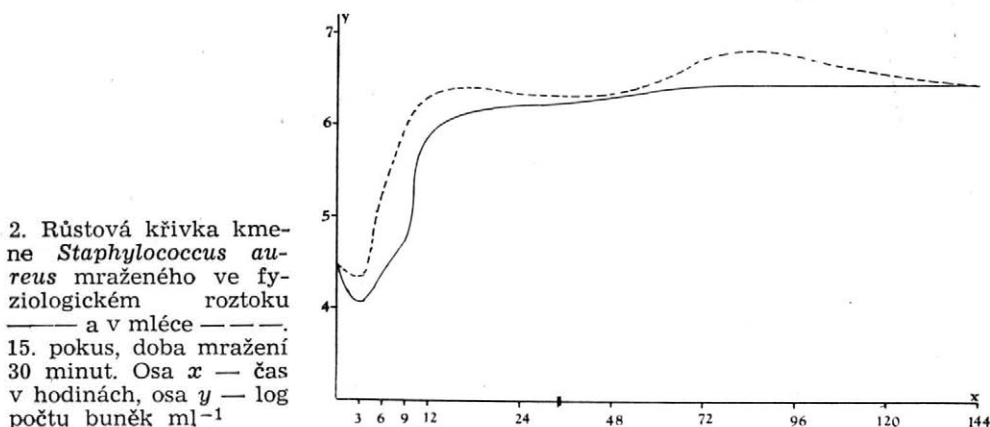
## VÝSLEDKY

Z údajů jednotlivých měření bylo sestaveno 136 růstových křivek, z jejichž porovnání a hodnocení vyplývají následující výsledky:

I. skupina: mrazení při  $-34^{\circ}\text{C}$  po dobu 30 minut, pokus opakován 15×

Po prvním mrazení došlo po třech hodinách inkubace k počátečnímu snížení počtu buněk proti původní hodnotě, zvláště u kmene 1 a 1M (suspenze mrazena v mléce). Po fázi stacionární nastalo nepatrné zvýšení množení buněk.

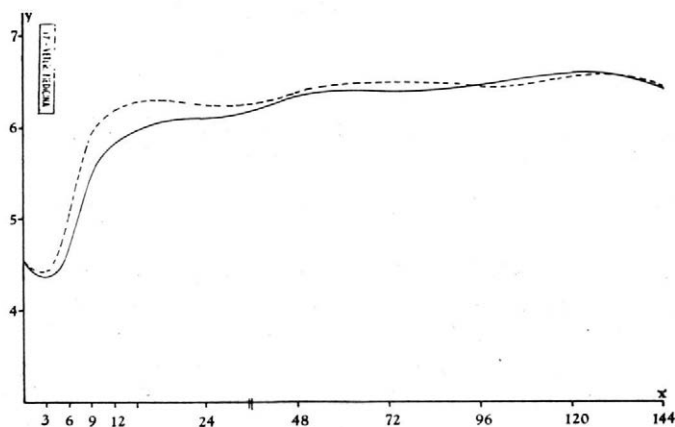
Do čtvrtého pokusu se růstové křivky testovaných kmenů v základě neměnily. Po čtvrtém mrazení se v exponenciální fázi množení buněk zpomalilo, takže tato fáze trvala šest hodin. Fáze zpomaleného růstu se značně prodloužila. Buňky se množily až do 72 hodin inkubace. Po krátké fázi stacionární nastal mírný pokles počtu buněk a po něm opět pomalé množení buněk. Po 120 hodinách inkubace došlo k trvalému poklesu počtu buněk. Od 5. do 15. opakovaného mrazení nedošlo k výrazným změnám v průběhu růstových křivek obou kmenů. V některých případech byla vynechána stacionární fáze a buňky se zvolna množily až do 72 hodin. Ve většině případů však krátká stacionární fáze byla vyznačena a po ní nastalo období zvýšeného množení buněk s následným poklesem jejich počtu, což se opakovalo jednou až třikrát. Tento jev byl zvýrazněn zvláště ke konci pokusu (obr. 2).



II. skupina: mrazení při  $-34^{\circ}\text{C}$  po dobu 24 hodin, pokus opakován 15×

Růstové křivky obou kmenů se v základě nelišily od křivek v minulé sérii pokusů. Byly zde zvýrazněny nepravidelnosti růstu, především v počátečních

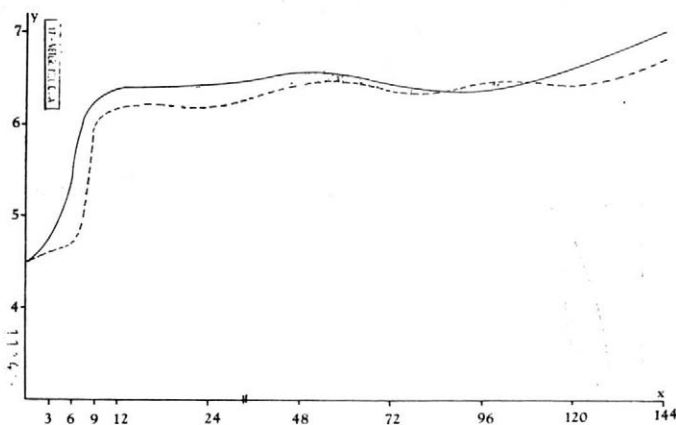
fázích pokusu (2.—8. mražení). Ke konci pokusu naopak vymizelo nepravdělné množení buněk, značně se prodloužila fáze stacionární (u kmene 2 po 13. mražení od 24 do 144 hod. inkubace). Po 15. mražení se oba kmeny zvolna množily až do 144 hodin inkubace (obr. 3).



3. Růstová křivka kmene *Staphylococcus aureus* mraženého ve fyziologickém roztoku — a v mléce ——. 15. pokus, doba mražení 24 hodiny. Osa  $x$  — čas v hodinách, osa  $y$  — log počtu buněk  $\text{ml}^{-1}$

III. skupina: mražení při  $-34^{\circ}\text{C}$  po dobu jednoho týdne, pokus opakován 5 $\times$

Růstové křivky v této sérii pokusů byly charakterizovány kromě zpomalené exponenciální fáze především dlouhou stacionární fází (obr. 4).

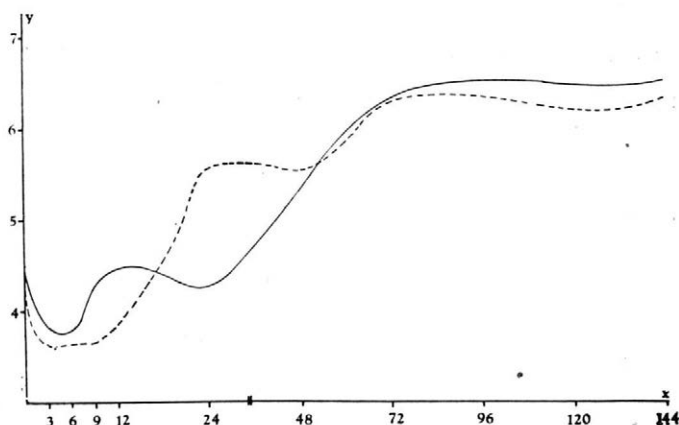


4. Růstová křivka kmene *Staphylococcus aureus* mraženého ve fyziologickém roztoku — a v mléce ——. 4. pokus, doba mražení týden. Osa  $x$  — čas v hodinách, osa  $y$  — log počtu buněk  $\text{ml}^{-1}$

IV. skupina: mražení při  $-34^{\circ}\text{C}$  po dobu jednoho měsíce, opakováno 2 $\times$ .

Po prvním měsíci mražení se růstové křivky testovaných kmenů nelišily od křivek u popsaných sérií pokusů. Po druhém měsíci mražení došlo u obou kmenů k tak nepravidelnému množení, že nebylo možné určit jednotlivé růstové fáze. Po počátečním značném snížení počtu buněk nastala fáze klidu, po které se střídalo nepravidelně období různě intenzivního množení s poklesem počtu buněk (obr. 5).

5. Růstová křivka kmen *Staphylococcus aureus* mraženého ve fyziologickém roztoku — a v mléce ——. 2. pokus, doba mražení měsíc. Osa  $x$  — čas v hodinách, osa  $y$  — log počtu buněk  $\text{ml}^{-1}$



## DISKUSE

Srovnáním a zhodnocením všech výsledků jsme dospěli k závěru, že je-li tentýž kmen *Staphylococcus aureus* opakovaně zmrazován při teplotě  $-34^{\circ}\text{C}$  a rozmrazován, dochází u něj ke změnám v intenzitě i v délce množení. Tyto změny jsou nápadné zvláště při použití dlouhých časových intervalů mražení.

Při mražení v kratších časových intervalech dochází ke změnám v jednotlivých fázích růstu, přičemž celkový tvar růstové křivky zůstává v podstatě zachován. V počátečních fázích pokusu je postižena především fáze exponenciální, ke konci pokusu pak fáze zpomaleného množení a stacionární.

Podobnou problematikou se zabýval také Arpai (1963), který studoval vliv mražení na průběh růstové křivky u *Pseudomonas fluorescens* a *Escherichia coli*. Zjistil, že u organismů s poškozeným metabolismem vlivem mražení došlo ke zpomalení růstu kultury zvláště v lag fázi, přičemž exponenciální růst byl nezměněn. Autor používal mrazicí teploty  $-4^{\circ}\text{C}$ ,  $-18^{\circ}\text{C}$  a  $-30^{\circ}\text{C}$ .

Z výsledků pokusu vyplývá (shodně s Arpaie 1963), že čistá kultura mikroorganismů (v našem případě kultura *Staphylococcus aureus*) obsahuje buňky o rozdílné růstové rychlosti. Tento faktor spolu s odlišnou rezistencí jednotlivých buněk k nízkým teplotám se projevuje v charakteru růstových křivek.

Germicidní účinek nízkých teplot na mikroorganismy snižují tzv. ochranné látky v prostředí (bílkoviny, cukry, tuky). Při teplotě  $-34^{\circ}\text{C}$ , kterou jsme použili v pokuse, jsme nepozorovali výrazný ochranný účinek mléka. Získané hodnoty kmenů mražených v mléce se velmi málo lišily od hodnot získaných při mražení kmenů ve fyziologickém roztoku.

## Literatura

- AHN T. H., NISHIHARA N., CARPENTER CH. M., TAPLIN G. V., 1964, Viability and metabolism of *Staphylococcus aureus* after freezing, lyophilization and irradiation. J. Bact. 88 : 545-552.
- ARPAI J., 1960, Názory na mechanismus a kinetiku účinků nízkých teplot na mikroorganismy. Biológia 15 : 461-472.
- ARPAI J., 1963, Selective Effect of Freezing as Reflected in Growth Curves. Folia microbiol., Praha, VIII : 18-26.
- ARPAI J., 1964, Rast mikroorganizmov v potravinách za chladu. Čs. Hyg. IX : 129-139.
- ARPAI J., TOMIŠOVÁ J., 1966, O špecifickom účinku zmrazovania tekutým dusíkom na mikroorganismy. Bull. ústr. výsk. ústavu potr. priem. V : 24-29.

- GEORGALA D. L., HURST A., 1963, The Survival of Food Poisoning Bacteria in Frozen Foods. J. appl. Bact. 88 : 346-358.
- CHRISTOPHERSEN J., 1955, Mikroorganismen. Temperatur und Leben, Springer Verlag, Berlin.
- LUKÁŠOVÁ J., 1970a, Low Temperature Action of Short-Time Intervals on Biochemical and Morphological Properties of *Staphylococcus aureus* Strain. Acta vet., Brno, 39 : 35-40.
- LUKÁŠOVÁ J., 1970b, Low Temperature Action of Long-Time Intervals on Biochemical and Morphological Properties of *Staphylococcus aureus* Strain. Acta vet., Brno, 39 : 41-45.

Došlo dne 25. 4. 1974

ЛУКАШОВА Й., СЛУКОВА М. (Ветеринарный институт, Брно, Чехословакия). Влияние низкой температуры на ход кривой роста штамма *Staphylococcus aureus*. Vet. Med. (Praha) 19 (11) : 687-694, 1974.

Воздействие низкой температуры на штаммы *Staphylococcus aureus* в изучаемые интервалы времени (30 мин, 24 ч, 1 день, 1 мес) проявило себя в изменении хода кривой роста этих штаммов. Прежде всего была замедлена экспоненциальная фаза роста, а период замедленного размножения клеток значительно продлился. Продолжительность стационарной фазы разная, что связано со сроком замораживания. В ходе кривой роста отмечено нерегулярно возобновляющееся повышенное размножение клеток.

*Staphylococcus aureus*; температура  $-34^{\circ}$ ; интервалы по 30 мин, 24 ч, 1 день, 1 мес; ход кривой роста; изменения отдельных фаз кривой роста

LUKÁŠOVÁ J., SLUKOVÁ M. (University School of Veterinary Medicine, Brno, Czechoslovakia). The Effect of Low Temperature on the Course of the Growth Curve in Strains of *Staphylococcus aureus*. Vet. Med. (Praha) 19 (11) : 687-692, 1974.

The exposure of *Staphylococcus aureus* strains to low temperatures for the studied intervals (30 minutes, 24 hours, 1 week, 1 month) caused changes in the course of the growth curve of these strains. First of all, the exponential stage of growth was slowed down, the period of slowed-down cell propagation was considerably prolonged. The stationary stage had different durations, depending on the time of freezing. Irregularly relapsing increased cell propagation was ascertained in the course of the growth curve.

*Staphylococcus aureus*; temperature of  $-34^{\circ}\text{C}$ ; time intervals of 30 minutes, 24 hours, 1 week, 1 month; course of the growth curve; changes in individual phases of the growth curve

LUKÁŠOVÁ J., SLUKOVÁ M. (Veterinärmedizinische Hochschule, Brno, Tschechoslowakei). Einfluß niedriger Temperaturen auf den Verlauf der Wachstumskurve von *Staphylococcus-aureus*-Stämmen. Vet. Med. (Praha) 19 (11) : 687-692, 1974.

Die Einwirkung niedriger Temperaturen auf *Staphylococcus-aureus*-Stämme in den untersuchten Zeitintervallen (30 Minuten, 24 Stunden, 1 Woche, 1 Monat) rief Veränderungen im Verlaufe der Wachstumskurve dieser Stämme hervor. Vor allem wurde die Wachstumsexponentialphase verlangsamt und die Periode der verzögerten Zellteilung wesentlich verlängert. Die stationäre Phase war unterschiedlich lang, was von der angewandten Tiefkühlungszeit abhängig war. Im Verlaufe der Wachstumskurve wurde eine unregelmäßig sich wiederholende, erneuerte höhere Zellenvermehrung festgestellt.

*Staphylococcus aureus*; Temperatur  $-34^{\circ}\text{C}$ ; Zeitintervalle 30 Minuten, 24 Stunden, 1 Woche, 1 Monat; Verlauf der Wachstumskurve; Veränderungen der einzelnen Phasen der Wachstumskurven

Adresa autorů:

MVDr. J. Lukášová, MVDr. M. Sluková, Vysoká škola veterinární, Palackého 1-3, 612 42 Brno



# ZNECITLIVĚNÍ XYLAZINEM\* A HYDROCHLORIDEM KETAMINU\*\* U KOČEK

E. Král, L. Němeček, V. Roztočil, F. Ševčík

Vysoká škola veterinární, Brno

KRÁL E., NĚMEČEK L., ROZTOČIL V., ŠEVČÍK F. *Znecitlivění xylazinem a hydrochloridem ketaminu u koček.* Vet. Med. (Praha) 19 (11): 693-705, 1974. Xylazin v dávce 0,5 mg kg<sup>-1</sup> ž. v. v 0,2% roztoku i. m. vyvolává jen nepatrnou sedaci. Současná aplikace atropinu v dávce 0,1 mg kg<sup>-1</sup> ž. v. potlačuje vomitus a dávivé nápinky, které xylazin vyvolává. Ketamin aplikovaný za 20 minut po aplikaci xylazinu v dávce 20 mg kg<sup>-1</sup> ž. v. v 5% roztoku i. m. vyvolává zpravidla za pět až osm minut celkové úplné znecitlivění, které trvá 25 až 50 minut. Během znecitlivění klesá tělesná teplota, frekvence tepu a výrazně frekvence dechu a dechový objem. Počet erytrocytů i leukocytů během znecitlivění klesá, v diferenciálním počtu leukocytů nedochází k výrazným změnám. Hemoglobin a hematokrit vykazují v prvních dvou měřeních po aplikaci ketaminu pokles, ale po 24 hodinách se blíží k normálu. Hladina glukózy po aplikaci ketaminu výrazně stoupá, ale již v měření za čtyři hodiny po aplikaci ketaminu klesá, takže za 24 hodiny je normální. Zatím co GOT vykazuje přechodný vzestup ve čtvrté hodině po aplikaci ketaminu, GPT má mírně vzestupnou tendenci ještě po 24 hodinách. Odchyly u většiny sledovaných hodnot byly v průměru znecitlivění statisticky významné. Změny v elektrokardiogramu — snížení vzruchů v *nodus sinuatrialis*, kolísání v sinusovém rytmu, odchylka ve voltáži vln a kmitů EKG křivky, změny v průběhu S-T segmentu a v polaritě vlny T, které jsme u samotného ketaminu nezaznamenali, přičítáme parasimpatikomimetickému účinku xylazinu, hypotermii a hypoxii. V záznamu elektroencefalogramu se objevuje iritační epileptická aktivita. Posuzováno z hlediska EEG, nechrání tedy xylazin v uvedené dávce mozkovou aktivitu před patologickými iritačními výboji, vyvolanými ketaminem. Jejich klinické vymizení je nutné proto přičíst jen myorelaxačnímu účinku xylazinu.

celkové znecitlivění; xylazin; hydrochlorid ketaminu; tep; dech; teplota; spirometrie; krevní obraz; glukóza; transaminázy; EKG; EEG; kočka

Z pokusů našich (Král a kol. 1972) i jiných autorů (Dürr, Kraft 1971, Beck a kol. 1971) vysvítá, že znecitlivění chloridem ketaminu u koček doprovází v určitém počtu případů zvýšený svalový tonus až svalové křeče. Podle některých autorů (Amend a kol. 1972, DeVries a kol. 1973, Amend 1973) je možné tyto stavy odstranit premedikací xylazinem (Rompun<sup>R</sup>).

Amend a kol. (1972) a Amend (1973) použili xylazinu v dávkách 0,25 až 2,00 lb i. m. a za 20 minut po aplikaci xylazinu aplikovali ketamin

\* ROMPUN<sup>R</sup>: Bayer Leverkusen, BRD

\*\* KETALAR: Parke-Davis Comp., London, England

v dávce 5 nebo 10 mg lb *i. m.* Sledovali dech, puls, svalový tonus a hloubku analgezie. De Vries a kol. (1973) aplikovali 0,5 mg kg<sup>-1</sup> xylazinu *i. m.*, 0,1 mg kg<sup>-1</sup> atropinu *i. m.* a 15–20 mg kg<sup>-1</sup> ketaminu *i. m.* Vedle klinického hodnocení byly v pokusech sledovány puls, teplota, dech a hodnoty pH, PCO<sub>2</sub> a BE.

Vzhledem k tomu, že tato anestézie je u koček a kočkovitých šelem velmi nadějná, rozhodli jsme se jí věnovat větší pozornost, zvláště z hlediska vlivu xylazinu s ketaminem na organismus.

## MATERIAL A METODY

Pokusy byly konány na mladších klinicky zdravých kočkách ve váze 1,5 až 4,5 kg. Všechny kočky — kromě dvou — byly před pokusem hladové.

Xylazin (Rompun<sup>R</sup>) byl aplikován v dávce 0,5 mg kg<sup>-1</sup> ž. v. v 0,2 % roztoku nitrosvalově. Za dvacet minut po aplikaci xylazinu byl aplikován hydrochlorid ketaminu (Ketalar) v dávce 20 mg kg<sup>-1</sup> ž. v. v 5 % roztoku rovněž nitrosvalově.

Před pokusem byl měřen tep, dech, teplota, dechový objem, EKG, počet erytrocytů, počet leukocytů, diferenciální počet leukocytů, hemoglobin, hematokrit, glukóza a transaminázy kyseliny glutamo-oxalocetové (GOT) a kyseliny glutamo-pyrohroznové (GPT). Během pokusu byl sledován nástup sedace, analgezie, doba analgezie a probuzení. Z reflexů byl sledován reflex víčkový, rohový, polykací a tlapkový. Citlivost byla posuzována podle reakce zvířete na vpichy jehlou do ušního boltce, čenichu, anu a perianu.

Po aplikaci ketaminu byly trias, dechový objem, EKG, sledovány za 10, 20, 30 minut, 4 a 24 hodiny. Počet erytrocytů a leukocytů, diferenciální počet leukocytů, hemoglobin, hematokrit a glukóza byly stanoveny za 10 a 30 minut, 4 a 24 hodiny. Transaminázy (GOT a GPT) byly stanoveny za 4 a 24 hodiny po aplikaci ketaminu.

Elektroencefalogram byl zaznamenáván v pětiminutových intervalech po aplikaci xylazinu a ketaminu.

Frekvence dechu a dechový objem byly určovány respiometrem anglické výroby fy Ferraris Development a. Engineering Co. Frekvence tepu byla odvozena z EKG záznamů, tělesná teplota byla měřena rychloběžným teploměrem.

Elektrokardiografické záznamy byly získávány přímopíšicím jednokanálovým elektrokardiografem zn. UNICARD, při kalibraci 1 mV = 10 mm a při rychlosti posunu registračního papíru 25 mm s<sup>-1</sup>. Ke snímání akčních srdečních potenciálů bylo užito jehlových elektrod zavedených do podkoží na dorsálním okraji proximální části předloktí pravé a levé hrudní končetiny a dorso-laterálním okraji proximální části bérce levé pánevní končetiny. Byly registrovány tři standardní končetinové bipolární svody.

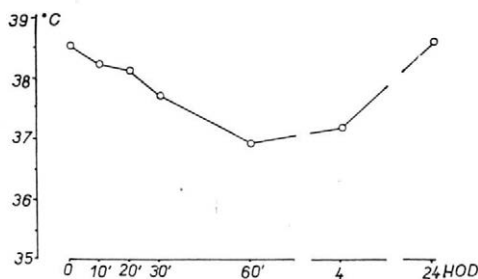
K elektroencefalografickému vyšetření byl použit čtyřkanálový sovětský přístroj 4 EEG-1 a čtyři kovové elektrody lepené pastou na kůži zbavenou srsti a očištěnou alkoholem. Bylo použito bipolárního zapojení longitudinálního — pravá frontální, pravá okcipitální (F — O dx); levá frontální — levá okcipitální (F — O sin) — a zapojení transverzálního — pravá okcipitální, levá okcipitální (O—O) a pravá frontální, levá frontální (F—F). Frontální a okcipitální elektrody byly umístěny tak, jak uvádí Gustafson Beaver a Klemm (1973). Rychlost posunu registrační pásky byla 3 cm s<sup>-1</sup> při kalibraci 100 mikrovoltů.

Počet erytrocytů a leukocytů v  $\text{mm}^3$  byl zjišťován běžnou metodou v Bürkerově komůrce, nátěry pro diferenciální počet leukocytů byly barveny Pappenheimovou metodou panoptického barvení roztokem May-Grünwaldovým a roztokem Giemsa-Romanovského. Hematokrit byl zjišťován odstředováním krve v kapilárních mikropipetách. Obsah hemoglobinu v g% byl zjišťován elektrofotometricky hemoglobinkyanidovou metodou s použitím Drapkinova roztoku (vše podle Hrubíška a Hule 1966). Glukóza, GOT a GPT byly zjišťovány standardními testy firmy Lachema podle firemního návodu. Statisticky byly pokusy vyhodnoceny testem podle Homolky (1969).

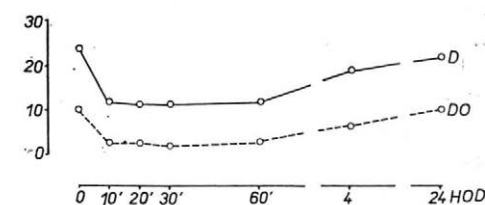
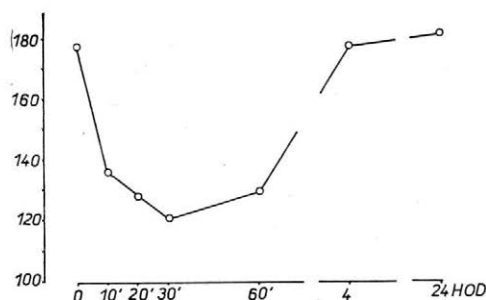
Takto bylo komplexně vyšetřeno v deseti pokusech deset koček. Kromě toho byl xylazin s ketaminem zkoušen i klinicky na pacientech. Šlo o kočky mladší (5 měsíců až 3,5 roku), o váze 3 až  $4\frac{1}{2}$  kg. Ve znecitlivění byly dělány běžné zákroky jako kastrace, osteosyntéza, operace kýl apod. Aby se potlačila nepříjemná salivace, která tuto anestezii doprovází, byl s xylazinem aplikován při pokusech atropin (*Atropin. sulfuric.* v dávce  $0,1 \text{ mg kg}^{-1}$  ž. v.). Xylazin v dávce  $0,5 \text{ mg kg}^{-1}$  ž. v. v 0,2% roztoku a atropin byly aplikovány nitrosvalově. Za 20 minut po premedikaci byl aplikován ketamin v dávce  $20 \text{ mg kg}^{-1}$  ž. v. v 5% roztoku rovněž nitrosvalově. Celkem jsme udělali 14 pokusů. Byl posuzován nástup, hloubka a délka analgezie, doprovodné jevy jako zvýšený svalový tonus, křeče, salivace, vomitus, defekace a vhodnost anestézie pro operativní zákroky.

## VÝSLEDKY

U převážné většiny pokusných zvířat po aplikaci xylazinu nastává jen nepatrná sedace. U většiny pokusných zvířat dochází mezi 2. až 18. minutou po aplikaci xylazinu k vomitu (v 60 %) nebo alespoň k dávivým nápinkám (v 30 %). Po aplikaci ketaminu nastupuje zpravidla za dvě až čtyři minuty sedace a za tři až šestnáct minut, nejčastěji v rozmezí pěti až osmi minut i analgezie. Délka celkového úplného znecitlivění je 25 až 80 minut, v průměru 50 minut. Sedace tuto dobu přetrvává. Z reflexů je během celkového úplného znecitlivění zachován reflex polykací. Při probouzení pacient zůstává somnolentní, za dvě hodiny je schopen si sednout a asi za čtyři hodiny je schopen chůze. Během pokusů byl zvýšený svalový tonus zaznamenán jen v jednom případě. Salivace byla výrazná ve všech případech. Teplota po aplikaci ketaminu klesá a dosahuje nejnižších hodnot mezi první a čtvrtou hodinou. Tento pokles tělesné teploty je v měřeních za 30, 60 minut a za 4 hodiny statisticky významný (obr. 1). Počet tepů po aplikaci ketaminu klesá a dosahuje nejnižších hodnot po 30 až 60 minutách. Vysoce signifikantní je pokles tepů v intervalech 10, 20, 30 a 60 minut (obr. 2). Počet dechů má podobnou dynamiku jako počet tepů, statisticky vysoce významný pokles byl zjištěn ve stejných časových úsecích jako u tepu (obr. 3). Po 24 hodinách je trias normální. Dechový objem se po aplikaci ketaminu výrazně zmenšuje



1. Průměrné hodnoty tělesné teploty v průběhu pokusu



2. Průměrné počty tepů v průběhu pokusu

3. Průměrné počty dechu a hodnoty dechového objemu v průběhu pokusu

s maximem ve 20 až 40 minutách (obr. 3). Vysoce signifikantní snížení dechového objemu bylo zjištěno od 10. do 60. minuty; za čtyři hodiny byly hodnoty na 5% hladině významnosti.

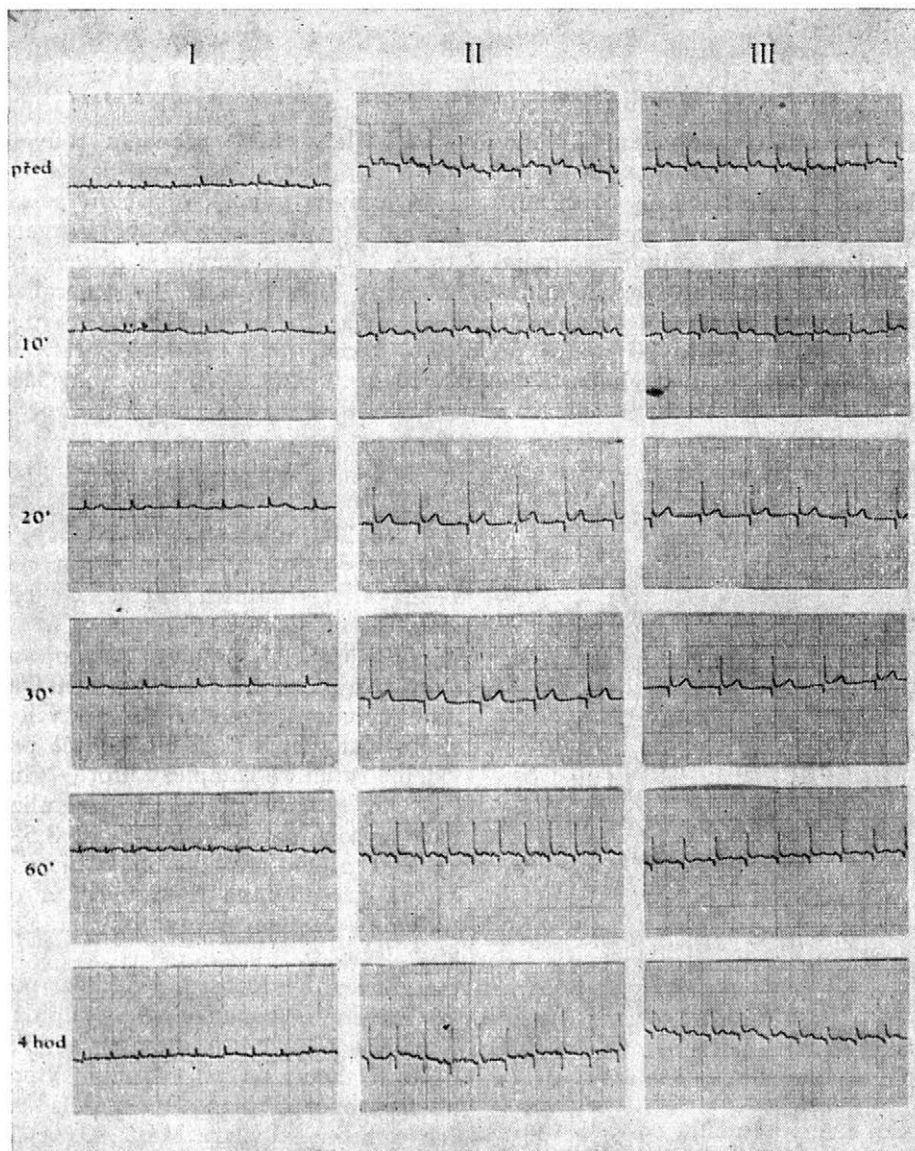
Počet erytrocytů během znecitlivění klesá, maximální pokles je ve 30 minutách, ale ani za 24 hodiny nedosahuje jejich počet hodnot před pokusem. Toto snížení erytrocytů je vysoce signifikantní ve všech měřeních, tedy ještě za 24 hodiny. Počet leukocytů mírně, statisticky nevýznamně, kolísá. V diferenciálním počtu leukocytů nedochází k výrazným změnám. Hemoglobin a hematokrit vykazují v prvních dvou měřeních po aplikaci ketaminu statisticky významný pokles, ale po čtyřech hodinách se blíží k výchozím hodnotám. Hladina glukózy výrazně stoupá, maxima dosahuje za 30 minut, po 24 hodinách je na úrovni výchozích hodnot. Vzestup hladiny glukózy je vysoce signifikantní v měřeních za 10 a 30 minut a za 4 hodiny. U GOT se projevuje přechodný vzestup na 5% hladině významnosti ve čtvrté hodině po aplikaci ketaminu, GPT má mírně vzestupnou tendenci ještě po 24 hodinách bez statistické významnosti (tab. I).

Při porovnání EKG nálezů v průběhu anestezie a po ní s výchozími záznamy bylo konstantně zjišťováno snížení vzruchů vznikajících v *nodus sinoatrialis* v měření za 10 až 60 minut. Za čtyři hodiny byl počet srdečních akcí shodný s výchozími údaji (obr. 4). Po dobu znecitlivění jsme registrovali v šesti pokusech kolísání v sinusovém rytmu a v jednom z těchto pokusů občasný sinoaurikulární blok. Dalšími nálezy v jednotlivých měřeních byly odchylky ve voltáži vln a kmitů elektrokardiografické křivky, dále v průběhu S-T segmentu a v polaritě vlny T.

Elektroencefalografické nálezy si vyžadují popis u jednotlivých případů.

#### I. Výsledky pokusů po aplikaci xylazinu s ketaminem

| Průměrné hodnoty | Erytrocyty | Leukocyty | Diferenciální počet leukocytů |     |      |     |     |
|------------------|------------|-----------|-------------------------------|-----|------|-----|-----|
|                  |            |           | Ne                            | Ty  | Ly   | Mo  | Eo  |
| Před pokusem     | 7 171 000  | 10 570    | 53,9                          | 3,2 | 35,5 | 3,4 | 4,2 |
| 10 minut         | 5 704 000  | 10 810    | 57,5                          | 3,6 | 31,9 | 3,2 | 3,8 |
| 30 minut         | 5 075 000  | 9 630     | 56,0                          | 3,1 | 32,4 | 3,8 | 4,7 |
| 4 hodiny         | 6 639 000  | 10 680    | 61,8                          | 3,5 | 27,1 | 3,5 | 4,1 |
| 24 hodiny        | 6 620 000  | 10 690    | 56,1                          | 3,1 | 39,3 | 3,4 | 4,2 |



4. Elektrokardiogramy z končetinových svodů před anestézií xylazinem a hydrochloridem ketaminu, v jejím průběhu a po ní

|  | Hemoglobin | Hematokrit | Glukóza | GOT  | GPT  |
|--|------------|------------|---------|------|------|
|  | 11,14      | 38,5       | 71,5    | 0,70 | 1,14 |
|  | 9,37       | 31,2       | 134,5   | 0,64 | 1,02 |
|  | 8,69       | 29,8       | 178,0   | 0,79 | 1,27 |
|  | 10,96      | 35,8       | 136,5   | 1,02 | 1,65 |
|  | 11,20      | 36,6       | 75,5    | 0,86 | 1,71 |



## Pokus č. 1

Kocour, 2 roky, 3,70 kg

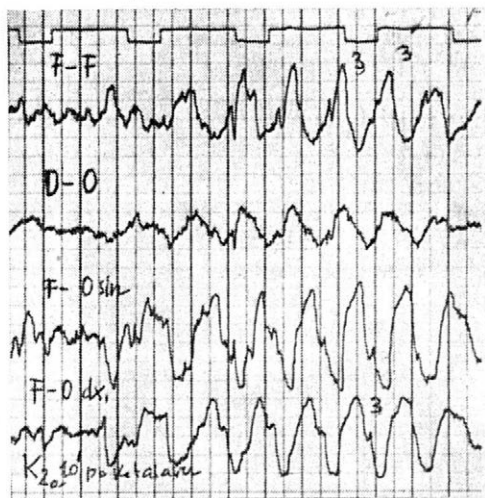
Do 20 minut po podání Rompunu trvá stále v EEG záznamu souvislá svalová aktivita.

Po podání Ketalaru za 10 minut svalová aktivita vymizí, disperzně se objeví vlny 2 až 3 cs 100  $\mu$ , které v 15. minutě vytvářejí epizody ve frekvenci 2,5 cs 150  $\mu$  a ve 25. minutě s vlnami 2 cs až 190  $\mu$ , přičemž je k některé pomalé vlně přiložen hrot. Ve 30. minutě jsou vlny 2 až 3 cs 180  $\mu$  generalizované s občasným výskytem komplexů hrot — vlna ve frekvenci 2 cs.

Závěr: Rompun do 20 minut po podání neovlivňuje podstatně graf, nemizí svalová aktivita; pod vlivem Ketalaru převažují vlny 2–3 cs v epizodách, později difúzně a v období kolem 30. minuty i nelokalizované komplexy hrot — vlna 2 cs.

## Pokus č. 2

Kočka, 1,5 roku, 2,90 kg



5. Kočka č. 2 — 10 minut po Ketalaru — vysoké strmé vlny 3 cs a komplexy hrot — vlna 3 cs

## Pokus č. 3

Kocour, 1,5 roku, 2,70 kg

Po Rompunu do 15. minuty přetrvává překrývající svalová aktivita, potom skupiny frekvencí 6 až 8 cs.

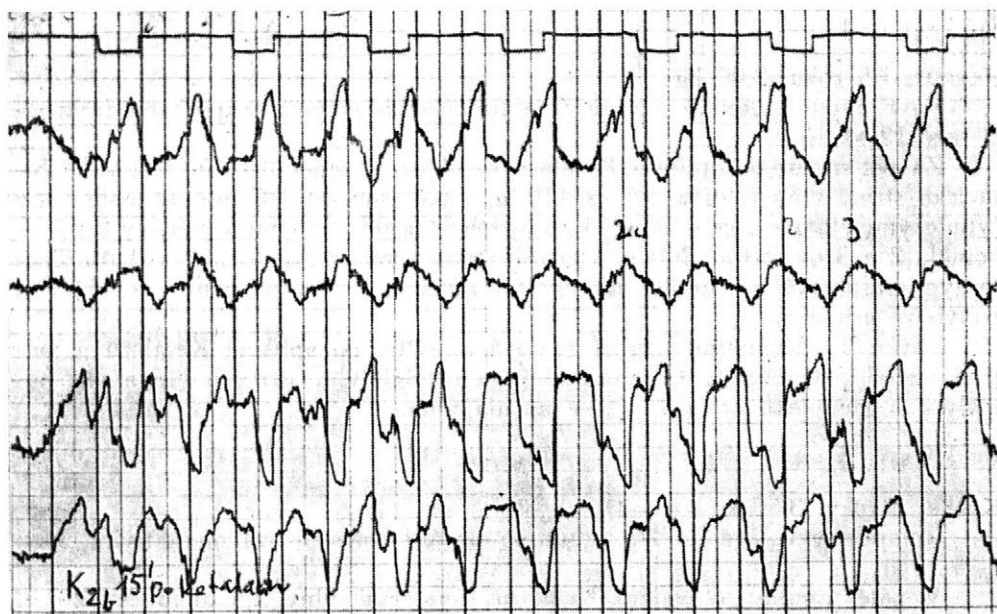
Od páté minuty po podání Ketalaru se objevují rytmické vlny 2 až 3 cs a rytmicky ostré vlny a nízké hroty, které jsou generalizované, orientované pozitivně, negativně i bifázicky. V 10. minutě se objevují navíc ještě komplexy ostrá vlna — pomalá vlna nebo hrot a vlna a skupina ostrých vln s vlnou pomalou. Taková aktivita trvá až do 45. minuty, potom převažují frekvence 6 až 15 cs, přerušované epizodami strmých vln 5 až 6 cs s oblými vlnami 3,5 cs, i komplexy ostrá — pomalá 3 cs 60  $\mu$  (obr. 7).

Ve 20. minutě po podání Rompunu se objevují v čelním svodu vlny 7–8 cs, v ostatních zapojeních převrstvující svalová aktivita.

Po aplikaci Ketalaru se objevují strmé vlny 3 až 5 cs 100  $\mu$ , v 10. minutě rytmická aktivita ze strmých a stolovitých vln 3 cs a bifrontálně pravidelné rytmické komplexy hrot — vlna. Od 35. minuty převažují generalizované vysoké strmé vlny 2,5 až 3,5 cs až 200  $\mu$ . Od 40. do 55. minuty je křivka přerušovaná typu výboj a potlačení s častými hroty ve fázi aktivity (obr. 5, 6).

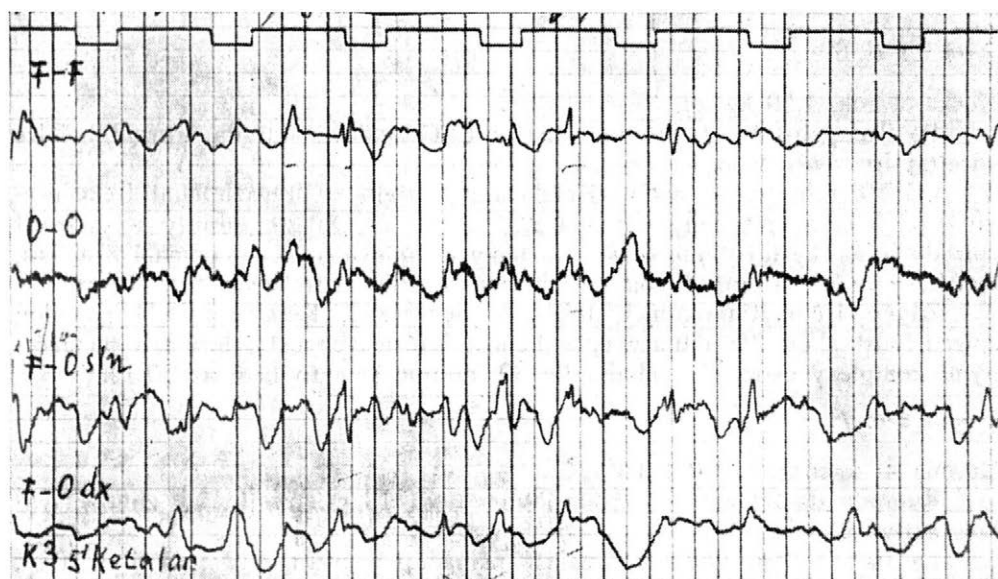
Závěr: Po Rompunu dochází pouze k nevýrazné změně, po aplikaci Ketalaru od páté minuty strmé vlny delta a theta, od 10. minuty rytmické frekvence 3 cs a bifrontální komplexy hrot — vlna. Mezi 40. a 50. minutou je křivka přerušovaná s častými hroty ve fázích aktivity.





6. Kočka č. 2 — 15. minuta po Ketalaru — vysoké rytmické strmé vlny 3 cs 2 cs s jednotlivými hroty — vlna

Závěr: Rompun vede před 20. minutou k frekvencím 6 až 8 cs. Po Ketalaru od páté minuty trvají rytmické ostré vlny, hroty a komplex ostrých vln a pomalých hrotů a vln a skupin ostrých vln s vlnou pomalou, trvající do 50 minut.



7. Kočka č. 3 — 5. minuta po Ketalaru — jednotlivé opakující se ostré vlny a hroty

#### Pokus č. 4

Kocour, 1,5 roku, 2,00 kg

Po Rompunu přetrvává svalová aktivita s občasnými skupinkami frekvencí také 12 až 15 cs.

Za pět minut po aplikaci Ketalaru se objevují generalizované rytmické bifázické strmé vlny 6 cs a 3,5 cs 110  $\mu$ , které jsou od 10. minuty nahrazeny rytmickými vlnami 2 cs a 10 a 11 cs ostrého tvaru s četnými komplexy ostrá — pomalá 2 a 3 cs 150 až 200  $\mu$ , které se metronomicky pravidelně opakují. Tento typ grafu trvá až do 35. minuty po aplikaci Ketalaru, potom se objevují pohybové artefakty.

Závěr: Po Rompunu nemizí svalová aktivita, po aplikaci Ketalaru je patrná již od páté minuty rytmická aktivita ostrých vln, strmých vln a vln pomalých a komplexů ostrá vlna — pomalá vlna.

#### Pokus č. 5

Kočka, 3 roky, 3,50 kg

Rompun vyvolává do 20 minut po podání generalizovanou aktivitu 5 až 7 cs 10  $\mu$ .

V páté minutě po podání Ketalaru jsou četné vlny 2,5 až 3 cs 120  $\mu$ , v 10. minutě přerušovaná křivka s vlnami 2 cs 250  $\mu$  ve fázi aktivity a asi dvouvteřinovými intervaly vyhasnutí elektrické aktivity. Ve 25. minutě jsou v této přerušované křivce ve fázi aktivity četné nepravidelné komplexy ostrá — pomalá 2 cs, v 50. a 55. minutě je generalizovaná rytmická aktivita hroty — vlny ve frekvenci 2 cs s největším množstvím hrot — vlna biokcipitálně a fronto-okcipitálně vlevo. Ještě v 65. minutě převažují vlny 2 až 3 cs 110  $\mu$ .

Závěr: Rompun vede ke zpomalení do pásma 5 až 7 cs, po Ketalaru se objeví do 10. minuty přerušovaná křivka, v níž je později mnoho ostrých vln a komplex ostrá vlna — pomalá vlna, které později tvoří generalizovanou aktivitu.

#### Pokus č. 6

Kočka, 1 rok, 1,50 kg

Po Rompunu do 20 minut nemizí z EEG svalová aktivita, bifrontálně lze odečítat frekvence 9 až 11 cs.

Od 10. minuty po podání Ketalaru je aktivita s převažujícími frekvencemi 4 až 5 cs a epizodami vln 3 a 3,5 cs 100  $\mu$ . Od 20. minuty se objevují epizody bifázických ostrých 8 cs a náznaky komplexů ostrá — pomalá 2 a 3 cs, zřetelné i ve 30. minutě. Potom je jich méně a přibývá frekvencí 6 až 10 cs.

Závěr: Účin Rompunu je také zde nevýrazný, Ketalar vyvolá pomalou epizodičnost a od 20. minuty epizodičnost bifázických ostrých vln s naznačenými komplexy ostrá — pomalá. Po 30. minutě je aktivita 6 až 10 cs.

#### Pokus č. 7

Kocour — kastrát, 1 rok, 2,10 kg

Rompun do 20 minut vyvolává vlny 6 až 13 cs, trvají však zbytky svalové aktivity.

Za 10 minut po aplikaci Ketalaru převažují v grafu vlny 2 až 5 cs 70  $\mu$ , od 20. minuty je naznačená, od 30. minuty zřetelná přerušovaná křivka s frekvencemi 3 a 13 cs ve fázi aktivity.

Závěr: Účin Rompunu je nevýrazný, s odečitatelnými frekvencemi alfa i theta. Ketalar vede rychle ke zpomalení do pásma 2 až 5 cs a k přerušované křivce. V tomto grafu nejsou strmé bifázické vlny, ani jiné iritační potenciály.

#### Pokus č. 8

měl nehodnotitelný záznam.

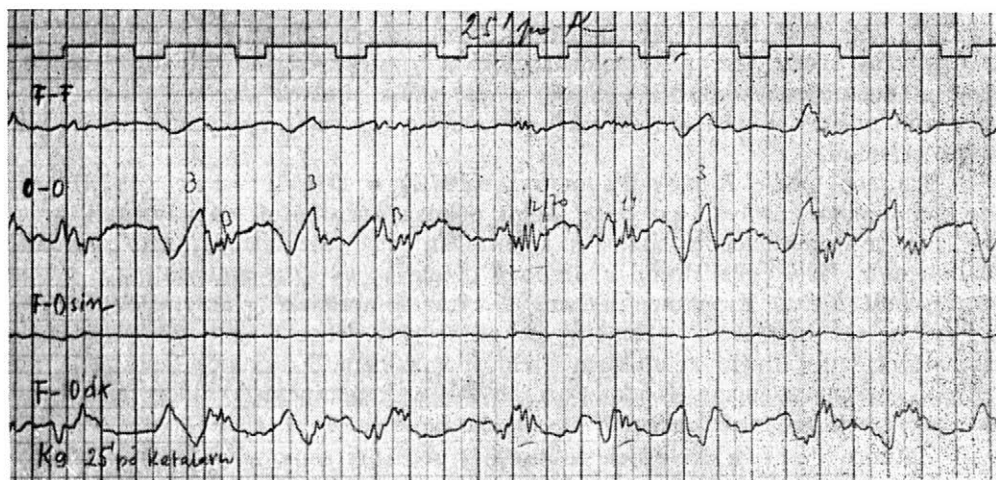
#### Pokus č. 9

Kocour, 1,5 roku, 2,70 kg

Po Rompunu do 20 minut nevymizí svalová aktivita úplně, lze však odečítat frekvence 5 až 7 cs 30  $\mu$ .

Za pět minut po podání Ketalaru se objevují vlny 1, 3 až 7 cs a synchronní nárazy vln 6 cs 100  $\mu$ , v 15. minutě, kdy převažují frekvence 2 až 3 cs, jsou spánková vřeténka 15 cs, kterých přibude ještě v 15. minutě. Od 25. do 40. minuty je rytmická aktivita ze skupin 12 až 14 cs  $\mu$  spojovaných do komplexů s vlnou pomalou 3 cs. Po 40. minutě je přerušovaná křivka (obr. 8).

Závěr: Rompun vede ke zpomalení do pásma 5 až 7 cs, i když přetrvává také nízká svalová aktivita; Ketalar po postupném zpomalení vyvolá záznam lehkého spánku s vřeténky, po němž následuje nápadná rytmická aktivita skupin ostrých vln na vlnu pomalou a potom přerušovaná křivka.



8. Kočka č. 9 — 25. minuta po Ketalaru — rytmické komplexy skupin ostrých alfa vln a pomalých vln 3 cs

#### Pokus č. 10

Kocour, 3 roky, 4,50 kg

Rompun již v 10. minutě po podání vyvolává přerušovanou křivku, v níž frekvence 3 až 5 cs 150  $\mu$  jsou odděleny dvou- až třívteřinovými pauzami elektrického klidu.

Ketalar vyvolá od 5. do 25. minuty v podélných zapojeních monorytmii 3 cs 50 až 60  $\mu$  a v dalším průběhu do 50 minut přerušovanou křivku s pauzami jedna až dvě vteřiny.

Závěr: Již po Rompunu se objevuje přerušovaná křivka, která je po Ketalaru v první fázi přerušena monorytmickými pomalými vlnami a později se znovu objevuje.

## VÝSLEDKY KLINICKÝCH ZKOUŠEK

Xylazin vyvolal ve všech případech jen velmi slabou sedaci. Ze 14 případů toliko u dvou došlo po xylazinu k vomitu. Po aplikaci ketaminu se objevily v jednom případě svalové křeče, v jednom případě slabé svalové záškuby a u jednoho zvířete slabé svalové záškuby při probouzení. Zvýšená salivace nebyla pozorována. Znečitlivění, vyhovující k operativnímu zákroku, nastupuje za tři až osm minut po aplikaci ketaminu (průměrně za 5 minut) a trvá 25 až 50 minut (v průměru 36 minut). V deseti případech bylo znečitlivění plně vyhovující, ve třech případech zvíře při bolestivém zákroku (repozice úlomků, přetětí nervů) mírně reagovalo a v jednom případě znečitlivění selhalo.

## DISKUSE

Klinický obraz znečitlivění xylazinem a ketaminem v našich pokusech odpovídá obrazu, který popisuje A m e n d a kol. (1972), A m e n d (1973) a D e V r i e s (1973). Zaznamenali jsme však poněkud delší dobu analgezie než oni a ojediněle spazmy svalstva, které tito autoři nezaznamenávají. Také ve srovnání se znečitlivěním chlorpromazinem s ketaminem (K r á l a kol. 1972) je znečitlivění ketaminem s xylazinem delší a je doprovázeno nápadně menším počtem svalových spasmů. Příznivě se uplatňuje premedikace atropinem, který tlumí nejen salivaci, ale výrazně potlačuje i zvracení, vyskytující se po podání xylazinu.

Zatímco podle A m e n d a a kol. (1972) a D e V r i e s e (1973) tep, dech a teplota zůstávají po celou dobu pokusu konstantní, zaznamenali jsme, že trias je kombinací xylazinu s ketaminem sice krátkodobě, zato výrazně ovlivněn. Zvláště počet dechů a dechový objem se výrazně zmenšují, na což je nutné brát zřetel. Zaznamenali jsme i výrazné apnoické pauzy. Podobné — i když ne tak intenzivní — změny, pokud se týče dechu a teploty, jsme zaznamenali při znečitlivění ketaminem s chlorpromazinem. Frekvence tepu měla při znečitlivění ketaminem (L a k a t o s 1972) a ketaminem s chlorpromazinem naopak vzestupnou tendenci.

Zatímco v našich dřívějších pokusech s použitím samotného ketaminu u koček (K r á l a kol. 1972) nedocházelo během ketaminové anestézie k změnám v EKG, registrovali jsme v těchto pokusech určité odchylky, které svědčí o dočasném účinku použitých látek na cirkulační ústrojí. Sinusovou arytmií a sinoaurikulární blokádu lze přičíst parasympatikomimetickému účinku xylazinu, což jsme zjistili i při jeho použití u jiných druhů zvířat (K r á l a kol. 1969, H o š e k 1974). Lze se domnívat, že další zjišťované změny v elektrokardiografické křivce budou v přímé souvislosti s objevivší se hypotermií a hypoxií.

V elektroencefalografu vidíme, že pod vlivem xylazinu lze častěji odečítat vlny z pásma alfa a theta nejspíše v bipolárním svodu, že však svalová aktivita překrývající potenciály mozkové je téměř vždy ve větší nebo menší míře přítomná. Pouze v jednom případě (kočka č. 10) bylo už po xylazinu dosaženo přerušované elektroencefalografické křivky jako známky poměrně hlubokého stadia anestézie.

Podání ketaminu vede k rychlé a velmi nápadné změně záznamů, jejichž společnými znaky u sedmi koček je výskyt strmých delta vln, ostrých vln, komplexů hrot — vlna, komplexů ostrá vlna — pomalá vlna a dokonce komplexů skupiny ostrých vln a vlny pomalé. Tato elektroencefalografická morfologie se vesměs řadí do tzv. potenciálů iritačních, resp. do tzv. morfologicky specifických epileptických grafoelementů.

Tyto zvláštní vlnové tvary se nevyskytovaly pouze u koček č. 7 a č. 10, u nichž však byla po ketaminu přerušovaná křivka; u kočky č. 10 byla nápadná přechodná monorytmie vln 3 cs v podélných zapojeních, tedy také hypersynchronní, vlastně iritační projev.

Už z prací Kuglera a kol. (1969) a Szappanyose a kol. (1969) je známo, že Ketalar vyvolává výboje hrotů a vln. Podle posledně jmenovaného jsou zejména nad centrální krajinou, a to v počáteční fázi anestezie. Kugler a kol. (1969) dokonce našel bisynchronní komplexy pomalých a strmých vln u zdravých lidí. Tento obraz mu připomíná akutní, toxické encefalózy. Dürr a Kraft (1971), Beck a kol. (1971) a Král a kol. (1972) zjistili, že znecitlivění ketaminem u koček doprovází v určitém počtu případů zvýšený svalový tonus až svalové křeče. Amend a kol. (1972), DeVries a kol. (1973) a Amend (1973) udávají, že tyto stavy hypertonu svalového je možné odstranit premedikací xylazinem. Na základě elektroencefalogramů se zdá, že k potlačení spasmů při kombinaci xylazinu s ketaminem dochází jen na základě myorelaxačního účinku xylazinu.

V krevním obraze jsou změny přechodné a odpovídají změnám, které nacházíme v průběhu každého celkového znecitlivění. Reversibilitnost těchto změn svědčí o tom, že při tomto znecitlivění se nepoškozuji parenchymatózní orgány.

## Literatura

- AMEND J. F., KLAIVANO P. A., STONE E. C., 1972, Premedication with Xylazine to eliminate muscular hypertonicity in cat during ketamine anaesthesia. *Vet. Med. — Small Anim. Clin.* 67 : 1305-1307.
- AMEND J. F., 1973, Rompun® (Bay Va 1470): Eine wirksame Vorbehandlung zur Narkose mit Ketamine bei der Katze. *Vet. Med. Nachr. — Bayer L* : 131-133.
- BECK C. C., COPPOCK R. W., OTT B. S., 1971, Evaluation of Vetalar (Ketamine HCl). A unique Feline Anesthetic. *Vet. Med. — Small Anim. Clin.* 66 : 993-997.
- CORSSEN G., MIYASAKA M., DOMINO E. F., 1969, Dissociative Anesthesia mit Ketamine (CI-581). In: *Anaesthesiologie und Wiederbelebung*, Springer Verlag, Berlin, 40 : 64-69.
- DEVRIES H. W., HENDRIKS H. I., ANTONISSE H. W., 1973, Comparative Studies on the action of various sedatives and anaesthetics which can be administered to cats by intramuscular and subcutaneous injection with special reference to change in the pH, CO<sub>2</sub> and Base Excess levels of the venous blood. *Tijdschr. Diergeneesk.* 98 : 1215-1225.
- DÜRR U. M., KRAFT W., 1971, Die Anwendung von Ketamin-hydrochlorid („Ketanest“) zur Ruhigstellung von Katzen. *Tierärztl. Umsch.* 26 : 402-404.
- GUSTAFSON BEAVER B. V., KLEMM W. R., 1973, Elektroencefalograms of Normal Anesthetised Cats. *Am. J. vet. Res.* 34 : 1441-1447.
- HOMOLKA J., 1969, Klinické biochemické vyšetřovací metody s použitím mikro-ultramikroanalýzy. SZN, Praha : 438 s.
- HOŠEK K., 1974, Znecitlivění xylazinem u skotu — elektrokardiografická vyšetření. Referát na XIX. studentské vědecké konferenci, VŠV Brno.
- HRUBÍŠKO M., HULLE V., 1966, Hematologia a transfúzia krvi. (1. Hematológia.) Bratislava.
- KRÁL E., NEMEČEK L., PAVLICA J., 1969, Použití přípravku Rompun® v chirurgii koně. *Vet. Med. (Praha)* 14, 9 : 531-542.



- KRÁL E., NĚMEČEK L., PAVLICA J., 1972, Disociační anestézie ketaminem u koček. *Vet. Med. (Praha)* 17, 9 : 545-550.
- KRÁL E., NĚMEČEK L., PAVLICA J., ROZTOČIL V., 1973, Anestézie hydrochloridem ketaminu u psů. *Vet. Med. (Praha)* 18, 7 : 397-408.
- KUGLER J., DOENICKE A., LAUB M., KLEINERT M., 1969, Elektroencephalografische Untersuchungen bei Ketamine und Methohexital. I.: Anaesthesiologie und Wiederbelebung, Springer-Verlag, Berlin, 40 : 101-109.
- LAKATOS L., 1972, Klinische und physiologische Untersuchungen mit Ketalar® zur Anaesthesia und Sedation von Katzen. Diss. Zürich.
- SZAPPANYOS G., BEAUMANOIR A., GEMPERLE G., GEMPERLE M., MORET P., 1969, The Effect of Ketamine (CI-581) on the Cardiovascular and Central Nervous system. In.: Anaesthesiologie und Wiederbelebung, Springer-Verlag, Berlin, 40 : 70-92.

Došlo dne 3. 5. 1974

КРАЛ Э., НЕМЕЧЕК Л., РОЗТОЧИЛ В., ШЕВЧИК Ф. (Ветеринарный институт, Брно, Чехословакия). Анестезия с помощью ксилазина и гидрохлорида кетона у кошек. *Vet. Med. (Praha)* 19 (11) : 693-705, 1974.

Ксилазин в дозе 0,5 мг кг<sup>-1</sup> ж. в. в 0,20% растворе ин м. вызывает слабое водоотолечение. Одновременная дача атропина в дозе 0,1 мг кг<sup>-1</sup> ж. в. подавляет рвоту и потуги, вызываемые ксилазином. Кетамин, введенный спустя 20 мин после дачи ксилазина в дозе 20 мг кг<sup>-1</sup> ж. в. в 50%-м растворе ин м., как правило через 5—8 мин вызывает полную потерю чувствительности, продолжающуюся 25—50 мин. В течение этого времени понижаются температура тела, частота пульса и (сильно) частота и объем дыхания, количество эритроцитов и лейкоцитов сокращается, дифференциальное количество лейкоцитов существенно не меняется. Гемоглобин и гематокрит в ходе первых 2 измерений после введения кетамин сокращаются, но по истечению 24 ч приближаются к норме. Уровень глюкозы после дачи кетамин заметно возрастает, но уже при измерении спустя 4 ч падает, и через 24 ч становится нормальным. GOT временно возрастает спустя 4 ч после кетамин, а GPT слабо растет и по истечению 24 ч. Во время анестезии отклонения большинства изучаемых величин статистически значимы. Изменения электрокардиограммы — снижение возмущений в *nodus sinuatrialis*, колебания синусного ритма, отклонение вольтажа волн и циклов EKG кривой, изменения хода S-T сегмента и полярности волны Т, которые не отмечены у самого кетамин, — можно отнести за счет парасимпатикомиметического действия ксилазина, гипотермии и гипоксии. В записи электроэнцефалограммы появляется ирритационная эпилептическая активность. С точки зрения EEG, следовательно, ксилазин не защищает в приведенной дозе мозговую активность от патологических ирритационных атак, вызванных кетамин. Поэтому их клиническое исчезновение следует приписывать лишь миорелаксационному действию ксилазина.

общая анестезия; ксилазин; гидрохлорид кетамин; пульс; дыхание; температура; спирометрия; картина крови; глюкоза; трансаминазы; EKG; EEG; кошка

KRÁL E., NĚMEČEK L., ROZTOČIL V., ŠEVČÍK F. (University School of Veterinary Medicine, Brno, Czechoslovakia). *Xylazine and Ketamine Hydrochloride Anaesthesia in Cats*. *Vet. Med. (Praha)* 19 (11) : 693-705, 1974.

Xylazine applied in the dose of 0.5 mg kg<sup>-1</sup> l. w. in a 0.2% solution applied intramuscularly causes only slight sedation. Simultaneous application of atropine in the dose of 0.1 mg kg<sup>-1</sup> l. w. suppresses vomitus and emetic effects evoked by xylazine. Ketamine applied 20 minutes after the application of xylazine in the dose of 20 mg kg<sup>-1</sup> l. w. intramuscularly evokes (after five to eight minutes, as a rule) general and complete anaesthesia lasting 25 to 50 minutes. During this anaesthesia, body temperature and pulse rate drop, and respiration rate and volume show a considerable decrease. The erythrocyte and leucocyte counts decrease in anaesthesia. No greater changes occur in the differential leucocyte count. Hemoglobin and hematocrit show a decrease in the first two measurements after application, yet after 24 hours they get close to the normal levels. Glucose level shows a high increase after ketamine application; however, it decreases already in the measurement performed four hours after ketamin application and reaches a normal



value after 24 hours. While GOT exhibits a transient increase in the fourth hour after ketamine application, GPT increases slightly even after 24 hours. In a majority of the values studied, the deviations were statistically significant in the course of anaesthesia. The changes in electrocardiogram (reduction of excitations in *nodus sinuatrialis*, fluctuation in the sinus rhythm, deviation in the voltage and oscillation of the ECG curve, changes in the course of the S-T segment and in the polarity of the T wave which were not observed after the application of ketamine alone) are ascribed to parasympathomimetic effect of xylazine, to hypothermia and hypoxia. Irritating epileptic activity occurs in the electroencephalogram. Judging from the EEG, xylazine applied in the mentioned dose does not protect brain activity against pathological irritating impulses caused by ketamine. Their clinical extinction, therefore, must be attributed only to the myorelaxation effect of xylazine.

general anaesthesia; xylazine; ketamine hydrochloride; pulse; respiration; temperature; spirometry; blood picture; glucose; transaminases; ECG; EEG; cat

KRÁL E., NĚMEČEK L., ROZTOČIL V., ŠEVČÍK F. (Veterinärmedizinische Hochschule, Brno, Tschechoslowakei). *Anästhesie bei Katzen mit Hilfe von Xylazin und Ketaminhydrochlorid*. Vet. Med. (Praha) 19 (11): 693-705, 1974.

Das Xylazin in Dosen von 0,5 mg kg<sup>-1</sup> Lebendgewicht in 0,2 prozentiger Lösung *i. m.* löst eine nur geringe Sedation aus. Die gleichzeitige Applikation von Atropin in Gaben von 0,1 mg kg<sup>-1</sup> Körpergewicht verhindert Erbrechen und Erbrechenreiz, den Xylazin hervorruft. Das in 20 Minuten nach Xylazinapplikation in Dosen von 20 mg kg<sup>-1</sup> Lebendgewicht in fünfprozentiger Lösung *i. m.* angewandte Ketamin löst in der Regel in fünf bis acht Minuten eine allgemeine vollständige Anästhesie aus, die 25 bis 50 Minuten andauert. Während derselben nimmt die Körpertemperatur, die Pulsfrequenz und ausgeprägt auch die Atemfrequenz und das Atemvolumen ab. Während der Anästhesie verringert sich die Anzahl der Erythrozyten und Leukozyten, aber in der Leukozytendifferenzialzahl kommt es zu keinen wesentlichen Veränderungen. Das Hämoglobin und der Hämatokrit weisen bei den ersten zwei Messungen nach der Ketaminapplikation eine Abnahme auf, aber nach 24 Stunden nähern sie sich den Normalwerten. Das Glukoseniveau erhöht sich nach der Ketaminapplikation ausgeprägt, aber bereits bei den Messungen in vier Stunden nach der Applikation nimmt das Niveau ab, so daß es in 24 Stunden normal ist. Während GOT in der vierten Stunde nach der Ketaminapplikation eine vorübergehende Erhöhung aufwies, zeigt GPT eine mäßig ansteigende Tendenz noch nach 24 Stunden. Die Abweichungen waren bei der Mehrzahl der untersuchten Werte im Verlaufe der Anästhesie statistisch unsignifikant. Die Veränderungen im Elektrokardiogramm — Herabsetzung der Exzitationen im *nodus sinuatrialis*, Schwankungen des Sinusrhythmus, Abweichung in der Wellen- und Schwingungsvoltage der EKG-Kurve, Veränderungen im Verlaufe des S-T-Segments und in der T-Wellenpolarität, die wir beim selbstständigen Ketamin nicht verzeichneten, — schreiben wir der parasympathikomimetischen Xylazinwirkung, der Hypothermie und Hypoxie zu. Auf dem Elektroenzephalogramm zeigt sich eine epileptische Irritationsaktivität. Vom Gesichtspunkt des EEG schützt demnach das Xylazin in der angeführten Dosis die Hirnaktivität vor pathologischen, vom Ketamin ausgelösten Irritationen nicht. Das klinische Verschwinden derselben ist nur der Myorelaxationswirkung des Xylazins zuzuschreiben.

allgemeine Anästhesie; Xylazin; Ketaminhydrochlorid; Puls; Atem; Temperatur; Spirometrie; Blutbild; Glukose; Transaminasen; EKG; EEG; Katze

---

*Adresa autorů:*

Prof. MVDr. E. Král, MVDr. L. Němeček, CSc., doc. MVDr. V. Roztočil, CSc., MVDr. F. Ševčík, Vysoká škola veterinární, Palackého 1-3, 612 42 Brno

**Výběr z nových přírůstků  
Ústřední zemědělské a lesnické knihovny ÚVTI  
z úseku veterinární medicína**

Uvedené publikace je možno si zapůjčit osobně nebo písemně v ÚZLK, výpůjční oddělení, 120 56 Praha 2, Slezská 7. Výpůjční doba: pondělí až pátek od 9 do 18 hodin. U každé žádané publikace uveďte signaturu.

GIESECKE, D. — HENDERICKX, H. K. D 62.933

**Biologie und Biochemie der mikrobiellen Verdauung.** München, BLV Verlagsgesellschaft 1973. 373 s. obr. tab. (Bachor — trávení — mikroorganismy — biologie a biochemie — příručka)

EIDMANN, W. E 33.351/411

**Untersuchungen zur Kohlendioxid-Belastbarkeit des Huhnes.** Inaug. Diss. d. Justus-Liebig-Universität Giessen. Giessen, Inst. für Veterinärphysiologie 1973. 52 s. obr. (Slepice — nosnice — uhličitý kyslíčník — koncentrace — vliv — výzkum — NSR — disertační práce)

LALOV, Ch. Ch. E 28.943/1973/32

**Smuštjenja v metabolizme na mangan, jod, med i molibden pri promišlenoto otgleždane na selskostopanski životni.** (Obzor). Sofija, SSA „G. Dimitrov“ 1973. 139 s. tab. (Látková přeměna — stopové prvky — hospodářská zvířata — chov velkokapacitní — vztahy — studijní zpráva — Bulharsko)

VASENIUS, L. D 62.398

**Development of rat strain adapted to metabolize erucic acid.** Helsinki, Coll. of veterinary medicine 1973. 64 s. 4 obr. 17 tab. (Kyselina eruková — látková přeměna — krysy — výzkum — Finsko)

KAMPEN, M. van D 62.956

**Energiemetabolisme en warmteregeling van de witte leghorn hen.** Proefschrift aan de Rijksuniversiteit te Utrecht. (Souhrn angl.) Utrecht, n. vl. 1973. 85 s. obr. tab. (Energetická přeměna — slepice — plemena — leghornky bílé — výzkum — Holandsko — disertační práce)

HARTMAN, W. D 62.366

**The outlet in female goats.** Utrecht, Morbée en van Belt 1973. 96 s. 59 obr. (Kozy — svaly pánevní — výzkum — Holandsko)

|                                                                                                                                                                   |     |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| Holub A.: Naše veterinární medicína a veterinární vědy v RVHP . . . . .                                                                                           | 647 |
| Sádecký E., Brezina R., Michalovič M.: Imunizácia hovädzieho dobytku proti Q horúčke . . . . .                                                                    | 653 |
| Lešník F., Pavlák M., Vrtiak O. J.: Patologicko-morfologické vlastnosti izolátu D-2 Markovej choroby na niektorých bunkových kultúrach aviárneho pôvodu . . . . . | 661 |
| Hofman J., Bartoš S., Emanuel L.: Utilizace glukózy a změny v koncentraci těkavých mastných kyselin u kůzlat během prvních pěti měsíců života . . . . .           | 667 |
| Itze L., Arendarčík J., Marossy A., Mareček I., Halagan J.: Účinek syntetického LH-RH a L-Dopa na hladinu LH u aestrálních oviéc . . . . .                        | 677 |
| Lukášová J., Sluková M.: Vliv nízké teploty na průběh růstové křivky kmene <i>Staphylococcus aureus</i> . . . . .                                                 | 687 |
| Král E., Němeček L., Roztočil V., Ševčík F.: Znečitlivění xylazinem a hydrochloridem ketaminu u koček . . . . .                                                   | 693 |

## СОДЕРЖАНИЕ

|                                                                                                                                                                    |     |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| Голуб А.: Наша ветеринария и ветеринарные науки в СЭВ . . . . .                                                                                                    | 647 |
| Садецки Э., Брезина Р., Михалович М.: Иммунизация крупного рогатого скота против горячки Ку . . . . .                                                              | 659 |
| Лешник Ф., Павлак М., Вртиак О. И.: Патолого-морфологические свойства изолята Д-2 болезни Марека на некоторых клеточных культурах птичьего происхождения . . . . . | 665 |
| Гофман Й., Бартош С., Эмануел Л.: Утилизация глюкозы и изменения концентрации жидких жирных кислот у козлят в течение первых 5 месяцев жизни . . . . .             | 673 |
| Итце Л., Арендарчик Й., Маросси А., Марачек И., Халаган Й.: Воздействие синтетического LH-RH и L-Dopa на уровень LH анэстральных овец . . . . .                    | 684 |
| Лукашова Й., Слукова М.: Влияние низкой температуры на ход кривой роста штамма <i>Staphylococcus aureus</i> . . . . .                                              | 692 |
| Крал Э., Немечек Л., Розточил В., Шевчик Ф.: Анестезия с помощью ксилазина и гидрохлорида кетона у кошек . . . . .                                                 | 704 |



## CONTENT

|                                                                                                                                                                    |     |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| Holub A.: Our Veterinary Medicine and Veterinary Sciences in COMECON                                                                                               | 647 |
| Sádecký E., Brezina R., Michalovič M.: Immunization of Cattle against Q-Fever                                                                                      | 660 |
| Lešník F., Pavlák M., Vrtiak O. J.: Pathological-Morphological Characteristics of the D-2 Isolate of Fowl Paralysis on Some Cell Cultures of Avian Origin          | 666 |
| Hofman J., Bartoš S., Emanuel L.: The Utilization of Glucose and Changes in the Concentration of Volatile Fatty Acids in Kids During the First Five Months of Life | 674 |
| Itze L., Arendarčík J., Marossy A., Mareček I., Halagan: The Effect of Synthetic LH-RH and L-Dopa on the Level of LH in Anoestral Sheep                            | 685 |
| Lukášová J., Sluková M.: The Effect of Low Temperature on the Course of the Growth Curve in Strains of <i>Staphylococcus aureus</i>                                | 692 |
| Král E., Němeček L., Roztočil V., Ševčík F.: Xylazine and Ketamine Hydrochloride Anaesthesia in Cats                                                               | 704 |

## INHALT

|                                                                                                                                                                     |     |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| Holub A.: Unsere Veterinärmedizin und Veterinärwissenschaften in RGW                                                                                                | 647 |
| Sádecký E., Brezina R., Michalovič M.: Immunisierung von Rindern gegen Q-Fieber                                                                                     | 660 |
| Lešník F., Pavlák M., Vrtiak O. J.: Pathologisch-morphologische Eigenschaften des D-2-Isolats der Marek'schen Hühnerlähme auf einigen Zellkulturen aviärer Herkunft | 666 |
| Hofman J., Bartoš S., Emanuel L.: Glukoseutilisierung und Veränderungen der Konzentration flüchtiger Fettsäuren bei Zicklein in den ersten fünf Lebensmonaten       | 674 |
| Itze L., Arendarčík J., Marossy A., Mareček I., Halagan J.: Wirkung des synthetischen LH-RH und L-Dopa auf das LH-Niveau bei anöstralen Schafen                     | 685 |
| Lukášová J., Sluková M.: Einfluß niedriger Temperaturen auf den Verlauf der Wachstumskurve von <i>Staphylococcus-aureus</i> -Stämmen                                | 692 |
| Král E., Němeček L., Roztočil V., Ševčík F.: Anästhesie bei Katzen mit Hilfe von Xylazin und Ketaminhydrochlorid                                                    | 704 |