

VĚDECKÝ ČASOPIS



VETERINÁRNÍ MEDICÍNA

4

ROČNÍK 21 (XLIX)
PRAHA
DUBEN 1976
CENA 10 Kčs

ČESKOSLOVENSKÁ AKADEMIE ZEMĚĚLSKÁ
ÚSTAV VĚDECKOTECHNICKÝCH INFORMACÍ
PRO ZEMĚĚLSTVÍ

VETERINÁRNÍ MEDICÍNA

Rídí 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 Václavičková

© Ústav vědeckotechnických informací pro zemědělství,
Praha 1976

■
Vědecký časopis VETERINÁRNÍ MEDICÍNA uveřejňuje stu-
die, rozbory a vědecká pojednání o vyřešených úkolech vý-
zkumu z oboru veterinární medicíny. Vydává Ústav vědecko-
technických informací pro zemědělství. Vychází měsíčně. Re-
dakce: 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. Издает Институт
научно-технической информации по сельскому хозяйству. 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 for Agriculture. 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 Information der Landwirt-
schaft. Erscheint monatlich. Redaktion 120 56 Prag 2, Slez-
ská 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 pour l'agriculture. Paraît une fois par
mois. Rédaction 120 56 Prague 2, Slezská 7.

PROTEINEMIE U MLADÉHO SKOTU V PRŮBĚHU NUTRIČNÍ SVALOVÉ DYSTROFIE

J. Kursa

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

KURSA J. *Proteinemie u mladého skotu v průběhu nutriční svalové dystrofie.* Vet. Med. (Praha) 21 (4) :195-200

Vznik a průběh enzootické nutriční svalové dystrofie, postihující v jarních měsících mladý skot po jeho přesunu ze stájí na pastviny, byl provázen zřejmým sklonem k dysproteinemiím. U klinicky nemocných zvířat došlo k poklesu celkové bílkoviny v krevním séru a k výrazným změnám v bílkovinném spektru. Ve srovnání s nálezy u souboru klinicky zdravých kontrol vykazovala zvířata s „chorobou bílých svalů“ depresi albuminů se současným vzestupem alfa- a beta-globulinů a poklesem gama-globulinů.

vitamin E; selén; bílkoviny; albuminy; globuliny; choroby

Klinická laboratorní diagnostika nutriční svalové dystrofie (NSD) se soustřeďuje jednak na postižené predilekční orgány (svaly, myokard) a v nich probíhající patologické procesy, jednak věnuje pozornost vyšetřování krve, moče a dalších biologických materiálů.

Bílkoviny krevní plazmy u telat s NSD studovali Palliola a Guarda (1956). Zjistili vzestup alfa- a beta-globulinů a pokles gama-globulinů. Wiesner aj. (1970) kromě tohoto nálezu uvádějí pokles celkové bílkoviny v krevním séru. Podobné změny určil u jehňat s NSD Titov (1961). Gdovin aj. (1967) naopak v hodnotách celkové bílkoviny nemocných jehňat nezjistili podstatné rozdíly; elektroforeogramy jejich pacientů vykazovaly vyšší hodnoty albuminů.

MATERIÁL A METODA

Vliv NSD na proteinemii byl sledován u mladých jalovic českého červenostrakatého plemene, prodávajících spontánně vzniklé onemocnění. Pocházely z různých chovů na okresech Prachatic a Český Krumlov. Předložená práce je dílčím úsekem dlouhodobého výzkumu nutriční svalové dystrofie, který je realizován s účastí a podporou České státní pojišťovny, oblastního závodu v Českých Budějovicích. Studium NSD, jejíž výskyt je u mladého skotu vázán na sezónní zahájení jarního výpasu, zahrnovalo komplexní sledování, o jehož výsledcích jsme referovali dříve (Kursa, 1974a, b).

Ze vzorků krve nemocných kusů, získaných punkcí v. jugularis, bylo po 24 hodinách oddělováno krevní sérum. Celková bílkovina v něm byla

určována nesslerizací (Hořejší, 1957), bílkovinné frakce papírovou elektroforézou (Hrabáně, 1957). Pro srovnání byla stanovena proteinemie u klinicky zdravých zvířat. Od ledna do května byly biochemicky vyšetřovány 24 jalovice ve věku 6 až 18 měsíců na farmě Křišťanov a stejně velká skupina na farmě Miletínky. Krmná dávka na obou farmách byla složena z 5 až 7 kg sena, 13 až 18 kg travní siláže a 0,7 až 1,0 kg jaderného krmiva.

Nálezy byly statisticky vyhodnoceny t-testem podle Studenta při použití hodnot $\bar{x}$ (aritmetický průměr skupiny nemocných zvířat), y (aritmetický průměr skupiny mladého skotu klinicky zdravého), s_x a s_y (směrodatné odchylky skupin).

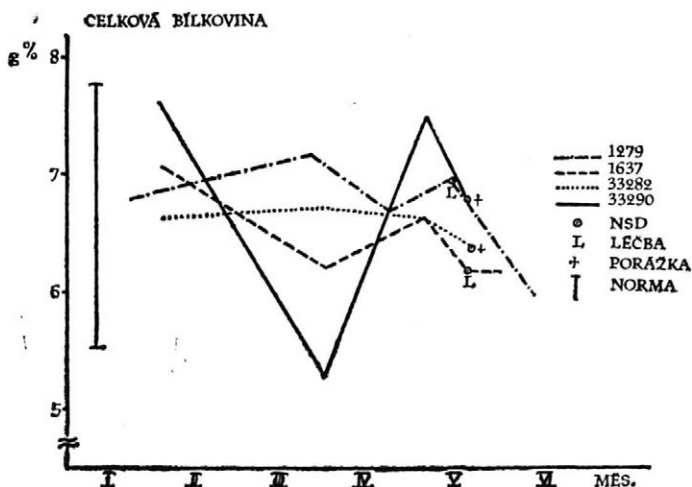
VÝSLEDKY

Výsledky pokusů shrnuje tab. I; dynamika proteinemie u čtyř pacientů s NSD je zachycena na obr. 1.

I. Statistické zhodnocení rozdílů hladiny celkové bílkoviny, albuminů, alfa-, beta- a gama-globulinů u mladého skotu s nutriční svalovou dystrofií a u zvířat klinicky zdravých

	NSD			Klinicky bez příznaků nemoci			Statistické zhodnocení
	n	$\bar{x}$	s_p	n	y	s_a	
Celková bílkovina (g%)	34	6,33	0,69	48	6,92	0,43	++
Albuminy (%)	36	39,55	4,20	47	45,45	4,46	++
Alfa-globuliny (%)	36	18,98	1,95	47	14,25	1,52	++
Beta-globuliny (%)	36	18,28	2,92	47	14,00	3,82	++
Gama-globuliny (%)	36	23,16	3,43	47	26,29	5,28	++

++ = statistický rozdíl mezi soubory vysoce průkazný ($P = 0,01$)



1. Individuálně sledované změny celkové bílkoviny v krevním séru u zvířat před onemocněním nutriční svalovou dystrofií (I—IV), v průběhu onemocnění (V) a v době léčby (VI)

Vznik a průběh NSD u mladého skotu se zřetelně odrazil ve skladbě bílkovin krevního séra. Zatímco u zdravých jedinců dosahovala celková proteinemie 6,92 g %, došlo u klinických pacientů k jejímu mírnému poklesu a k výrazným změnám v bílkovinném spektru. Ve srovnání s nálezy získanými u souboru kontrolních zvířat zaznamenaly elektroforeogramy nemocných kusů depresi albuminů se současným vzestupem alfa- a beta-globulinů.

DISKUSE

Úroveň celkové proteinemie u zdravých jedinců je možné pokládat podle Hojovcové (1966), Piskače (1964) a Konráda aj. (1970) vzhledem k věku zvířat a s přihlédnutím k chovatelským podmínkám za odpovídající. Statisticky významný pokles celkové bílkoviny u našich pacientů s NSD potvrzuje nález Titova (1961) a údaj Wiesnera aj. (1970). Depresivní labilita celkové krevní bílkoviny dosáhla vyšší úrovně než uvádějí u stejné kategorie zvířat s NSD Vrzgula aj. (1972). Souvisí zřejmě s destrukčními procesy ve svalovině a s proteinurií. V narušeném metabolismu bílkovin se dále kromě omezeného alimentárního přísunu proteinů mohl odrazit i nepříznivý vliv chorobného procesu; ve stadiu stressu se v živočišném organismu uplatňuje hyperaktivita kory nadledvinek ketabolicky prostřednictvím glykokortikoidů, které zejména inhibují syntézu bílkovin v periferních tkáních (Kóňa, 1970).

Samostatnou otázkou, kterou můžeme spojovat s předpokládanou karciní stopového prvku selénu a vitamínu E, je postavení obou těchto faktorů v intermediárním metabolismu bílkovin. Schwarz (1964), kterému přísluší priorita ve studiu fyziologického významu selénu, zastává názor, že jak tokoferol, tak i selén nezávisle na sobě kromě jiných metabolických systémů ovlivňují také proteosyntézu. Z tohoto hlediska je zajímavé kolísání celkové bílkoviny, které vyjadřují individuální výsledky průběžné kontroly (obr. 1). Zatímco skupinové průměry celkové bílkoviny nejsou příliš variabilní, zaznamenávají křivky proteinemie jednotlivých zvířat, která později onemocněla NSD, značné kolísání (jalovice č. 33290). S odvoláním na Schwarzovy závěry je možné se domnívat, že tyto výkyvy v hladinách celkové bílkoviny, předcházející vzniku onemocnění, měly v pozadí společný kauzální faktor.

Nelze také přehlédnout, že biochemicky zjišťovaná proteinemie zcela nevyjadřuje stav bílkovin celého organismu. Podle Homolky (1969) si organismus dlouho udržuje v plazmě příznivý vztah, aby nedošlo k poruchám v této transportní cestě. Autor uvádí, že pokles bílkovin v plazmě odpovídá asi 25 až 30násobku poklesu ve tkáních a že hladinu ztráty je nutné vyhodnocovat přísněji, jsou-li u pacientů naznačeny příznaky dehydratace.

Paralelní změny v bílkovinných frakcích jsou v souladu s dřívějšími poznatky o NSD u telat (Palliola a Guarda, 1956). S výsledky Gdovina aj. (1967) u jehňat se shoduje pouze vyšší hladina alfa-globulinů, v hladinách albuminů jsou výsledky protikladné. Zajímavé je srovnání s údaji Tureena aj. (1968), kteří u kuřat s NSD rovněž zjistili pokles albuminů a vzestup beta-globulinů. Rozdílný nález uvádí Oksa-

nen (1965), který zaznamenal u mladého skotu s NSD vzestup alfa- a pokles beta-globulinů.

Nápadný pokles albuminové frakce mění u pokusných zvířat poměr albuminů a globulinů. Jestliže u klinicky zdravých kusů A/G kvocient činil 0,83, zůžil se u souboru s klinickými formami „choroby bílých svalů“ na 0,65. Pokles albuminu v krevním séru, provázející sklon k hypoproteinemii, může být důsledkem inhibice jeho produkce v játrech, ale také výsledkem rychlejšího katabolismu (Kóňa, 1970). Tžž autor uvádí, že také avitaminózy — karence vitamínu A, C, B₁₂, ale i tokoferolu — mají většinou za následek pokles sérového albuminu. Poslední údaj je aktuální vzhledem k účasti tokoferolových deficiencí v etiologii NSD. Pokles albuminu a celkové bílkoviny prokázali při experimentální karenci vitamínu E u kachen Paulov a Demers (1970).

Zaznamenaný charakter dysproteinemie s poklesem albuminové frakce dílčím způsobem koreluje s klinickým obrazem i patologií NSD (edémy postižených svalových skupin, transsudace — porucha permeability potencionovaná poklesem albuminu) a s některými biochemickými nálezy. Svou úlohu má také sérový albumin jako nosič malých i velkých iontů vápníku a hořčiku; u nemocných kusů hladina obou prvků klesá (Kursa, 1974).

Příčinu vzestupu alfa-globulinů spatřujeme nejen v rozsáhlé destrukci svalové tkáně (Kóňa, 1970), ale i v současně zjišťovaném poklesu cholesterolu (Homolka, 1969).

Poklesu gama-globulinové frakce dílčím způsobem odpovídá působení glykokortikoidů na lymfatickou tkáň, protože tato složka bílkovinného spektra se převážně syntetizuje v extrahepatálních tkáních RES a lymfatického systému. Na vývoji proteinemie s depresí gama-globulinů se jistě také uplatňuje proteinurie, kterou jsme u pacientů s NSD zjišťovali často. Tento výklad, vycházející z názorů Homolky (1969), je potvrzován současnou elevací alfa- a gama-globulinů.

Literatura

- GDOVIN, T. — VRZGULA, L. — BARTKO, P.: K terapii a profylaxii myodystrofie jahniat. Veterinářství, 17, 1967, s. 168-170.
- HOJOVCOVÁ, M.: Protein spectrum and total protein of cattle in different physiological conditions. Communication I. The effect of age and breed on blood proteins in cattle. Sb. VŠZ Brno, řada B: Spisy fak. vet., 19, 1966, s. 457-561.
- HOMOLKA, J.: Klinická biochemie. Indikace a interpretace u dospělých a dětí. Stát. zdravot. nakl., Praha 1969.
- HOREJŠÍ, J. aj.: Bílkoviny krevní plazmy. Stát. zdravot. nakl., Praha 1956.
- HRABÁNEJ, J. aj.: Technika a metodika v lékařské biochemii. Stát. zdravot. nakl., Praha 1957.
- KÓŇA, E.: Metabolismus. In: LEBEDA, M. aj.: Patologická fyziologie hospodářských zvířat. II. díl. Ediční středisko VŠZ, Brno 1970.
- KONRÁD, J. — KROUPOVÁ, V. — PUMPR, V. — SVOBODA, L. — KURSA, J.: Výzkum vlivu horského a podhorského prostředí na fyziologii a patofyziologii velkých populací skotu. Etapa: Studium některých biochemických ukazatelů a možnosti jejich využití ve veterinární a chovatelské praxi. [Dílčí závěrečná zpráva výzk. úkolu č. A-01-41-22/2.] PEF VŠZ, České Budějovice, VŠV, Brno 1970.
- KURSA, J.: Kalcemie, fosforemie, magnezemie, natremie a kalemie v průběhu nutriční svalové dystrofie u mladého skotu. Vet. Med. (Praha), 19, 1974a, s. 81-89.
- KURSA, J.: Hematologické příznaky při nutriční svalové dystrofii mladého skotu. Vet. Med. (Praha), 19, 1974b, s. 189-196.
- OKSANEN, H. E.: Studies on nutritional muscular degeneration (NMD) in ruminants. Acta vet. scand., 6, 1965, s. 7-104.

PALLIOLA, E. — GUARDA, F.: Ulteriori ricerche istologiche et istochemiche sulle miocardiosie enzooteiche dei vitelli. A. Facul. Med. Vet. Torino, 6, 1956, s. 1-15.

PAULOV, Š. — DEMERS, J. M.: L'effet d'une carence en vitamine E sur les protéines sériques de canetons. Biológia (Bratislava), 25, 1970, s. 301-306.

PISKAČ, A.: Bílkovinné spektrum krevního séra skotu za některých fyziologických podmínek a patologických procesů. Sb. VŠZ Brno, řada B: Spisy fak. vet., 11, 1963, s. 93-107.

SCHWARZ, K.: Selenium and tocopherol: What role in animal disease. Mod. vet. Pract., 45, 1964, s. 59-63.

TITOV, 1961, cit. GEROV, K. — ČUSKOV, P.: Die prophylaktische und therapeutische Wirkung von Selendioxyd bei der enzootischen Muskeldystrophie der Lämmer sowie Untersuchungen über die Toxizität dieser Selenverbindung. Mh. VetMed., 90, 1964, s. 455-460.

TUREEN, L. L. — FARRELL, P. M. — COVA, R. H.: Comparison of plasma protein changes in antioxidant deficiency muscular dystrophy and genetic muscular dystrophy in the chicken. Proc. Soc. exp. Biol. Med., 1968, s. 28-32.

VRZGULA, L. — AUGUSTINSKÝ, V. — ŠULÍK, F. — DROBČO, J. — CHÝLA, M. — KONRÁD, V.: Prvý hromadný výskyt nutričnej svalovej degenerácie u mladého hovädzieho dobytku na Slovensku. Veterinárství, 22, 1972, s. 56-60.

WIESNER, E. — BERSCHNEIDER, F. — LIEBENOW, H.: Ernährungsschäden der landwirtschaftlichen Nutztiere. VEB Gustav Fischer Verlag, Jena 1970.

Došlo dne 5. 9. 1975

КУРСА Й. (Сельскохозяйственный институт, Прага, Факультет производственно-экономический, Ческэ Будейовице, Чехословакия). Протениемия у молодняка в ходе беломышечной болезни. Vet. Med. (Praha) 21 (4) : 195-200, 1976.

Возникновение и ход беломышечной болезни, поражающей в весенние месяцы молодняк после его перемещения из коровников на пастбища, сопровождалось явным склоном к диспротеинемии. У клинически заболевших животных наступило понижение общих белков в сыворотке крови и заметные изменения в белковом спектре. По сравнению с диагнозами у совокупности клинически здоровых животных, животные с беломышечной болезнью отличались депрессией альбумина с одновременным возрастанием альфа и бета-глобулинов и понижением гамма-глобулинов.

витамин E; селен; белки; альбумины; глобулины; заболевания

KURSA J. (University of Agriculture, Praha, Faculty of Economics and Management, České Budějovice, Czechoslovakia). Proteinemia in Young Cattle in the Course of the White Muscle Disease. Vet. Med. (Praha) 21 (4) : 195-200, 1976.

The origin and course of enzootic white muscle disease affecting young cattle in spring months after transfer from stables to pastures were accompanied by an apparent tendency to dysproteinemia. Clinically diseased animals showed a decrease of total protein in the blood serum and considerable changes in the protein spectrum. In comparison with findings in the set of clinically healthy controls, the animals affected by the white muscle disease showed a depression of albumins and a simultaneous increase of alpha- and beta-globulins and a decrease of gamma-globulins.

vitamin E; selenium; proteins; albumins; globulins; diseases

KURSA J. (Landwirtschaftliche Hochschule, Praha, Betriebs-Ökonomische Fakultät, České Budějovice, Tschechoslowakei). Proteinämie bei jungem Rindvieh im Verlauf der alimentären Muskeldystrophie. Vet. Med. (Praha) 21 (4) : 195-200, 1976.

Das Auftreten und der Verlauf der enzootischen alimentären Muskeldystrophie, die in den Frühjahrsmonaten das junge Rindvieh nach seiner Überführung aus dem Stall auf die Weiden befällt, war durch offensichtliche Neigung zu Dysproteinämien

begleitet. Bei klinisch kranken Tieren kam es zur Senkung des Gesamtproteins im Blutserum und zu bedeutsamen Veränderungen im Eiweißspektrum. Im Vergleich zu den Befunden aus der Gesamtheit klinisch gesunder Kontrollen wiesen die Tiere mit der „Weißmuskelkrankheit“ eine Albumin-Depression mit gleichzeitigem Anstieg der Alpha- und Beta-Globuline und Senkung der Gamma-Globuline auf.

Vitamin E; Selen; Eiweißstoffe; Albumine; Globuline; Krankheiten

Adresa autora:

MVDr. Jaroslav Kursa, CSc., provozně ekonomická fakulta VŠZ, Sinkuleho 5,
370 05 České Budějovice

AKTIVITA A VARIABILITA AMINOPEPTIDÁZ A γ -GLUTAMYLTRANSPEPTIDÁZY KUTÁNNEJ SLIZNICE BACHORA KRAVY

M. Teleha, L. Šlesárová

Vysoká škola veterinárska, Košice

TELEHA M., ŠLESÁROVÁ L. *Aktivita a variabilita aminopeptidáz a γ -glutamyltranspeptidázy kutánnej sliznice bachora kravy.* Vet. Med. (Praha) 21 (4) : 201-208, 1976.

Bola študovaná aktivita, chromatografická a elektroforetická distribúcia leucylarylamidázy, cystinaminopeptidázy a γ -glutamyltranspeptidázy cytoplazmatickej frakcie homogenátu sliznice bachora kravy. Výsledky porovnávacej analýzy poukazujú na existenciu viacerých molekulových foriem sledovaných enzýmov, aktiváciu leucylarylamidázy Co^{2+} , cystinaminopeptidázy Co^{2+} a Ca^{2+} . V práci sú diskutované možné funkcie aminopeptidáz a transpeptidázy kyseliny glutámovej v metabolizme dusíkatých látok typu peptidov, aminokyselín a ich amidov.

aminopeptidázy; glutamyltranspeptidáza; molekulová variabilita; kolobeh dusíka; pool glutamátu

Literárne údaje o aktivite arylaminopeptidáz a aminopeptidáz v kutánnej sliznici bachora prežúvavcov sú ojedinelé (Teleha a i., 1974), správy o existencii γ -glutamyltranspeptidázy chýbajú. Popísané a charakterizované aktivity glutaminázy (Hoshimo a i., 1966), glutamátdehydrogenázy (Ide, 1969b), karbamylfosfátsyntetázy a ornitintraskarbamylázy (Ide 1969a) v bunkách mukózy bachora oviec a kôz však naznačujú funkciu uvažovaných enzýmových systémov v dynamike premeny dusíkových komponentov v tejto lokalizácii.

Cieľom predkladanej práce bolo čiastočne preštudovať aktivitu a heterogenitu cystinaminopeptidázy, leucylarylamidázy a transpeptidázy glutamátu v sliznici bachora kravy a tak prispieť ďalšími faktami k poznávaniu metabolickej aktivity jej buniek.

MATERIÁL A METÓDY

Ako zdroj enzýmov sa použil homogenát sliznice bachora kravy. Po pätnásobnom premytí rezov očistenej sliznice predchladeným 0,9% roztokom chloridu sodného sme homogenizáciu urobili Potter-Elvehjemovým skleneným homogenizátorom v rovnakom objeme 0,05 M roztoku NaCl v 0,02 M fosfátovom pufri pH 8,0. Centrifugácia 50% homogenátu sa uskutočnila v ultracentrifúge VAC-61 pri 105 000 g po dobu 60 minút pri

teplote 3 °C. Enzymatická aktivita bola sledovaná oproti p-nitroanilidom L-leucínu, L- γ -glutamátu fy Serva, Heidelberg, S-benzyl-L-cysteinu syntetizovaného ing. E. Kasafírkom, CSc., z Ústavu pro farmáciu a biochemii, Praha (ďalej L-Leu-p-NA, L- γ -Glu-p-NA, S-Bz-L-Cys-p-NA). Distribúcia enzymatickej aktivity bola skúmaná na DEAE-celulóze MN-300 fy Manchery Nagel and Co. a na polymerizovanom akrylamide fy Koch-Light LFD, London, ktorý bol prečistený trojnásobnou kryštalizáciou v našom laboratóriu. Chemikálie použité pre elektroforetickú analýzu peptidáz boli od fy Serva, Heidelberg, ostatné boli domácej výroby a čistoty p. a.

Frakcionáciu enzýmov sme urobili na 2 X 22 cm stĺpci iniciálnym pufrom ekvilibrovanej DEAE-celulózy. Na stĺpec nosiča sa aplikovala vyššie popísanou procedúrou pripravená a ekvilibrovaná vzorka. Po nanesení vzorky bol materiál premývaný 30 ml 0,05 M NaCl v 0,02 M fosfátovom pufri pH 8,0 s následnou kontinuálnou elúciou stúpajúcim koncentračným lineárnym gradientom NaCl a klesajúcim lineárnym pH gradientom fosfátových pufrov v dvojfázovom usporiadaní:

- 250 ml 0,05 M NaCl v 0,02 M fosfátovom pufri pH 8,0,
- 250 ml 0,50 M NaCl v 0,02 M fosfátovom pufri pH 6,0.

Chromatogram sa vyvíjal pri teplote 4 °C, 5 ml frakcie boli odoberané v 10-minútových intervaloch automatickým kolektorom.

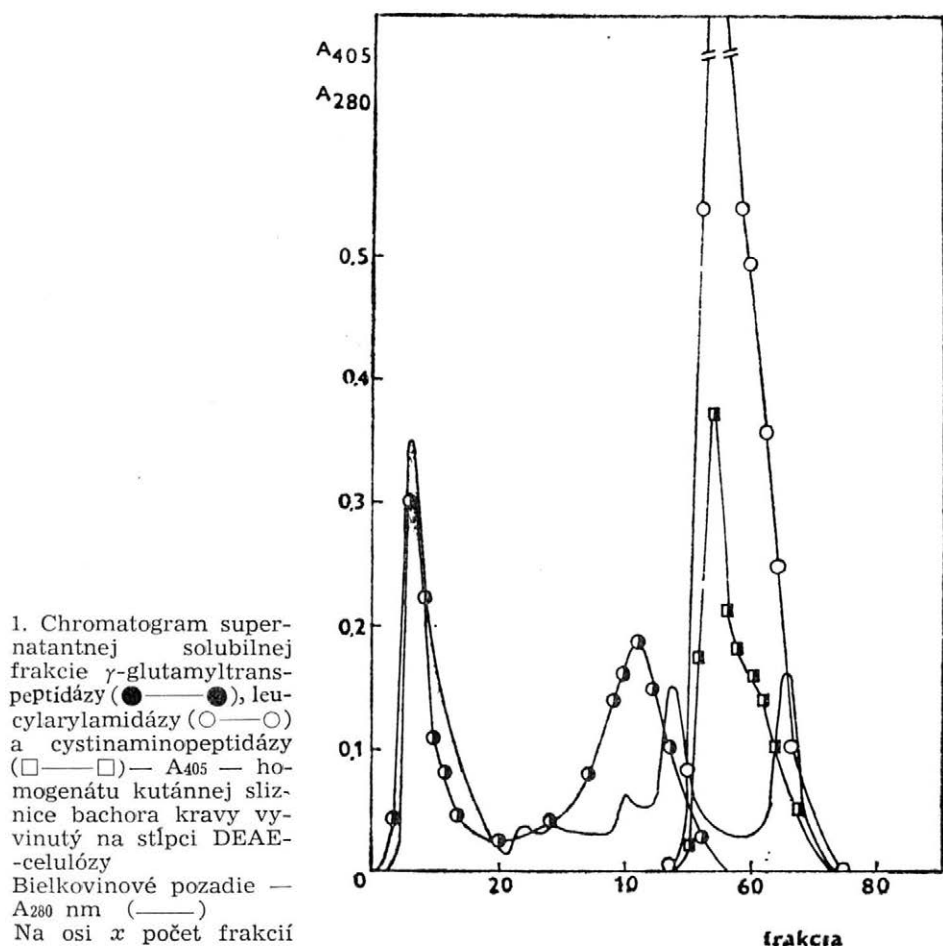
Elektroforetické delenie peptidáz bolo uskutočnené metódou podľa Ornsteina a Dawisa (1962) na 0,5 X 4 cm stĺpci 7% akrylamidového gélu polymerizovaného v prítomnosti 1% tetrametyléndiamínu a 0,133% amónium persulfátu (McDonald a i., 1969). Diskontinuálna ionoforéza enzýmov prebiehala pri pH 8,3 v Tris- glycínovom pufri, ktorý obsahoval 0,05 M 2-merkaptóetanol, pri prietoku prúdu 2,5 mA na jeden stĺpec a teplote 3 °C. Lokalizácia enzýmových aktivít bola stanovená elúciou z 1,5mm priečných rezov gélu destilovanou a deionizovanou vodou (Smith a Turk, 1974) počas 10 hodín pri teplote 3 °C s následnou štvorhodinovou inkubáciou enzýmu s aminokyselinovými derivátmi p-nitroanilidu.

Aktivita peptidáz bola stanovená pomocou L-Leu-p-NA, S-Bz-L-Cys-p-NA. Metóda navrhnutá Tuppym a i. (1962) bola upravená pri štúdiu celkových a distribuovaných aktivít nasledovne: k 0,1–0,3 ml vzorky enzýmu sme pridali 0,1 ml 0,01 M roztoku L-Leu-p-NA alebo 0,04 M roztoku S-Bz-L-Cys-p-NA a objem bol doplnený na 1 ml 0,1 M fosfátovým pufrom pH 7,0, resp. pH 7,2. Po 60-minútovej inkubácii pri teplote 30 °C bola reakcia zastavená 0,5 ml 0,25 M HCl. Kontrolné pokusy boli prevedené analogickým postupom s tým rozdielom, že reakcii bolo zabránené pridaním 0,5 ml 0,25 M HCl pred pridaním enzýmu do reakčnej zmesi. Aktivita γ -glutamyltranspeptidázy a jej frakcií bola študovaná s γ -L-glutamyl-p-NA ako substrátom a glycyglycínom ako akceptorom (Miyazaki a Okumura, 1972). Absorbancia hydrolyzou a transpeptidačnou reakciou uvoľneného žltého produktu – p-nitroanilínu – bola meraná pri 405 nm.

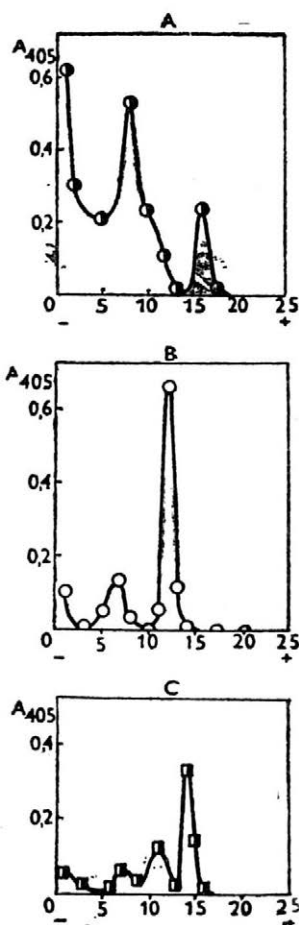
Pre stanovenie závislosti aktivity leucylarylamidázy a cystinamino-peptidázy boli použité fosfátové pufré v rozmedzí hodnôt pH 5,8 až 8,0, inhibičný a aktivačný vplyv Ni^{2+} , Mg^{2+} , Co^{2+} , Zn^{2+} , Mn^{2+} , Ca^{2+} , Cd^{2+} , Hg^{2+} a Cu^{2+} bol študovaný v rozmedzí koncentrácie ich chloridov 0,005 až 0,00005 M v reakčnom médiu.

VÝSLEDKY A DISKUSIA

Semipreparatívnu chromatografiu supernatantnej frakcie homogénatu sliznice bachora kravy na DEAE-celulóze sa oddelila peptidázová aktivita kumulovaná v jednej frakcii reprezentujúcej leucylarymidázu a cystinaminopeptidázu od dvoch frakcií γ -glutamyltranspeptidázy (obr. 1).



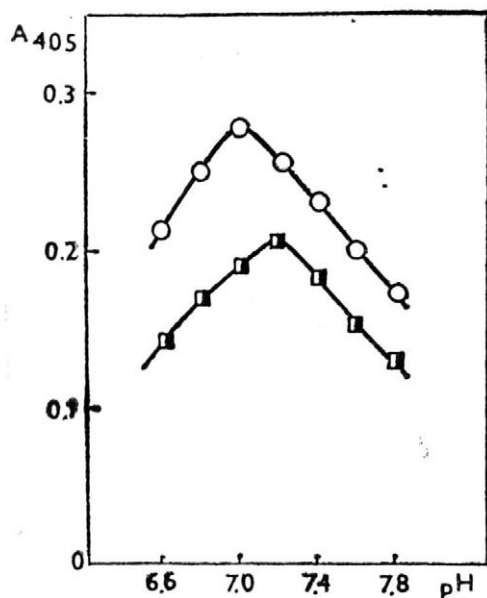
Výsledky diskovej analytickej elektroforézy enzymatickej aktivity to-
tožného materiálu poukazujú principiálne na dva varianty transpeptidázy
 γ -glutamátu (obr. 2A), jeden s katodickou pohyblivosťou, druhý so stred-
nou mobilitou. Nález dvoch frakcií γ -glutamyltranspeptidázy — zložitého
glykoproteínu — je v zhode s výsledkami Szewczuka a Bara-
novského (1963), ktorí izolovali a opísali obe formy tohoto enzýmu
v kôre hovädzej obličky. Enzymový preparát z *B. subtilis* katalyzuje trans-
amidačnú reakciu medzi L-glutamínom a kyselinou D-glutámovou a formo-
vanie peptidov kyseliny glutámovej o rôznej dĺžke (Williams a i.,
1955). Jediná frakcia enzýmu izolovaná z kôry obličky ošípanej katalyzuje



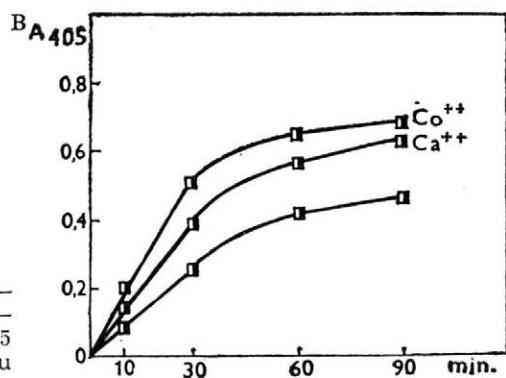
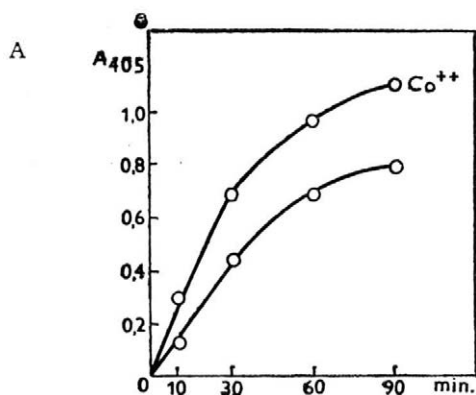
2. Polyakrylamidová elektroforéza — zymogram γ -glutamyltranspeptidázy — A — (●—●), leucylarylamidázy — B — (○—○) a cystinaminopeptidázy — C — (□—□) supernatantnej frakcie homogenátu mukózy bachora kravy. Na osi x mobilita v mm, na osi y absorbancia peptidázami uvoľneného p-nitroanilínu

analogickým mechanizmom transfer- γ -glutamylových zvyškov popri donoroch syntetického typu tiež glutationu a glutamínu na akceptory aminokyselínového a peptidového charakteru a estery kyseliny glutámovej za formovania di-, tri-, tetra-, penta- γ -glutamátu a pravdepodobne i peptidov zložených aj z viacerých γ -glutamylových zvyškov (Orłowski a Meister, 1965). Biologická funkcia γ -glutamyltranspeptidázy v bunkách mukózy bachora nie je ešte jasná. Zaujímavé je pozorovanie, že glutamín môže mať funkciu ako donor a simultanne aj ako akceptor v transpeptidačnej reakcii (Szewczuk a Connell, 1964). Pri súčasnej absencii poznatkov a širšej variabilite prirodzených akceptorov môže táto skutočnosť viesť k domienke, že formovanie a kompozícia poly- γ -glutamátu vytvára jeden z možných poolov voľnej kyseliny glutámovej v procese metabolismu amoniaku podľa súhrnnej schémy diskutovanej Havassym a i. (1974).

Výsledky elektroforetickej distribúcie leucylarylamidázy supernatantnej frakcie homogenátu bachora a cystinaminopeptidázy detekovanej špecifickým syntetickým substrátom S-Bz-L-p-NA (Peeters, 1972) ukazujú na existenciu jednej hlavnej frakcie so strednou mobilitou pri pH 8,3 a jednej až dvoch minoritných frakcií s pomalšou pohyblivosťou



3. Závislosť rýchlosti hydrolýzy L-Leu-p-NA (○—○) a S-Bz-L-Cys-p-NA (□—□) katalyzovanej leucylarylamidázou a cystinaminopeptidázou od pH (0,1 M fosfátové pufre)



4. Aktivácia leucylarylamidázy — A — (○—○) Co²⁺, cystinaminopeptidázy — B — (□—□) Co²⁺ a Ca²⁺ v čase 0,0005 M koncentrácia CoCl₂ a CaCl₂ v médiu

(obr. 2B, C). Za zvolených experimentálnych podmienok bola potvrdená nielen mikroheterogenita študovaných peptidáz, známa v krvnej plazme (Sjöholm a Yman, 1966, Sova, 1973), ale aj ich substrátová špecificita (Teleha, 1971). Leucylarylamidáza s optimom hydrolýzy syntetického substrátu pri pH 7,0 (obr. 3) je aktivovaná Co^{2+} , cystinaminopeptidáza s optimom rýchlosti hydrolýzy S-Bz-L-Cys-p-NA pri pH 7,2 je aktivovaná Ca^{2+} a Co^{2+} v koncentrácii 0,0005 M, pri nezmenenej reakčnej rýchlosti (obr. 4A, B). Brzdenie aktivity sérovej cystinaminopeptidázy (oxytocinázy) vyšších primátov Co^{2+} (Tuppy a Wintersberger, 1960), rozdielne optimum pH (7,5), diferencované aktivačné efekty Co^{2+} , Mg^{2+} , Mn^{2+} a Ca^{2+} oproti tkanivovej cystinaminopeptidáze pravdepodobne odrážajú nielen druhové zvláštnosti vo výstavbe ich molekúl, ale aj možnosť existencie oxytocinázy a cystinaminopeptidázy ako dvoch zvláštnych enzýmov analogickej skupiny. Cirkulácia a recirkulácia voľných aminokyselín (Gzhitsky a Skorokhod, 1959) a vylučovanie peptidových fragmentov cez stenu bachora (Tomáš a i., 1969), popri ceelej rade iných dusíkatých látok, naznačujú pravdepodobnú funkciu leucylarylamidázy a iných aminopeptidáz (Teleha a i., 1974) v uvoľňovaní amoniaku z molekúl amidicky viazaného dusíka a aminoterminálnych aminokyselín z peptidových štruktúr.

Literatúra

- DONALD, Mc. J. K. — LEIBACH, H. F. — GRINDELAND, R. E. — ELLIS, S.: Purification of dipeptidylaminopeptidase III (dipeptidyl arylamidase II) of the anterior pituitary gland. *J. biol. Chem.*, 243, 1968, s. 4143-4150.
- GZHITSKY, S. Z. — SKOROKHOD, V. Y.: Resorbtitsiya i sekreitsiya tkanine „Malogorubtsya“ u velikoy rogatoy khudobi. *Dopovidi Ukr. Akad. silskogospod. nauki*, 6, 1959, s. 31-38.
- HAVASSY, L. — BOĎA, K. — KOŠTA, K. — RYBOŠOVÁ, E. — KUCHAR, S.: Passage of ^{15}N — labelled urea nitrogen from the blood into the sheep rumen and its recirculation. *Physiologia bohemoslov.*, 23, 1974, s. 277-287.
- HOSHINO, S. — SARAMARU, K. — MORIMOTO, K.: Ammonia anabolism in ruminants. *J. Dairy Sci.*, 49, 1966, s. 1523-1532.
- IDE, YU.: Enzymic activities in ruminal mucosa I. Surveys of carbamyl phosphate synthetase and ornithine transcarbamylase in goats. *Jap. J. vet. Sci.*, 31, 1969a, s. 95-98.
- IDE, YU.: Enzymic activities in ruminal mucosa II. Presence and activities of α -glutamic dehydrogenase in goats. *Jap. J. vet. Sci.*, 31, 1969b, s. 99-103.
- MIYAZAKI, S. — OKAMURA, M.: Change of serum γ -glutamyl transpeptidase level and isoenzyme pattern in hepatobiliary pancreatic disease. *Clin. Chim. Acta*, 40, 1972, s. 193-197.
- ORLOWSKI, M. — MEISTER, A.: Isolation of γ -glutamyltranspeptidase from hog kidney. *J. biol. Chem.*, 240, 1965, s. 338-347.
- ORNSTEIN, L. — DAWIS, B. J.: Disc Electrophoresis (preprint publication Distillation Products Industries Eastman Kodak Co), 1962.
- PEETERS, J. A. B.: Automated determination of serum oxytocinase activity. *Clin. Chem.* 18, 1972, s. 563-564.
- SJÖHOLM, — YMAN, L.: Electrophoretic studies on oxytocinase (cystine aminopeptidase). Relation between electrophoretically found isoenzymes. *Acta pharm. Suecica*, 3, 1966, s. 389-396.
- SMITH, R. — TURK, V.: Cathepsin D: Rapid isolation by affinity chromatography on haemoglobin — agarose resin. *Eur. J. Biochem.*, 48, 1974, s. 245-248.
- SOVA, O.: Study of oxytocinase (cystine aminopeptidase) heterogeneity by isoelectric focusing. *Physiologia bohemoslov.*, 22, 1971, s. 495-502.
- SZEWCZUK, A. — BARANEWSKI, T.: Purification and properties of γ -glutamyl transpeptidase from beef kidney. *Biochemische Zeitschrift*, 338, 1963, s. 317-329.
- SZEWCZUK, A. — CONNELL, G. E.: The reaction of iodocetamide with the active center of γ -glutamyl transpeptidase. *Biochim. biophys. Acta*, 105, 1964, s. 352-367.

TELEHA, M.: Výskyt, izolácia a čiastková charakterizácia niektorých aminopeptidáz krvného séra. [Habilitačná práca.] Vysoká škola veterinárska, Košice 1971.

TELEHA, M. — ŠLESÁROVÁ, L. — BODA, K.: Nekotoryje osnovnyje issledovanija vstrečaemosti peptidaz slizistoj rubca korovy. Sbornik o dusikovom metabolizme hospodárskych zvierat. 1974, v tlači.

TOMÁŠ, J. — TJUTCEV, N. — VÁRADY, J.: Výskyt nízkomolekulárných ninhydrinpozitívnych látok v obsahu izolovaného bachorčeka oviec. Folia vet. (Košice), 13, 1969, s. 43-51.

TUPPY, H. — WINTERSBERGER, E.: Reinigung und Eigenschaften der Serum-Oxytocinase. Mh. Chem., 91, 1960, s. 1001-1011.

TUPPY, H. — WEISBAUER, W. — WINTERSBERGER, E.: Aminosäure p-nitroanilide als Substrate für Aminopeptidasen und andere proteolitische Fermente. Hoppe-Seyler's Z. physiol. Chem., 329, 1962, s. 278-288.

WILLIAMS, W. J. — LITWIN, J. — THORNE, C. B.: Further studies on the biosynthesis of γ -glutamyl peptides by transfer reactions. J. biol. Chem., 230, 1955, s. 427-438.

Došlo dne 27. 8. 1975

ТЕЛЕГА М., ШЛЕСАРОВА Л. (Ветеринарный институт, Кошице, Чехословакия). Активность и изменчивость аминопептидазы и γ -глутамилтранспептидазы слизистой кожи рубца у коровы. Vet. Med. (Praha) 21 (4) : 201-208, 1976.

Изучалась активность, хроматографическое и электрофоретическое распределение лейколариламидазы, цистинаминопептидазы и γ -глутамилтранспептидазы цитоплазматической фракции гомогената слизистой рубца коровы. Результаты сравнительного анализа свидетельствуют о существовании многочисленных молекулярных форм изучаемых энзимов, активации лейцилариламидазы Co^{2+} и Ca^{2+} . В работе обсуждаются возможные функции аминопептидаз и транспептидазы глутаминовой кислоты в метаболизме азотистых веществ типа пептидов, аминокислот и их амидов.

аминопептидазы; глутамилтранспептидаза; изменчивость молекул; круговорот азота; полюс глутамата

TELEHA M., ŠLESÁROVÁ L. (University of Veterinary Medicine, Košice, Czechoslovakia). The Activity and Variability of Amino Peptidases and γ -Glutamyl Transpeptidase of the Cutaneous Mucous Membrane of Cow's Rumen. Vet. Med. (Praha) 21 (4) : 201-208, 1976.

The authors studied the activity, chromatographic and electrophoretic distribution of leucylarylamidase, cystinamino peptidase, and γ -glutamyl transpeptidase of the cytoplasmatic fraction of cow's rumen mucous membrane homogenate. The results of comparative analysis draw attention to the existence of a certain number of the molecular forms of the enzymes studied, to the activation of leucylarylamidase by Co^{2+} , cystinamino peptidase by Co^{2+} and Ca^{2+} . The possible functions of the amino peptidases and transpeptidase of glutamic acid in the metabolism of nitrogen compounds of the type of peptides, amino acids, and their amides, are discussed in the study.

amino peptidases; glutamyl transpeptidase; molecular variability; nitrogen circulation; glutamate pool

TELEHA M., ŠLESÁROVÁ L. (Veterinärmedizinische Hochschule, Košice, Tschechoslowakei). Aktivität und Variabilität der Aminopeptidasen und der γ -Glutamyltranspeptidase der kutanen Schleimhaut des Kuhpensens. Vet. Med. (Praha) 21 (4) : 201-208, 1976.

Es wurde die Aktivität, die chromatographische und electrophoretische Distribution der Leucylarylamidase, der Zystinaminopeptidase und der γ -Glutamyltranspeptidase der zytoplasmatischen Fraktion des Schleimhauthomogenats aus dem Kuhpensens studiert. Ergebnisse der Vergleichsanalysen weisen auf die Existenz mehrerer mo-

lekularer Formen der verfolgten Enzyme, auf die Aktivierung der Leuzylylamidase Co^{2+} , Zystinaminopeptidase Co^{2+} und Ca^{2+} hin. In der Arbeit werden die eventuellen Funktionen der Amino-peptidasen und Transpeptidasen der Glutaminsäure im Stoffwechsel der stickstoffhaltigen Stoffe vom Typ der Peptide, Aminosäuren und ihrer Amide besprochen.

Amino-peptidasen; Glutamyltranspeptidase; Molekülvariabilität; Stickstoffkreislauf; Glutamat-Pool

Adresa autorů:

Doc. MUDr. Michal Teleha, CSc., MVDr. L. Šlesárová, Vysoká škola veterinárská, Komenského 71, 041 81 Košice

POUŽITÍ RYCHLÉ AGLUTINACE V SÉROTYPIZACI MYCOBACTERIUM AVIUM-INTRACELLULARE KOMPLEXU

Z. Süßland, V. Hrdinová

Ústřední státní veterinární ústav, Praha - Lysolaje

SÜSSLAND Z., HRDINOVÁ V. Použití rychlé aglutinace v sérotypizaci *Mycobacterium avium-intracellulare* komplexu. Vet. Med. (Praha) 21 (4): 209-213, 1976.

Autoři popisují novou metodiku sérotypizace mykobakterií rychlou (kapkovou) aglutinací. Tato technika je stejně specifická jako aglutinace pomalá, je však jednodušší a je dostupná pro běžně vybavené laboratoře tuberkulózy. Je vhodná jak pro použití při vlastní typizaci jako jedna z diferenciacních technik, tak pro běžnou diferenciaci mykobakterií z primokultur.

mykobakterie; sérologie; metodika; rychlá aglutinace

V současné době, kdy je utlumena bovinní tuberkulóza, vyskytuje se *Mycobacterium bovis* u skotu pouze v ojedinělých ohniscích a jeho nálezy u prasat jsou naprosto výjimečné. Tuberkulózní léze jsou však vyvolány také některými atypickými mykobakteriemi, zejména zárodky ze skupiny nonfotochromogenních mykobakterií, kde je klasickým patogenním zárodkem *Mycobacterium avium*. Situaci komplikuje *Mycobacterium intracellulare* (Runyon, 1967) s jednotlivými sérotypy. Celý komplex *Mycobacterium avium-intracellulare* se nedá klasickými biochemickými metodami rozlišit. Diferenciace na kuřicích je značně nákladná a lze pomocí ní rozlišit pouze dvě skupiny mykobakterií: *Mycobacterium avium* a *Mycobacterium intracellulare*, ale ne již jednotlivé sérotypy těchto druhů. Jedinou schůdnou a v praxi použitelnou metodou je sérotypizace pomalou aglutinací podle Schaefera (1965). Tato technika je používána mnoha autory (Anz a Meissner, 1969, Saito a Kubica, 1969, Matušková aj., 1968 a další). Sérotypizace mykobakterií má význam nejen taxonomický, ale zejména epizootologický a epidemiologický. Jejím nedostatkem je potřeba těžko dostupných chemikálií pro výrobu antigenů, značná spotřeba sér a časová náročnost.

Vypracovali jsme proto techniku rychlé (kapkové) aglutinace, která podle našich výsledků dává stejně specifické výsledky, je technicky nenáročná a snadno proveditelná i v běžně vybavených laboratořích.

MATERIÁL A METODA

Celkem jsme použili 30 referenčních kmenů 14 sérotypů (*Mycobacterium avium* 1 a 2, *Mycobacterium intracellulare* IIIa, IIIb, IV, V, VI, Davis, Watson, Howell, Boone, Yandle, Darden a Arnold), které jsme získali od dr. M. Kubína, CSc. (IHE Praha). Další 264 kmeny jsme vykultivovali z terénního materiálu. Tyto kmeny jsme biochemicky typizovali jako *Mycobacterium avium*. Pro diferenciaci jsme použili těchto testů: růst při teplotách 30, 37, 42, 45 °C, průkaz nitrátázy podle Virtanena (1960), test semikvantitativní katalázy (Vestal, 1969), průkaz katalázy při pH 7/68 °C podle Kubicy (1966), pětidenní a desetidenní tween hydrolýzu podle Waynea (1962) a Waynea aj. (1964), růst na půdách s 1,0 µg INH, 3,0 µg STM a EMB na jeden mililitr půdy podle zprávy IWGMT (1971), tolerance k 5% NaCl (Kestle aj., 1967) a růst na Lebekově polotekutém agaru (Lebek, 1958). Všechny kmeny byly nepigmentované, nebyly fotoaktivní a rostly v S (hladké) fázi.

Antigeny jsme připravili imunizací králíků, metodou podle Schaefera (1965), referenčními kmeny. Jejich titr se pohyboval od 1:160 do 1:640.

Antigeny pro pomalou aglutinaci jsme opět připravili metodou podle Schaefera (1965) ze všech kmenů (294).

Antigeny pro rychlou aglutinaci jsme připravili nakultivováním všech 294 kmenů na Löwenstein-Jensenovy půdy, na půdy podle Stonebrinka a na agarové půdy 7H 10 podle Middlebrooka. Z každého druhu půdy jsme připravili pro sledování vlivu substrátu na aglutinační schopnost jednotlivých kmenů samostatně antigeny smytím fyziologickým roztokem s glycerinem (fyziologický roztok aa glycerin). Antigen jsme upravili na hustotu řídkého mléka (Ex. 0,6 při 525 nm) a použili pro vlastní aglutinaci.

Antiséra pro rychlou aglutinaci jsme připravili naředěním do pracovního titru empiricky připraveného, který se pohyboval u jednotlivých antisér od 1:10 do 1:80, opět fyziologickým roztokem s glycerinem. Všechna antiséra jsme vyzkoušeli také na specifitu aglutinací jak s homologními, tak s heterologními antigeny.

Vlastní rychlou (kapkovou) aglutinaci jsme dělali na odtučněných podložních sklíčkách smísením 0,005 ml antigenu s 0,005 ml antiséra. Jako kontrolu jsme použili 0,005 ml fyziologického roztoku s glycerinem a 0,005 ml antigenu. Pozitivní aglutinace byla charakterizována vyčerením suspenze v systému antigen – protilátka za současné tvorby vločkovitého aglutinátu do jedné minuty po smísení. V kontrole musel zůstat antigen v zákalu. V negativním případě zůstal v zákalu jak antigen s protilátkou, tak i antigen s ředidlem. V případě, že došlo k vyvločkování v kontrole i v systému antigen-protilátka, nebyla reakce hodnotitelná. Stejně nebyla reakce hodnotitelná ani tehdy, kdy došlo k vyvločkování po jedné minutě po smísení.

VÝSLEDKY

Celkem jsme zpracovali 294 kmeny jak pomalou, tak rychlou aglutinací a diferencovali jsme je biochemicky (tab. I). Všechny kmeny byly biochemicky typizovány jako *Mycobacterium avium*. Výsledky pomalé

I. Výsledky biochemické diferenciace *Mycobacterium avium-intracellulare* komplexu

	<i>Mycobacterium avium</i>	<i>Mycobacterium intracellulare</i>
Počet kmenů	239	25
Růst do 7 dnů	0+	0
Růst při 30 °C	100	100
37 °C	100	100
42 °C	100	100
45 °C	94	96
Kataláza semikvantitativní <40	100	100
>50	0	0
Kataláza 68 °C	100	100
Pětidenní tween hydrolýza	0	0
Desetidenní tween hydrolýza	0	0
Růst na půdě s 1,0 µg INH	100++	100
3,0 µg STM	100	100
3,0 µg EMB	97	100
Lebekův agar povrchový porost	100	100

+ % pozitivních reakcí

++ % rezistentních kmenů

II. Sérologické výsledky pomalé a rychlé aglutinace *Mycobacterium avium-intracellulare* komplexu

Sérotyp	Pomalá aglutinace 294 kmenů	Rychlá aglutinace 294 kmenů
<i>M. avium</i> 1	46	46
<i>M. avium</i> 2	191	191
<i>M. intracellulare</i> IIIa	2	2
IIIb	2	2
IV	6	6
V	4	4
VI	3	3
Davis	15	15
Watson	3	3
Howell	4	4
Boone	5	5
Yandle	2	2
Darden	2	2
Arnold	2	2
Neznámé kmeny	7	7

(zkumavkové) i rychlé (kapkové) aglutinace byly identické. 46 kmenů bylo určeno jako sérotyp A 1, 191 kmen aglutinoval s antisérem A 2, 15 kmenů se sérotypem Davis, 6 se sérotypem IV, po 4 kmenech se sérotypem V a Howell, po 3 kmenech se sérotypem VI a Watson a po 2 kmenech se sérotypy IIIa, IIIb, Arnold, Yandle a Darden. Sedm kmenů jsme nemohli sérologicky vyhodnotit, protože neaglutinovaly ani v pomalé, ani v rychlé aglutinaci (tab. II).

DISKUSE

Z našich výsledků je zřejmé, že rychlá aglutinace je stejně specifická jako prozatím používaná aglutinace pomalá. Její výhodou je velmi jednoduchá příprava antigenu a možnost použití běžných vaječných nebo agarových půd používaných v běžné bakteriologické diagnostice tuberkulózy.

Výsledky rychlé aglutinace nejsou závislé na stáří kultury. V předpokusech jsme používali kultury ve stáří od 14 dnů do 6 měsíců beze změny specificity aglutinace. Spotřeba sér je přibližně 20× nižší než u aglutinace pomalé. Příprava antisér je stejná jako u pomalé aglutinace, s tím rozdílem, že pro ředění antigenu i antiséra nelze použít pufované roztoky, ale glycerin s fyziologickým roztokem. V předpokusech jsme používali pro ředění Sørensenův fosfátový pufr (pH 7,0), fyziologický roztok a kombinaci fyziologického roztoku s glycerinem. Ve všech ředidlech, zejména v Sørensenově pufru, docházelo k autoaglutinacím bez ohledu na množství antigenu do 30 až 50 vteřin po smísení antigenu s antisérem. Pouze ve fyziologickém roztoku s glycerinem v poměru 1 : 1 nedocházelo k nespecifickým reakcím. Vymizení nespecifických reakcí po použití vysokých dávek glycerinu si vysvětlujeme hydrofóbností mykobakterií, jejich značným množstvím lipidů v buněčné stěně.

Rozdíl mezi použitím titrů v pomalé a rychlé aglutinaci je obvyklý i při sérotypizaci jiných zárodků. V naší práci byly zjištěny vhodné titry empiricky, to znamená, že se jedná o antiséra, která sice měla konečný titr vyšší, ale pracovní titr byl určen tak, aby byly na co nejmenší míru vyloučeny nespecifické reakce.

Vzhledem k tomu, že nemáme zatím k dispozici všechna známá antiséra, dále proto, že referenční kmeny používané k výrobě antisér jsou získány z humánního materiálu, kde je paleta *Mycobacterium intracellulare* užší než ve veterinárních zdrojích, předpokládáme, že to je důvod, proč nebylo možné sedm kmenů sérologicky identifikovat.

V současné době, kdy již máme rychlou aglutinaci běžně zavedenou jako jednu z diferenciatních technik, získáváme antigen přímo z pevné půdy stěrem kličkou, bez předchozího smytí. Antigen homogenizujeme na odtučněném podložním sklíčku vždy se dvěma stejnými antiséry. Množství rutinně používaného antiséra je vyšší než je uváděno při ověřování metody, pohybuje se okolo 0,04 až 0,06 ml, takže spotřeba antiséra je sice 10× vyšší, ale stále ještě nedosahuje spotřeby antiséra používaného v pomalé aglutinaci. Přes tyto změny proti původní metodice jsme nepozorovali snížení specificity reakcí.

Literatura

- ANZ, W. — MEISSNER, G.: Serotypen von Stämmen der aviären Mykobakterien-gruppe isoliert von Mensch und Tier. Prax. Pneumol., 23, 1969, s. 221.
- INTERNATIONAL WORKING GROUP ON MYCOBACTERIAL TAXONOMY: Conference on the systematics of the genus *Mycobacterium*. IWGMT, Göteborg 1971.
- KESTLE, D. J. — ABBOT, V. D. — KUBICA, P.: Differential identification of mycobacteria. II. Subgroups of Groups II and III (Runyon) with different clinical significance. Am. Rev. resp. Dis., 95, 1967, s. 1041.
- KUBICA, G. P.: Differential identification of mycobacteria. I. Test on catalase activity. Am. Rev. resp. Dis., 94, 1966, s. 400.
- LEBEK, G.: Über den Nachweis des unterschiedlichen Sauerstoffoptimums des humanen und bovinen *Mycobacterium tuberculosis*. Zentbl. Bakt., I. Abt. Orig., 173, 1958, s. 581.
- MATUŠKOVÁ, E. — KUBÍN, M. — KUNCOVÁ, V.: K problematice sérologické diferenciace mykobakterií metodou aglutinace podle Schaefera. Rozhl. Tuberk., 28, 1968, s. 363.
- RUNYON, E. H.: *Mycobacterium intracellulare*. Am. Rev. resp. Dis., 95, 1967, s. 861.
- SAITO, H. — KUBICA, G. P.: Serologic studies on the *Mycobacterium avium* and group III complex of mycobacteria. Am. Rev. resp. Dis., 96, 1968, s. 115.

SAITO, H. — KUBICA, G. P.: Serologic studies of avian — group III nonphotochromogen complex by agglutination test. Am. Rev. resp. Dis., 98, 1968, s. 47.
 SCHAEFER, W. B.: Serologic identification and classification of the atypical mycobacteria by their agglutination. Am. Rev. resp. Dis., 92, 1965, s. 85.
 VESTAL, A. L.: Procedures for the isolation and identification of mycobacteria. PHSP No. 1995, 1969, s. 62.
 VIRTANEN, S.: A study of nitrate reduction by mycobacteria. Acta tuberc. scand., Suppl. 48, 1960.
 WAYNE, L. G.: Differentiation of mycobacteria by their effect on Tween 80. Am. Rev. resp. Dis., 86, 1962, s. 579.
 WAYNE, L. G. — DOUBEK, J. R. — RUSSEL, R. L.: Classification and identification of mycobacteria. I. Test employing Tween 80 as substrate. Am. Rev. resp. Dis., 90, 1964, s. 588.

Došlo dne 14. 7. 1975

СЮССЛАНД З., ГРДИНОВА В. (Центральный государственный ветеринарный институт, Прага - Лисолае, Чехословакия). Применение быстродействующей агглютинации в серотипизации комплекса *Mycobacterium avium-intracellulare*. Vet. Med. (Praha) 21 (4): 209-213, 1976.

Авторы описывают новую методику серотипизации микобактерий при помощи быстродействующей (капельной) агглютинации. Эта техника так же специфическая, как и агглютинация медленная, однако, более простая и доступная для оснащенной обычным способом лаборатории туберкулеза. Она подходит как для применения при типизации в качестве одной из дифференцированных техник, так и для предварительной дифференциации микобактерий из примокультур.

микобактерии; серология; методика; быстродействующая агглютинация

SÜSSLAND Z., HRDINOVÁ V. (Central State Veterinary Institute, Praha - Lysolaje, Czechoslovakia). Rapid Agglutination in the Serotyping of the *Mycobacterium avium-intracellulare* Complex. Vet. Med. (Praha) 21 (4): 209-213, 1976.

The authors describe a new method of the typification of mycobacteria by rapid (droplet) agglutination. This technique is of the same specificity as slow agglutination; however, it is simpler and practicable for normally equipped tuberculosis-testing laboratories. It is suitable for the use in typification as one of the differentiating techniques as well as for preliminary differentiation of mycobacteria from primocultures.

mycobacteria; serology; methods; rapid agglutination

SÜSSLAND Z., HRDINOVÁ V. (Staatliches Zentral-Veterinärinstitut, Praha - Lysolaje, Tschechoslowakei). Anwendung einer raschen Agglutination bei der Serotypisation des *Mycobacterium avium-intracellulare*-Komplexes. Vet. Med. (Praha) 21 (4): 209-213, 1976.

Die Autoren beschreiben eine neue Methodik der Serotypisation von Mykobakterien durch rasche (Tropfen-) Agglutination. Diese Technik ist ebenso spezifisch wie die langsame Agglutination, ist jedoch einfacher und für alle standardmäßig ausgestatteten Tuberkulose-Laboratorien erreichbar. Die Methode ist sowohl für die Anwendung bei der eigentlichen Typisation als eine der Differentiationstechniken, als auch für die vorhergehende Differentiation der Mykobakterien aus Primokulturen geeignet.

Mykobakterien; Serologie; Methodik; rasche Agglutination

Adresa autorů:

MVDr. Zdeněk Süssländ, V. Hrdinová, Ústřední státní veterinární ústav, 165 03 Praha 6 - Lysolaje

VYUŽITÍ ŽIVIN PŘEŽVÝKAVCI

Piatkowski, B. et al.: Nährstoffverwertung beim Wiederkäuer.

VEB Gustav Fischer, Jena 1975, 389 s. incl. 51 obr. a 135 tab.

Výzkum přežvýkavců má rozhodující vliv na využití jejich produkčních schopností ve směru požadované užitkovosti. Z výživných látek je nutné věnovat maximální pozornost optimálnímu zastoupení bílkovin či dusíkatých látek v krmných dávkách přežvýkavců. Porovnáme-li námi sledovanou skupinu zvířat s prasaty a drůbeží z hlediska nároků na složení krmné dávky, musíme přiznat, že přežvýkavci jsou méně nároční na kvalitu dusíkatých látek.

V řadě výzkumných pracovišť byly v posledních letech provedeny různé výzkumy, a to jak biochemické, tak i fyziologické, které směřují k objasnění dosud neznámých okolností ve výživě přežvýkavců.

Výsledky výzkumných prací zabývajících se problematikou využívání živin a zejména pak využívání energie a dusíkatých látek jsou shrnuty v recenzované knize.

Posuzovaná kniha obsahuje nejdůležitější biochemické a fyziologické poznatky o výživě přežvýkavců; je rozdělena do pěti kapitol.

V první kapitole je zdůrazněn význam ústřední nervové soustavy a smyslových orgánů pro příjem krmiv a jsou podtrženy zvláštnosti trávení přežvýkavců. Výchozím bodem je Pavlovova teorie podmíněných reflexů. Pro zajímavost uvádíme některé údaje: Při produkci mléka do 16 kg je třeba zajistit 280 g sušiny na každý kilogram mléka; při produkci mléka od 16 kg do 30 kg FCM je zapotřebí jen 250 g sledovaného ukazatele. Stravitelnost sušiny je tím vyšší, čím vyšší je kapacita bacheru. Proto autoři doporučují navykat přežvýkavce již od mládí na vysoký příjem objemných krmiv a vytvářet tak předpoklady pro to, aby objem bacheru u dospělé krávy představoval 200 litrů. Jestliže jsou krávy paseny, je možné předpokládat příjem sušiny v průměru 13 až 14 kg (tj. 2,3 až 2,5 kg sušiny) na 100 kg živé hmotnosti na kus a den. Uvedených ukazatelů však nedosáhneme na začátku pastevního období. Doplníme-li pastvu dalšími krmivy, může se zvýšit příjem sušiny na krávu a den až na 18 kg, popř. i více.

Druhá kapitola, která je věnována trávení a využití glycidů, je bohatá na chemické vzorečky a tabulky. Najdeme zde např. informaci o hladině glukózy v krvi.

Samostatná podkapitola je věnována ketóze krav a vysokobřezích bahnic. Jde o poruchu látkové přeměny glycidů, při níž se snižuje hladina cukru v krvi a nedostatečně se spalují tuky a vznikají tak acetonové látky, které jsou jedovaté. Menší množství těchto látek vylučuje organismus močí, mlékem a plícemi. Při větší koncentraci kolují acetonové látky v krvi, čímž trpí především ústřední nervový systém. Základní příčina ketózy (acetonémie) tkví v poruše funkce předního laloku hypofýzy a nadledvinek a dále v nedostatku vitamínu A a glykogenu v období vysoké březosti a v poporodním období u vysoce užitkových plemenic. V tomto případě jsou doporučovány nižší dávky jaderných krmiv s vysokým obsahem bílkovin. Vhodná jsou především melasová krmiva. Škodlivě může působit také náhlé snížení či naopak zvýšení krmné dávky v tomto kritickém období.

Ve třetí kapitole se autoři posuzované knihy zabývali trávením a využitím lipidů. Zaměřili se zejména na mléčnou užitkovost a ukládání zásobního tuku. Najdeme zde také normy spotřeby tuku, zajišťující dobrý vývin telat.

Zvláště významná je čtvrtá kapitola, věnovaná dusíkatým látkám. Na názorném grafu, kterým je doplněn text, jsou demonstrovány postupné změny v bacheru, při nichž se z proteinů a dusíkatých látek (včetně močoviny) vytváří mikrobiální bílkovina.

Pátá kapitola se zabývá využíváním energie přežvýkavci. V této kapitole považují za cenné zejména pojednání o systémech energetického hodnocení krmiv. Specialisty budou nesporně zajímat i normy spotřeby energie u jednotlivých věkových či hmotnostních kategorií skotu a ovcí.

Publikaci si můžete vypůjčit v Ústřední zemědělské a lesnické knihovně, Slezská 7, 120 56 Praha 2, pod signaturou D 65.201.

Ing. Bohumil Cvachovec, CSc.,

Ústav vědeckotechnických informací pro zemědělství, Praha

J. Lukášová, M. Labounek

Vysoká škola veterinární, Brno

LUKÁŠOVÁ J., LABOUNEK M. *Studium penetrace stafylokoků vaječnou skořápkou*. Vet. Med. (Praha) 21 (4) : 215-220, 1976.

Penetrace stafylokoků skořápečnými strukturami do vaječného obsahu byla studována u 490 vajec. Sérií pokusů bylo prokázáno, že stafylokoky jsou schopné pronikat všemi vaječnými strukturami, a to již po krátké době po kontaminaci (1 hodina). Podle našich výsledků je penetrace ovlivněna přítomností kutikuly, různou pórovitostí skořápky a vysokým pH bílku.

Staphylococcus aureus; penetrace; vaječná skořápka; vaječný obsah

Vaječný obsah je ideálním prostředím pro pomnožování řady mikroorganismů. Je však chráněn několika přirozenými bariérami, které brání jejich pronikání s povrchu skořápky do vaječného obsahu. Přes tyto nepříznivé okolnosti jsou však některé mikroorganismy schopné pronikat do vaječného obsahu a způsobit, že se kazí. Tato skutečnost má význam jak z hlediska ekonomického, tak i z hlediska ochrany lidského zdraví.

Pronikání mikroorganismů do vaječného obsahu brání přirozené bariéry, jimiž jsou kutikula, skořápka, vaječné blány a bílek. Význam a důležitost jednotlivých bariér studovali: Baker (1974), Vadehra a Baker (1972), Lifshitz aj. (1974), Walden aj. (1956) a další. Výsledky jejich práce dokazují, že nejúčinnější bariéru tvoří vnitřní vaječná blána. Její příspěvek k vstupní rezistenci vejce je signifikantně vyšší než u ostatních struktur. Vadehra a Baker (1972) prokázali na modelovém pokusu, že bakterie procházejí membránami během 36 hodin. Walden aj. (1956) užili kmen *Pseudomonas fluorescens* značený P³². Jejich výsledky ukazují, že membrány zadržely bakterie 20 hodin. Williams aj. (1968) studovali rychlost pronikání kmene *Salmonella typhimurium* vnějšími strukturami do vaječného obsahu. Zjistili, že kutikulou a skořápkou pronikaly velmi rychle. Proniknutí membránami trvalo asi 6 minut. Rychlost penetrace salmonel byla závislá na inkubační teplotě a nezávislá na pohyblivosti kmene. Simmons aj. (1970) při sledování vlivu vlhkosti a teploty na schopnost salmonel infikovat vejce zaznamenali, že salmonely nepronikly vaječnými membránami, jestliže byla vejce skladována 60 až 75 dní při relativní vlhkosti 86 % a teplotách do 23 °C. Při 97 % relativní vlhkosti a 23 °C se vejce infikovala do 30 až 60 dnů. Při skladování za běžných podmínek (teplota 10–15 °C při relativní vlhkosti

75–86%) přežívaly sice salmonely na povrchu skořápek, ale nepronikaly do vaječného obsahu. B a k e r (1974) ve své práci hovoří o možnosti, že salmonely a stafylokoky jsou přítomné ve vaječném obsahu celých skořápečných vajec. Tvrdí, že výskyt salmonel, přes jejich schopnost pronikat vaječnými strukturami, ve skořápečných vejcích není velký. Možnost pronikání stafylokoků do skořápečných vajec je minimální. Ve své práci jsme se pokusili prokázat schopnost stafylokoků pronikat vaječnými strukturami.

M A T E R I Á L A M E T O D A

K pokusům jsme použili čerstvá dvoudenní vejce. Metodika práce byla rozdělena do tří částí.

V první části jsme sledovali penetraci kmene *Staphylococcus aureus* skořápečnými strukturami do vaječného obsahu po 3, 6, 9, 14 a 30 dnech skladování. K tomu účelu byla pokusná vejce rozdělena do dvou skupin. V první skupině byla vejce omyta destilovanou vodou (odstranění kutikuly) a dezinfikována 70% alkoholem 10 min. V druhé skupině byla vejce nemytá, bez dezinfekce (kutikula zachována). Vejce v obou skupinách byla na tupém konci kontaminována suspenzí 18hodinové kultury kmene *Staphylococcus aureus* 885 z Čs. sbírky mikroorganismů a skladována uvedenou dobu při pokojové teplotě. Po této době byly vyšetřovány: vnitřní stěna skořápky (stěrem), vaječné blány, bílek a žloutek u první skupiny a stěna skořápky a blány u skupiny druhé na přítomnost stafylokoků. Vzorky byly inokulovány do masopeptonového bujónu s následným vyočkováním na krevní agar.

Ve druhé části byl sledován průchod stafylokoků vnitřní podskořápečnou blanou modifikovanou metodou podle B o a r d a a B o a r d a (1967) s použitím Baird-Parkerova agaru, v časových intervalech 3, 6, 9 a 14 dní.

Ve třetí části jsme studovali rychlost penetrace kmene *Staphylococcus aureus* vaječnými strukturami v hodinových časových intervalech od 1 do 12 hodin inkubace metodikou popsanou v první části.

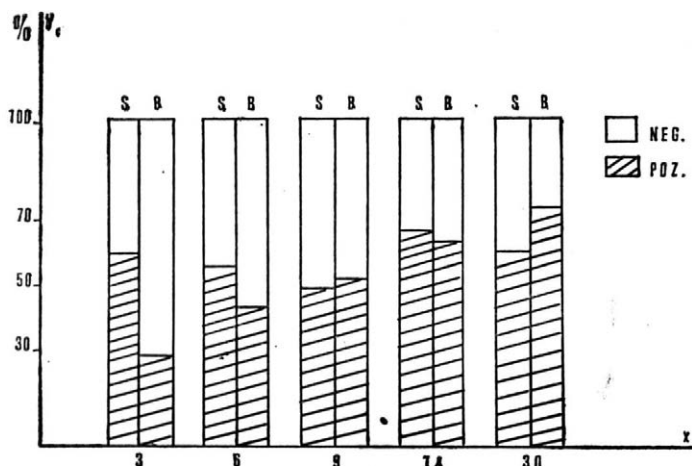
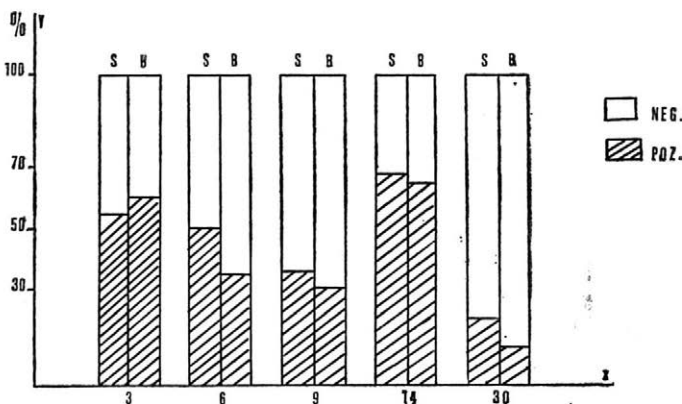
Jako kontrola bylo vyšetřeno 90 čerstvých neinfikovaných vajec.

V Ý S L E D K Y

Penetrace stafylokoků vaječnými strukturami byla studována u 490 vajec, kontrolních vajec bylo vyšetřeno 90. V první části pokusu bylo vyšetřeno 300 vajec mytých a dezinfikovaných a 85 vajec nemytých. Výsledky jsou uvedeny na obr. 1 až 3. Rozdíl v penetraci stafylokoků u vajec mytých a nemytých byl hodnocen Studentovým *t*-testem a je statisticky významný na 1% hladině významnosti.

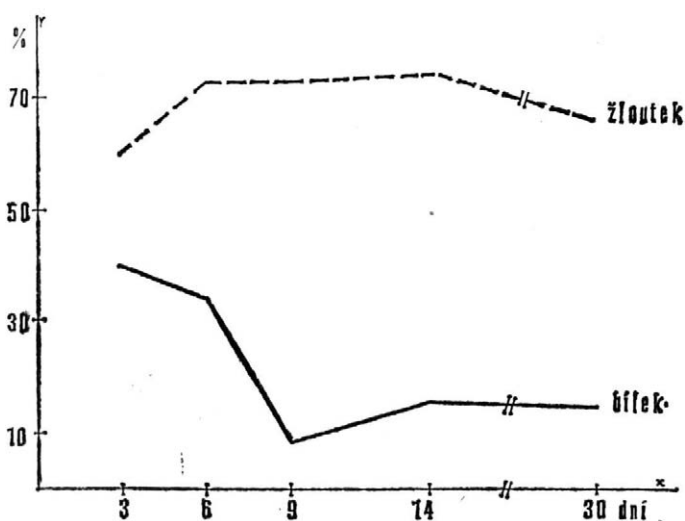
V druhé části, ve které jsme studovali penetraci stafylokoků podskořápečnými blanami, jsme vyšetřili 60 vajec. U 20 vajec jsme opatrně odstranili skořápku na tupém konci a suspenzi kmene aplikovali na vnější podskořápečné blány. Penetrace stafylokoků do agaru byla ve všech stu-

1. Penetrace kmene *Staphylococcus aureus* vaječnou skořápkou (vejce nemytá), osa x — dny skladování, osa y — procento záchytu, S — stěr z vnitřní stěny skořápky, B — podskořápečné blány



2. Penetrace kmene *Staphylococcus aureus* vaječnou skořápkou (vejce mytá), osa x — dny skladování, osa y — procento záchytu, S — stěr z vnitřní stěny skořápky, B — podskořápečné blány

3. Izolace kmene *Staphylococcus aureus* ze žloutku a bílku



dovaných časových intervalech 100 %. 40 vajec jsme kontaminovali na povrchu skořápky. Prostup stafylokoků do Baird-Parkerova agaru byl po třech dnech skladování pozitivní u 30 %, po šesti dnech u 70 %, po devíti dnech u 90 % a po čtrnácti dnech u 100 % kontaminovaných vajec.

Ve třetí části jsme u 45 vajec sledovali rychlost pronikání stafylokoků do vaječných struktur. Stafylokoky jsme zachytili ve všech vaječných strukturách již po hodině inkubace.

Při vyšetřování kontrolních vajec jsme stafylokoky izolovali ve dvou případech z vnitřní stěny skořápky a ve dvou případech ze žloutku. Ostatní vejce byla negativní.

DISKUSE

Predominantní mikroflóru, izolovanou z celých skořápečných vajec, tvoří G-mikroorganismy, které jsou většinou lysozym rezistentní a vykazují aktivní pohyb. Tyto dvě vlastnosti podporují pronikání mikroorganismů skořápečnými strukturami do vaječného obsahu. Stafylokoky jako G+ mikroorganismy jsou nepohyblivé, jsou však lysozym rezistentní (Schleifer, 1974). Řada autorů tvrdí, že možnost jejich pronikání do vaječného obsahu je minimální (Baker, 1974). Naše studie ukázala, že stafylokoky jsou schopné pronikat všemi vaječnými strukturami, a to již v krátké době po kontaminaci.

Výsledkem několikaletého studia mechanismu penetrace bakterií (Vadehra a Baker, 1972), bylo zjištění, že kritickou roli v penetračním procesu hraje elektrický náboj penetrující molekuly. Čím negativnější byl náboj penetrující molekuly, tím rychlejší byla penetrace. U skořápečných membrán je tomu naopak. Domníváme se, že tato skutečnost je hlavní příčinou pronikání stafylokoků do vaječného obsahu. Aplikace suspenze stafylokoků na povrch skořápečných blan prokázala, že tyto mikroorganismy pronikají oběma blanami, přes vysoký obsah lysozymu ve vnitřní bláně, velmi dobře. Při aplikaci suspenze na povrch skořápky jsme zaznamenali v kratších časových intervalech některé negativní výsledky, což souvisí pravděpodobně s pórézností skořápky. Vzájemný vztah mezi pórovitostí skořápky a stupněm penetrace bakterií do vaječného obsahu prokázali Krafft aj. (1958) a Fromm a Monroe (1960).

Příčinou nízkého procenta nálezů stafylokoků ve vaječném bílku je podle našeho názoru především vysoké pH bílků. Úlohu conalbuminu a avidinu v tomto případě neznáme.

Kažení vajec způsobují převážně zástupci rodů: *Achromobacter*, *Escherichia*, *Flavobacterium*, *Proteus*, *Pseudomonas*, *Alkaligenes* (Sigmund, 1969). Stafylokoky jako původci kažení vajec nebyly izolovány, i když svými lipolytickými a proteolytickými vlastnostmi by mohly přispět k tomuto procesu.

Při zpracování vajec na vaječné výrobky (melanž, solené a slazené žloutky) i malé množství stafylokoků, které se dostane do vaječné směsi buď s povrchu skořápky nebo s vaječným obsahem, se může při špatných technologických podmínkách výroby masívně pomnožit a vyvolat onemocnění lidí.

Literatura

- BAKER, R. C.: Microbiology of eggs. J. Milk Fd Technol., 37, 1974, s. 265-268.
- BOARD, P. A. — BOARD, R. G.: A method of studying bacterial penetration of the shell of the hen's egg. Lab. Pract., 16, 1967, s. 471-472, 482.
- FROMM, D. — MONROE, J. R.: Interior physical quality and bacterial contamination of market eggs as influenced by egg shell porosity. Fd Technol., 14, 1960, s. 401-403.
- KRAFT, A. A. — NALLY Mc, E. H. — BRANT, A. V.: Shell quality and bacterial infection of shell eggs. Poult. Sci., 1958, s. 638-644.
- LIFSHITZ, A. R. — BAKER, R. C. — NAYLOR, H. B.: The relative importance of chicken egg exterior structures in resisting bacterial penetration. J. Fd Sci., 29, 1964, s. 94-99.
- SCHLEIFER, K. H.: Differentiation of *staphylococci* and *micrococci* based on chemical and biochemical properties. Abstracts of XIth conference on the taxonomy of bacteria, 1974.
- SIGMUND, V.: Mikrobiológia vajec a vaječného obsahu. Hydin. Priem., 11, 1969, s. 87-109.
- SIMMONS, E. R. — AYRES, J. C. — KRAFT, A. A. — Effect of moisture and temperature on ability of salmonellae to infect shell eggs. Poult. Sci., 49, 1970, s. 761-768.
- VADEHRA, D. V. — BAKER, R. C.: Bacterial penetration of eggs. N. York's Food and Life Sci., 5, 1972, s. 9-11.
- WALDEN, C. C. — ALLEN, I. V. — TRUSSELL, P. C.: The role of the egg shell and shell membranes in restraining the entry of microorganisms. Poult. Sci., 35, 1956, s. 1190-1196.
- WILLIAMS, J. E. — DILLARD, L. H. — HALL, G. O.: The penetration patterns of *Salmonella typhimurium* through the outer structures of chicken eggs. Avian Dis., 12, 1968, s. 445-446.

Došlo dne 23. 7. 1975

ЛУКАШОВА Я., ЛАБОУНЕК М. (Ветеринарный институт, Брно, Чехословакия). Изучение проникания стафилококков через яичную скорлупу. Vet. Med. (Praha) 21 (4): 215-220, 1976.

Проникание стафилококков через структуру скорлупы внутрь яйца изучалось у 490 яиц. В результате проведения серии опытов установили, что стафилококки способны проникать сквозь все яичные структуры, причем уже вскоре после загрязнения (спустя 1 час). Соответственно полученным нами результатам проникание стафилококков обусловлено наличием кутикулы, различной пористостью скорлупы и высоким pH белка.

Staphylococcus aureus; проникание; яичная скорлупа; содержимое яйца

LUKÁSOVÁ J., LABOUNEK M. (University of Veterinary Medicine, Brno, Czechoslovakia). Penetration of *Staphylococci* through the Egg-Shell. Vet. Med. (Praha) 21 (4): 215-220, 1976.

Penetration of *staphylococci* through egg-shell structures into the egg content was studied in 490 eggs. A series of experiments proved that *staphylococci* were able to penetrate through all egg-shell structures in a short time (of 1 hour) after the contamination. According to the results of these experiments, penetration was affected by the presence of cuticle, different shell porosity and high pH of the egg white.

Staphylococcus aureus; penetration; egg-shell; egg content

LUKÁSOVÁ J., LABOUNEK M. (Veterinärmedizinische Hochschule, Brno, Tschechoslowakei). Das Studium des Durchdringens von *Staphylokokken* durch die Eier-schale. Vet. Med. (Praha) 21 (4): 215-220, 1976.

Das Durchdringen der *Staphylokokken* durch die Schalenstruktur ins Eierinnere wurde bei insgesamt 490 Eiern untersucht. Anhand von einer ganzen Reihe von

Versuchen konnte nachgewiesen werden, daß die Staphylokokken fähig sind, alle Eierstrukturen durchzusetzen und zwar in einer sehr kurzen Zeit nach der Kontamination (1 St.). Unseren Versuchsergebnissen nach zu schließen steht das Durchdringen unter dem Einfluß von Kutikula, von unterschiedlicher Porosität der Eierschale und endlich vom hohen pH-Wert des Eiweißes.

Staphylococcus aureus; Durchdringen; Eierschale; Eiergehalt

Adresa autorů:

MVDr. Jindra Lukášová, MVC. Miroslav Labounek, katedra hygieny a technologie potravin, Vysoká škola veterinární, Palackého 1-3, 612 42 Brno

SYRIDLO AKO ZDROJ VÝSKYTU SALMONEL V NIEKTORÝCH MLIEČNYCH VÝROBKOV

C. Grieger, J. Havrila, H. Hromada, G. Lengyel, M. Pakánová, R. Perl,
F. Verdon

Štátny veterinárny ústav, Prešov

Štátny veterinárny ústav, Košice

Krajské veterinárne zariadenie, Košice

Okresné veterinárne zariadenie, Prešov

GRIEGER C., HAVRILA J., HROMADA R., LENGYEL G., PAKÁNOVÁ M.,
PERL R., VERDON P. *Syridlo ako zdroj výskytu salmonel v niektorých mlieč-
nych výrobkoch*. Vet. Med. (Praha) 21 (4) : 221-227, 1976.

Pri mikrobiologickom vyšetrovaní potravín bol zistený rozsiahlejší výskyt sal-
monel sérotypu *S. agona* v mliečnych výrobkoch, a to najmä v ovčom hrud-
kovom syre, bryndze a tvrdých syroch. Zdrojom rozšírenia salmonel bolo sy-
ridlo vyrobené v jednom závode. V súvislosti s riešením tohto problému bolo
spolu vyšetrených 1268 vzoriek rôzneho materiálu, u ktorého v 69 prípadoch
boli izolované salmonely. Veterinárna služba vypracovala a za spolupráce
s ďalšími zložkami uskutočnila rozsiahle opatrenia, ktorými sa podarilo v po-
merne krátkej dobe výskyt salmonel zlikvidovať bez výrazného zvýšenia hla-
diny tohto sérotypu v populácii.

mikrobiologické vyšetrovanie; salmonely; *S. agona*

Výskyt alimentárnych toxikoinfekcií, ktorých zdrojom je mlieko
a mliečne výrobky, nie je vzácnosťou. Na týchto ochoreniach ľudí sa
zvlášť podieľajú zárodky z rodu *Salmonella*, *Shigella*, *Staphylococcus* a i.

V súvislosti so salmonelami Sedláčik a Rische (1961) pouka-
zujú na najväčšiu epidémiu týfu uvádzanú v dejinách. V Montrealy r. 1927
ochorelo 4849 ľudí, z ktorých 489 zomrelo. Príčinou bol bacilonosič v jed-
nej veľkej mliekárni.

Gontová a i. (1964) pripisujú prípad salmonelózy po použití
čerstvej bryndze a urdy. Tieto potraviny konzumovalo spolu 105 ľudí,
z ktorých ochorelo 84. Pre ťažšie klinické príznaky bolo 17 ľudí hospitali-
zovaných. Pôvodcom boli choré ovce. Izolovaný bol sérotyp *S. typhi*
murium.

Gurýč (1969) pripomína, že hygienické požiadavky pri získavaní
a spracovaní ovčieho mlieka nemožno podceňovať, ako ukázali viaceré
epidémie vzniklé po skonsumovaní výrobkov z ovčieho mlieka. Uvádza
prípad samonelózy z jedného salaša z nasávacej oblasti ŠVÚ Žilina, kde
celý personál salaša a veľa konzumentov ovčieho syra ochorelo. Pôvod-
com bola *S. derby*.

V tejto práci je popísaný prípad rozsiahlejšieho výskytu *S. agona* v mliečnych výrobkoch r. 1974 vo Východoslovenskom kraji. Pôvodcom rozšírenia tohto sérotypu bolo syridlo.

S rozsiahlejším vyšetrovaním vzoriek sa započalo na základe ochorenia detí v niekoľkých škôlkach okresu Prešov na dyzentériu. Pri dôkladnom sledovaní anamnesticky podozrivých potravín bola vyšetrovaná aj bryndza, a to tak vo výrobni, ako aj v distribúcii. Vyšetrenie na zárodky z rodu *Shigella* bolo síce negatívne, avšak u týchto vzoriek bola izolovaná na Štátnom veterinárnom ústave v Prešove, ako aj na Okresnej hygienickej stanici v Prešove *Salmonella agona*.

nálezov salmonel v ovčom hrudkovom syre, pristúpilo sa k rozsiahlemu nálezov samonel v ovčom hrudkovom syre, pristúpilo sa k rozsiahlemu vyšetrovaniu vzoriek rôzneho materiálu za účelom zistenia zdroja i rozsahu výskytu salmonel. Táto práca bola koordinovaná KVZ Košice a najväčší podiel práce v teréne vykonali OVZ Prešov i ďalšie OVZ Východoslovenského kraja. Na diagnostike sa podieľali Štátny veterinárny ústav Prešov a Košice.

MATERIÁL A METÓDA

Ako materiál boli použité vzorky, a to najviac z ovčieho hrudkového syra, ďalej z bryndze, z tvrdých a mäkkých syrov, zo syridla a zo sterov.

Vzorky na Štátne veterinárne ústavy dodávali najmä pracovníci veterinárnej hygienickej služby okresu Prešov, v menšej miere aj pracovníci príslušných OVZ zo spádových oblastí bryndziarní.

Pri metodike vyšetrovania sme postupovali podľa zásad uvedených v Sborníku veterinárných predpisů (1962), ako aj podľa ČSN 56 0100 (1970).

V priebehu vyšetrovania tohto prípadu bol celý diagnostický postup zameraný na zistenie salmonel. Z materiálov, ako napr. syry, bryndza a syridlo, sa použila ako pomnožovacia pôda Kauffmannova, do ktorej sa inokulovalo 10 g, resp. 10 ml materiálu na 100 ml pomnožovacej pôdy. Po 24 hod. inkubácie pri 37 °C sa vyočkovávalo na Endo-agar a Christensenov agar. U časti vzoriek sa použili aj ďalšie pomnožovacie pôdy, a to selenitová a Rappaportova. Stery sa inokulovali do Kauffmannovej pomnožovacej pôdy (cca 10–15 ml) s následným vyočkovaním na Endo-agar a Christensenov agar. Suspektné kolónie z týchto pevných pôd sa prešetrovali ďalej biochemicky a sérologicky, podľa zásad pre typizáciu bakteriálnych kmeňov. Izolované kmene samonel boli odoslané na overenie sérotypu na Ústredný štátny veterinárny ústav Bratislava.

VÝSLEDKY

V uvedenom štádiu vyšetrovania boli odobrané vzorky z čerstvo vyrobenej bryndze priamo z výroby. Keďže v niektorých vzorkách bryndze boli zistené salmonely, hľadal sa zdroj v ovčom hrudkovom syre, ktorý je takmer jedinou surovinou pri výrobe bryndze. Organizácia dodávania hrudkového syra bola zabezpečená tak, aby bolo možné identifikovať vý-

robcu. Od jedného výrobcu sa odobrali vzorky cca z 10 % dodávaných hrudiek ovčieho syra. Taktiež odobrané mliečne výrobky z kravského mlieka. Prehľad druhov výrobkov a výsledky vyšetrenia ukazuje tab. I.

Z tab. I je vidieť, že po počiatočnom zistení salmonel v pomerne vysokom percente u vzoriek bryndze (33,3 %) odobral sa veľký počet vzoriek hrudkového syra (spolu 957 vzoriek). Nález 46 pozitívnych vzoriek z rozličných salašov nasvedčoval tomu, že spoločným zdrojom môže byť syridlo. Po potvrdení tejto domienky (bližšie tab. II) bolo potrebné prešetriť aj výrobky z kravského mlieka, pretože syridlo sa taktiež používa v mliekárenskej technológii pri výrobe kravských tvrdých i mäkkých syrov. Z tab. I je vidieť, že v štyroch prípadoch zo skupiny tvrdých syrov bola zistená salmonela. Spolu bolo teda prešetrovaných 1040 mliečnych výrobkov s nálezom 57 pozitívnych vzoriek na salmonely, čo je 5,4 %.

I. Výsledky vyšetrenia vzoriek mliečnych výrobkov

Výrobok z mlieka	Druh výrobku	Počet vzoriek		% pozitívnych salmonel	Sérotyp
		došlých	pozitívnych na salmonely		
Ovčieho	bryndza	21	7	33,3	<i>S. agona</i>
	hrudkový syr	957	46	4,8	<i>S. agona</i>
	iné	4	—		
Kravského	tvrdé syry	54	4	7,4	<i>S. agona</i>
	mäkké syry	4	—		
Spolu		1040	57	5,4	<i>S. agona</i>

II. Výsledky vyšetrenia syridla

Druh vyšetrenia	Počet vzoriek	Z toho			Prečo nevyhovuje
		vyhovuje	nevyhovuje		
			počet vzoriek	%	
Organoleptické	57	30	27	47,3	silný zákal, sediment, atypická vôňa
Chemické	8	5	3	37,5	nižšie % NaCl
Mikrobiologické	57	45	12	21,0	<i>S. agona</i>

Syridlo sa ukázalo ako zdroj rozšírenia salmonel, preto sa mu venovala pri vyšetrovaní zvláštna pozornosť. Výsledky ukazuje tab. II.

Z tab. II vyplýva, že z celkového počtu 57 syridiel organolepticky nevyhovovalo 47,3 %, pritom u všetkých 12 syridiel, kde bola zistená salmonela, boli súčasne aj zmeny organoleptické. Výsledky chemického vyšetrenia poukázali na značne rozdielne hodnoty obsahu NaCl ako významného konzervačného činidla, a to napr. v jednej vzorke 7,40 %,

v ďalšej 8,42 %, prípadne 0,63 %. U ostatných chemicky vyšetrovaných syridiel sa obsah soli pohyboval v medziach 12,85 až 13,58 %. Niektoré syridlá boli vyšetrené ako originálne vzorky, iné boli stiahnuté zo salašov alebo mliekárni. Je potrebné podotknúť, že 32 syridiel pochádzalo od známych troch výrobcov a u 25 syridiel nebolo možné určiť výrobcu.

Celý prípad výskytu salmonel v mliečnych výrobkoch bol vyšetrený v priebehu jedného mesiaca. Komplexný prehľad o počte a druhu materiálu, ako aj o výskyte salmonel, podáva tab. III.

III. Prehľad o vyšetrenom materiáli a jeho bakteriologických výsledkoch

Druh vyšetrovaného materiálu	Počet došlých vzoriek	Pozitívne salmonely		Sérotyp
		počet vzoriek	%	
Výrobky z ovčieho mlieka	982	53	5,3	<i>S. agona</i>
Výrobky z kravského mlieka	58	4	5,8	<i>S. agona</i>
Syridlo	57	12	21,0	<i>S. agona</i>
Stery	171	—		
Spolu	1268	69	5,4	<i>S. agona</i>

Z tab. III si možno urobiť predstavu o značnom pracovnom zaťažení ľudí, ktorí sa na riešení tohto prípadu zúčastnili. Ďalej táto tabuľka poukazuje na vážnosť celého prípadu z hľadiska hygienického.

Z celkového počtu 69 pozitívnych vzoriek boli u 57 mliečnych výrobkov izolované salmonely. U týchto výrobkov je potrebné si uvedomiť, že pred konzumáciou sa už tepelne neupravujú.

Zvlášť významná bola aj otázka ekonomická. Z tohto dôvodu veterinárna služba venovala celému prípadu zvláštnu starostlivosť a cez krajskú nálezovú komisiu zabezpečovala v kraji hlavne tieto opatrenia:

- organizáciu odberu a vyšetrovania požadovaného materiálu, zvlášť ovčieho hrudkového syra,
- stiahnutie všetkých tekutých syridiel z mliekárni a salašov,
- pozastavenie výroby mliečnych výrobkov až do dodania nových prešetrených syridiel,
- kontrolu čistenia a dezinfekcie príslušných výrobní,
- prešetrenie ľudí na bacilonosičstvo,
- prešetrenie pitnej vody,
- posudzovanie mliečnych výrobkov s pozitívnym i negatívnym nálezom salmonel podľa miesta a charakteru výskytu,
- zabezpečenie kontroly výroby a distribúcie syridla,
- ďalšie opatrenia.

Účinnosť týchto opatrení bola sledovaná opätovným odberom vzoriek a sledovaním výrobní v ďalšom období. V priebehu roka nebola ani v jednom prípade z mlieka alebo mliečnych výrobkov izolovaná salmonela.

Výsledky tejto práce dokázali, že pôvodcom rozšírenia salmonel v mliekárenských výrobkoch bolo syridlo. Svedčia o tom nielen pozitívne nálezy u rôznych druhov mliekárenských výrobkov, u ktorých sa použilo syridlo, ale aj zhodný sérotyp u syridla i výrobkov, a to *Salmonella agona*.

Problém syridla v poslednej dobe je veľmi zložitý. Teplý (1970) uvádza, že problematika výroby syridiel pre potrebu syrárstva sa stala stredom záujmu svetovej mliekárenskej verejnosti až v posledných rokoch. Dôvod tkvie v tom, že klasické syridlo, vyrábané dlhé roky zo žalúdka cicajúcich teliat, sa stalo úzkoprofilovým výrobkom. Moderná technológia živočíšnej výroby, smerujúca k výkrmu teliat na vyššiu hmotnosť 150, 200 aj viac kg, vedie a do budúcnosti ešte viac povedie k obmedzeniu porážky teliat ľahkých, t. j. v štádiu cicania mlieka. To vedie k sústavnému každoročnému znižovaniu množstva žalúdkov týchto ľahkých teliat, ktoré sú jedinou plnohodnotnou surovinou k výrobe klasického reninového syridla.

Aj v našom prípade nastal značný problém po stiahnutí podozrivých syridiel zo salašov a mliekární. Náhrada tohto väčšieho množstva syridla musela byť riešená dovozom zo zahraničia. Výroba mliečnych výrobkov závislých od syridla bola pozastavená na niekoľko dní, kým nebolo dodané nové prešetrené syridlo.

Doležalík (1962) upozorňuje, že pri výrobe priemyslového syridla je treba dodržiavať čistotu a veľkú starostlivosť venovať výberu dobrých žalúdkov. I keď tekuté syridlá sú konzervované 2,5 až 3,0 % kyselinou boritou a obsahujú 18 až 20 % NaCl, môžu obsahovať mikroorganizmy, ktoré bývajú príčinou rôznych väd syrov. Autor ďalej uvádza, že je veľký rozdiel medzi mikrobiologickou akosťou syridiel. V poslednom období nie je výskyt mikrobiologicky závadných syridiel vzácnosťou, preto je nutné syridlá vždy hodnotiť z hľadiska mikrobiologického a závadné z používania pri výrobe syrov vylúčiť.

Aj z výsledkov našej práce sa dá plne súhlasiť s názorom posledného autora. V našom prípade sa pravdepodobne pri výrobe nevenovala dostatočná pozornosť hygiene a kvalite suroviny, pretože sa do syridla dostali zárodky nevhodné ani nie tak z technologického hľadiska výroby syrov, ale závažné z hľadiska zdravotného, pretože to boli patogénne mikroorganizmy.

V syridle boli zistené aj hodnoty obsahu soli nie dostatočne vysoké a naviac so značne rozdielnymi hodnotami. Svedčí to jednak o neštandardnosti výrobkov a hlavne o nesprávnej distribúcii a manipulácii so syridlom.

Z diagnostického hľadiska je dôležité zdôrazniť, že pri vyšetrovaní vzoriek sme použili na inokuláciu materiálu do pomnožovacej pôdy množstvo cca 10 g, alebo 10 ml materiálu na 100 ml pomnožovacej pôdy. Zdôrazňujeme to preto, že nie vždy pri takých prípadoch, najmä nie vtedy, keď je potrebné vyšetriť veľký počet vzoriek v krátkom termíne, sa bežne používa takéto množstvo a laboratória sa uchylujú k používaniu 1 g materiálu na 10 a 15 ml pomnožovacej pôdy. Z našich skúseností (Grieger, Pakánová, 1974), ako aj zo skúseností ďalších auto-

rov (Šimkovičová a i., 1973), dávajú malé inokulá podstatne nižšiu až negatívnu záchytnosť.

Najvýznamnejším kladom tejto práce je skutočnosť, že včasným odhalením zdroja infekcie potravín a rýchlymi opatreniami, ktoré veterinárna služba urobila, predišlo sa rozsiahlejším epidémiám, ktoré by sa zákonite objavili pri masovom pomnožení salmonel v prvovýrobe mlieka, alebo pri ďalšom spracovaní mlieka.

Pre praktické využitie výsledkov tejto práce odporúčame tieto opatrenia:

a) Zvýšiť starostlivosť pri výrobe suroviny a dodržiavať hygienu a technologické postupy pri výrobe syridla.

b) Zvýšiť kontrolu kvality expedovaných šarží syridla, predovšetkým z hľadiska mikrobiologického tak, aby bol nález na patogénne zárodoky a zvlášť na salmonely negatívny.

c) Sprísniť spôsob evidencie, distribúcie, balenia a označovania syridla určeného v drobnom balení najmä pre jednotlivé poľnohospodárske závody (salaše).

d) Zlepšiť hygienu pri dojení, ošetrovaní a spracovávaní ovčieho mlieka, ako aj hygienu práce so syridlom.

e) V diagnostickej mikrobiologickej praxi prejsť na používanie inokula v množstve najmenej 10 g, resp. 10 ml na 100 ml pomnožovacej pôdy.

Literatúra

- DOLEŽÁLEK, J.: Mikrobiologie mlékárenského a tukařského průmyslu. Praha 1962, 345 s.
- GRIEGER, C. — PAKÁNOVÁ, M.: *Salmonella* irumu v sušenej pasterizovanej vaječnej hmote. Vet. Čas., 16, 1974, s. 89-92.
- GONTOVAJA, N. A. — VAJNBERG, E. G. — KAC, E. I.: Slučaj breslavľského salmonelleza, vyzvannogo upotreblennem v pišču svežej malosolenoj bryndzy. Ž. Mikrobiol. Epidem. Immunobiol., 1964, č. 2, s. 150.
- GURLYČA, V.: Hygienická úroveň ovčieho mlieka. Veterinářství, 19, 1969, s. 291.
- SEDLÁK, J. — RISCHÉ, H.: Enterobacteriaceae — Infektionen. Leipzig 1961. 480 s.
- ŠIMKOVIČOVÁ, H. — GORNER, F. — BRODŇANOVÁ, O.: Mikrobiologické otázky sušených vaječných produktov. Hydin. Priem., 15, 1973, s. 345.
- TEPLÝ, M.: Současný stav a perspektivy ve výrobě a použití syřidel. Zborník Syrotech. 70, Žilina, 1970, 205 s.
- ČSN 56 0100, Mikrobiologické zkoušení poživatin, předmětů běžného užívání a prostředí potravinářských provozoven. Praha 1970. 236 s.
- Sborník veterinárních předpisů. Praha 1962. 670 s.

Došlo dne 23. 7. 1975

ГРИГЕР Ц., ГАВРИЛА Й., ГРОМАДА Р., ЛЕНДЕЛЬ Г., ПАКАНОВА М., ПЕРЛ Р., ВЕРДОН Ф. (Государственный ветеринарный институт, Прешов, Государственный ветеринарный институт, Кошице, Областная ветеринарная больница, Кошице, Районная ветеринарная лечебница, Прешов, Чехословакия). Сычужный фермент как источник появления сальмонелл в некоторых молочных продуктах. Vet. Med. (Praha) 21 (4): 221-227, 1976.

При микробиологическом обследовании пищевых продуктов было выявлено большое наличие сальмонелл серотипа *S. agona* в молочных изделиях, причем особенно в словацком овечьем

копченом сыре, в брынзе и твердых сырах. Источником распространения сальмонелл был сычужный фермент, произведенный в одном предприятии. В связи с решением этой проблемы было в общем обследовано 1268 образцов разного материала, у которого в 69 случаях были изолированы сальмонеллы. Ветеринарная служба разработала и при сотрудничестве с другими органами осуществила обширные мероприятия, в результате которых удалось с сравнительно скорым сроком появление сальмонелл ликвидировать без существенного повышения уровня этого серотипа в популяции.

микробиологическое обследование; сальмонеллы; *S. agona*

GRIEGER C., HAVRILA J., HROMADA R., LENGYEL G., PAKÁNOVÁ M., PERL R., VERDON F. (State Veterinary Institute, Prešov, State Veterinary Institute, Košice, Regional Veterinary Station, Košice, District Veterinary Station, Prešov, Czechoslovakia). *The Rennet as a Source of Salmonella Occurrence in Some Milk products*. Vet. Med. (Praha) 21 (4) : 221-227, 1976.

During a microbiological examination of foodstuffs, frequent occurrence of salmonellas of *S. agona* serotype was found in milk products, namely in ewe's milk cloddy cheese, ewe's milk curd and hard cheeses. The rennet produced by one enterprise was a source of salmonella spreading. To solve this problem, 1268 different samples were examined in which salmonellas were isolated in 69 cases. The Veterinary Service worked out and in cooperation with other bodies took steps to liquidate the occurrence of salmonellas in a short time; the level of that serotype in the population was not increased.

microbiological examination; salmonellas; *S. agona*

GRIEGER C., HAVRILA J., HROMADA R., LENGYEL G., PAKÁNOVÁ M., PERL R., VERDON F. (Staatliches Veterinärinstitut, Prešov, Staatliches Veterinärinstitut, Košice, Bezirksveterinäreinrichtung, Košice, Kreisveterinäreinrichtung, Prešov, Tschechoslowakei). *Das Lab als Hauptquelle des Auftretens von Salmonellen in einigen Milchprodukten*. Vet. Med. (Praha) 21 (4) : 221-227, 1976.

Bei der mikrobiologischen Untersuchung der Lebensmittel konnte ein erhöhtes Auftreten von Salmonellen vom Serotyp *S. agona* in einigen Milchprodukten und zwar vor allem im Schafkäse, im Bryndza-Käse und im harten Käse nachgewiesen werden. Die Hauptquelle der Verbreitung von Salmonellen ist das in einem Betrieb hergestellte Käselab. Im Zusammenhang mit der Lösung dieses Problems wurden 1268 Proben verschiedenen Materials untersucht und in 69 Fällen konnten Salmonellen isoliert werden. Der Veterinärdienst erarbeitete und in Zusammenarbeit mit anderen Branchen realisierte umfassende Maßnahmen dank denen es in relativ kurzer Zeit gelang, das Auftreten von Salmonellen zu liquidieren ohne das Niveau von diesem Serotyp in der Population in ausgeprägter Form zu erhöhen.

mikrobiologische Untersuchungen; Salmonellen; *S. agona*

Adresa autorů:

MVDr. C. Grieger, CSc., MVDr. M. Pakánová, Štátny veterinárny ústav, 080 00 Prešov

MVDr. J. Havrila, MVDr. R. Hromada, Krajské veterinárne zariadenie, 040 00 Košice,

MVDr. G. Lengyel, MVDr. R. Perl, Štátny veterinárny ústav, 040 00 Košice, MVDr. F. Verdon, Okresné veterinárne zariadenie, Prešov

ANATOMIJA DOMAŠNÍCH ŽIVOTNÝCH

ANATOMIE DOMÁCÍCH ZVÍŘAT

A. I. Akajevskij

Izd. Kolos, Moskva 1975; 3. vyd., 591 s., 326 obr., 16 bar. tab., formát 18 X 27 cm, celoplátěná vazba, cena 2,64 Rbl.

Ve třetím vydání knihy *Anatomie domácích zvířat* od prof. Akajevského nejsou při zběžném pohledu nápadné změny proti vydání předchozímu. Při jejich pročitání však zjišťujeme, že mnohé kapitoly jsou v různém stupni přepracovány a doplněny.

Součástí nově zpracované kapitoly o soustavě kožní — autor N. V. Michajlov — je prakticky velmi užitečná tabulka udávající u jednotlivých domácích zvířat tloušťku kůže, její celkovou plochu, hmotnost, poměrnou hmotnost k hmotnosti těla aj. I. V. Chrustaleva je autorkou nově sepsané stati zabývající se morfologickými zvláštnostmi těla domácích ptáků ve srovnání s domácími savci. Nejzávažnější a nejzáslušnější změnou je důsledné uplatnění mezinárodní veterinárně anatomické nomenklatury (NAV). V tomto směru má publikace světový primát. Je první ucelenou učebnicí systematické anatomie, vyčerpávající všechny systémy s použitím NAV.

Jisté změny jsou i v obrazové části, jmenovitě u barevných příloh, do kterých bylo zařazeno sedm nových tabulí. Zvláště vhodné je nové zařazení topografických obrazů distálních úseků končetin, protože složité topografické poměry nelze dobře vyjádřit černobílým obrazem. Obrazové vybavení anatomických publikací obecně je velmi důležité. Jeho kvalita a názornost rozhoduje do značné míry o použitelnosti a úspěchu díla. V učebnici Akajevského jde vesměs o velmi kvalitní a dobře reprodukovatelné perovky. Pokud tomu tak výjimečně není, je to způsobeno poněkud horší kvalitou papíru než byla u druhého vydání. Počet obrazů je adekvátní rozsahu textu. Je jich totiž mnohem více než vyplývá z číslování, neboť pod jednotlivými čísly obrazů je jich zahrnuto až 12. To umožňuje pohotově srovnání anatomických struktur u jednotlivých druhů, snažší a trvalejší zapamatování si druhových rozdílů.

Text začíná objasněním pojmu anatomie, jejího vzniku, historie, klasifikace a zařazením v biologických vědách. Pokračuje obecnými zákonitostmi stavby živého organismu s přehledem organových soustav a tělních tkání, objasněním pojmu orgán, organismus, jejich vzájemných vztahů, vysvětlením termínu norma a variace a přehledem tělních krajín. Pak následují jednotlivé systémy: kostra, klouby, systém svalový, kožní, pneumogastrický, močopohlavní, cévní, žlázy s vnitřní sekrecí, soustava nervová, analyzátoři (smysly) a přehled anatomie domácích ptáků. Doporučená literatura, předmětový registr a velmi podrobný obsah tvoří závěr knihy. U jednotlivých systémů je nejdříve podán obecný popis charakterizující funkci a obecné zákonitosti jeho stavby. Následuje podrobný popis jednotlivých orgánů obecně a výstižně druhové rozdíly: pes, prase, skot a kuň. Takové podání látky umožňuje velmi pohotovou aplikaci získaných vědomostí z druhu na druh.

Výrazným rysem knihy je dynamické pojetí systematické anatomie na bázi onto-, fylogenetické, která dává nahlédnout do zákonitostí vývoje orgánů či systému orgánů ve spojitosti s faktory vnějšího i vnitřního prostředí a ve spojitosti se změnami tvaru a funkce. To také usnadňuje pochopit orgán jako výsledek složitého, neukončeného vývoje a pochopit i případné morfologické a funkční odchylky a směr dalšího vývoje. Je důrazněn princip jednoty organismu a podtržena role dvojí inervace orgánů, funkce i cévní, a jejich vzájemný vztah. Dlouholeté, neobyčejně bohaté pedagogické zkušenosti autora se odrážejí ve věcném, srozumitelném podání látky.

Knihy je cenným obohacením veterinárně anatomické literatury. Je určena především studujícími veterinární anatomie. Lze ji však stejně dobře doporučit veterinárními lékaři a výzkumnými pracovníky, všem, kteří se potřebují rychle orientovat nebo si osvěžit vědomosti v konkrétní anatomické problematice. Kromě uvedených hodnot je kniha také atraktivní neuvěřitelně nízkou cenou.

Doc. MVDr. Jiří K a m a n, CSc.

Vysoká škola veterinární, Brno

ÚČINNOST NĚKTERÝCH BARBITURANŮ U KUŘAT ROZDÍLNÉHO VĚKU

J. Šimůnek, J. Švec, E. Hegerová, J. Jaroš, S. Jancke

Vysoká škola veterinární, Brno

ŠIMŮNEK J., ŠVEC J., HEGEROVÁ E., JAROŠ J., JANCKE S. Účinnost některých barbituranů u kuřat rozdílného věku. Vet. Méd. (Praha) 21 (4) : 229-235, 1976.

Po intramuskulární aplikaci fenobarbitalu, allobarbitalu a pentobarbitalu v dávkách 40 a 80 mg na kg živé hmotnosti desetičlenným skupinám kohoutků LB ve věku dvou dní, jednoho, dvou a šesti týdnů a osmítýdenním kohoutkům LB ve skupinách po pěti zvířatech byl vyvolán útlum sledován klinickým pozorováním a opakovaným zjišťováním reakce zvířat na zvukové a dotykové podněty, jakož i posouzením kvality některých reflexů (zvl. spontánní poloha těla a korektura boční polohy). Spánek nastoupil nejdříve po pentobarbitalu (dříve u mladších věkových skupin), nejpozději po fenobarbitalu, u kterého se pro velikou mělkost dal také nejhůře hodnotit. Doba spánku byla nejdelší po allobarbitalu (jedině u osmítýdenních byl spánek delší po pentobarbitalu), nejkratší po fenobarbitalu; trvání spánku bylo také rozdílné u různě starých zvířat. Po dávce pentobarbitalu 80 mg kg⁻¹ živé hmotnosti došlo k úhynům ve třech nejmladších věkových skupinách kuřat (u dvoudenních uhynulo devět z deseti, u týdenních osm z deseti a u dvoutýdenních dvě z deseti kuřat). Rozdíly v účinnosti použitých barbituranů ve dvou dávkách pro jednotku živé hmotnosti se projevíly v souvislosti s věkem zvířat, a to i při nepatrných odstupech mezi nejmladšími třemi věkovými skupinami. Ze srovnání s obvyklými dávkami těchto barbituranů pro člověka vyplývají velmi výrazné rozdíly mezidruhové.

fenobarbital; allobarbital; pentobarbital; kuřata LB rozdílně stará

Vzhledem k tomu, že v pokusech s fenobarbitalem na myších (Šimůnek aj., 1971) byl v souhlase s četnými literárními údaji o barbituranech potvrzen rozdílný účinek v závislosti na věku zvířat (savic), pokládali jsme za účelné ověřit, zda se tyto rozdíly, související s ontogenetickými změnami, projeví také u kura domácího. Pokud jde o použití barbituranů u ptáků, našli jsme v písemnictví údaj (Houston a May, 1961) o použití pentobarbitalu individuálně *per os* v želatinových tobolkách u brojlerů před porážkou a v peletovaném krmivu v množství 2, 4 a 6 g sodné soli pro libru, čímž byla vyvolána anestezie, trvající po nejvyšší dávce až šest hodin. Pro výskyt reziduí ve tkáních nebylo používání pentobarbitalu pro tento účel doporučeno, resp. bylo odloženo do vyřešení otázky reziduí. Fritz aj. (1959) použili m. j. butobarbital (butethal) k ovlivnění hmotnostních přírůstků s výsledky, které z tohoto hlediska nebyly pro event. další zpracování zajímavé. Při hle-

dání velmi žádoucího prostředku ke zklidnění drůbeže byl při studiu barbituranů (fenobarbital, hexobarbital, cyklobarbital, pentobarbital) pro tento účel ve VÚBVL Spofa vybrán jako nejvhodnější pro sedativní premix pro drůbež fenobarbital Sedophen^R, ve kterém je obsažen v množství 40 g v 1000 g vehikula; přípravek se používá v množství 250–500–1000 g na 100 kg krmné směsi (Závěr. zpráva, 1973).

MATERIÁL A METODA

K pokusům byly použity barbiturany ze skupiny dlouho-, středně- a krátkodobě působících, a to fenobarbital, allobarbital a pentobarbital, tak jak je rozdělují podle délky účinku Rašková aj. (1970). Tyto barbiturany byly použity ve formě injekčních obchodních přípravků. Aplikovány byly intramuskulárně, každý z nich v dávce 40 mg kg⁻¹ živé hmotnosti v 0,5% roztoku a 80 mg kg⁻¹ živé hmotnosti v 1% roztoku,

I. Nástup spánku a jeho trvání v minutách po i. m. aplikaci fenobarbitalu, allobarbitalu

Věk počet (n) ve skupině prům. živá hmotnost zvířat v g charakter spánku	Fenobarbital			
	40 mg kg ⁻¹		80 mg kg ⁻¹	
	usnutí	spánek	usnutí	spánek
2 dny n = 10 kol. 35	26 ± 7	39 ± 10 mělký	11 ± 6	141 ± 79 přeruš.
1 týden n = 10 kol. 48	21 ± 3	87 ± 4 mělký	10 ± 1	187 ± 85 přeruš.
2 týdny n = 10 kol. 85	16 ± 2	42 ± 3 mělký	11 ± 4	187 ± 82 přeruš.
6 týdnů n = 10 kol. 446	4 ± 0	27 ± 4 mělký	15 ± 2	173 ± 8 přeruš.
8 týdnů n = 5 kol. 490	26	33 somnia	26 ± 6	84 ± 4 mělký

Pozn.: v závorkách je uveden počet zvířat v příslušné skupině
— = není údaj

a to skupinám kohoutků LB ve věku dvou dnů, jednoho, dvou, šesti a osmi týdnů. V každé skupině bylo vždy deset zvířat, jediné u osmitýdenních kohoutků byly skupiny po pěti zvířatech. V pokusech byl sledován nástup spánku a doba probuzení, jakož i charakter spánku (co do hloubky a průběhu). K tomu bylo využito klinického pozorování, opakovaného zjišťování reakce zvířat na dotyk a zvukové podněty (poklepy na klece) a posouzení kvality zvláště reflexu korektury boční polohy a udržení spontánní polohy těla. U přerušovaného spánku bylo jako probuzení hodnoceno období, kdy zvířata již znovu neusínala. Zaznamenané doby usnutí a délky spánku byly v jednotlivých skupinách zprůměrovány a průměry byly charakterizovány vypočítanými mezemi spolehlivosti.

VÝSLEDKY

Výsledky pokusů jsou uvedeny přehledně v tab. I, ve které pro lepší orientaci uvádíme hodnoty zaokrouhlené na celá čísla.

a pentobarbitalu v dávce 40 a 80 mg na kg živé hmotnosti rozdílně starým kuřatům

Allobarbitál				Pentobarbital			
40 mg kg ⁻¹		80 mg kg ⁻¹		40 mg kg ⁻¹		80 mg kg ⁻¹	
usnutí	spánek	usnutí	spánek	usnutí	spánek	usnutí	spánek
17 ± 4	33 ± 20 mělký	14 ± 4	(2 ex) 304 ± 78 mělký	4 ± 0	153 ± 20 hluboký	1 ± 0	(9 ex) —
15 ± 2	244 ± 60 mělký	9 ± 5	(1 ex) 455 ± 130 mělký	1 ± 0	101 ± 27 hluboký	6 ± 3	(8 ex) 272 tvrdý
8 ± 3	160 ± 43 přeruš.	5 ± 0	423 ± 18 mělký	5 ± 1	85 ± 11 hluboký	2 ± 0	(2 ex) 184 ± 30 tvrdý
51 ± 3	39 ± 2 přeruš.	10 ± 1	254 ± 16 hluboký	5 ± 0	74 ± 16 tvrdý	5 ± 0	120 ± 19 tvrdý
18 ± 4	66 ± 6 mělký	27 ± 11	141 ± 84 hluboký	12 ± 0	129 ± 93 tvrdý	8 ± 0	240 ± 114 velmi tvrdý

Z výsledků zaznamenaných v tab. I je zřejmé, že v pokusech se projevila výrazný rozdíl jak v nástupu spánku po aplikaci barbituranů, tak v jeho délce, a to převážně v závislosti na podané rozdílné dávce každého z nich, i v závislosti na tom, který barbituran byl podán. Podle těchto hledisek se velmi odlišoval fenobarbital, po jehož podání byla relativně dlouhá doba do nástupu spánku. Přitom byl spánek ve všech případech přerušovaný, velmi mělký a měl po obou dávkách ve srovnání se srovnatelnými účinky druhých dvou barbituranů nejkratší trvání. V této souvislosti stojí podle našeho názoru za to zmínit se o výsledku orientačního pokusu, ve kterém jsme deseti kohoutkům ve věku osmi týdnů podali *i. m.* sodnou sůl fenobarbitalu v dávce 160 mg kg^{-1} živé hmotnosti a během 5 až 10 minut po aplikaci nastupovala narkóza trvající přibližně devět hodin. V našich pokusech se třemi barbiturany byl absolutně nejdelší spánek registrován po aplikaci allobarbitalu (s výjimkou dvoudenních kuřat, u kterých byl kratší než po pentobarbitalu).

Nástup účinku byl také rychlejší než po fenobarbitalu, nebyl však tak rychlý jako po podání pentobarbitalu. Po podání tohoto barbituranu nastoupil spánek u všech kuřat po obou dávkách nejrychleji.

Doba spánku pak byla delší než po fenobarbitalu, ale vcelku kratší než po allobarbitalu, a to po obou použitých dávkách. Dávka 80 mg pentobarbitalu pro kg živé hmotnosti byla již výrazně toxická. Došlo k hynutí ve třech nejmladších věkových skupinách, a to ve skupině dvoudenních zvířat uhynulo devět z deseti, ve skupině týdenních osm z deseti a ve skupině dvoutýdenních uhynula dvě kuřata z deseti. K úhynu ve skupině dvoudenních kuřat došlo krátce po aplikaci vyšší dávky pentobarbitalu, ve skupině týdenních kuřat postupně kolem 30. minuty a jedné hodiny po aplikaci a ve skupině dvoutýdenních kuřat kolem 15 minut po aplikaci. Další hynutí bylo zaznamenáno jedině ještě po aplikaci allobarbitalu, a to u týdenních kuřat po aplikaci dávky 80 mg kg^{-1} živé hmotnosti, kdy uhynulo jedno kuře v 90. minutě po aplikaci, a ve skupině dvoudenních kuřat, kdy dvě kuřata uhynula po dávce 40 mg kg^{-1} přibližně za 150 minut po aplikaci, tedy již po skončení spánku. Z uvedeného vyplývá, že z hlediska účinnosti byl nejlepší allobarbital, z hlediska toxicity byl nejméně příznivý pentobarbital ve vyšší z obou použitých dávek (80 mg kg^{-1}).

Ze shromážděných údajů je také možno velmi dobře posoudit rozdíly účinku po aplikaci obou zvolených dávek použitých barbituranů. Z výsledků je patrné, že po aplikaci dvojnásobné dávky se spánek neprodlužuje dvojnásobně. Prodloužení doby spánku bylo převážně delší než odpovídá poměru použitých dávek. U dvoudenních kuřat bylo prodloužení při použití fenobarbitalu přibližně trojnásobné, u týdenních dvojnásobné, podobně i u osmitýdenních, zatímco u dvoutýdenních bylo téměř pětinasobné a u šestitýdenních o něco více než pětinasobné. Při použití pentobarbitalu nelze prodloužení spánku po podání vyšší dávky hodnotit u dvou nejmladších věkových skupin, protože došlo k příliš velkému hynutí; u ostatních skupin se prodloužení doby spánku v podstatě pohybovalo v rozmezí, které odpovídá poměru použitých dávek. Při použití allobarbitalu bylo prodloužení doby spánku po aplikaci vyšší dávky největší ze všech skupin u dvoudenních kuřat a činilo více než

osminásobek. Také u šestitýdenních bylo prodloužení značné a činilo více než pětinasobek; v ostatních skupinách šlo přibližně o dvojnásobky. V převážné většině pokusných skupin podle barbituranů a obou dávek byl nejsilnější, resp. nejdelší hypnotický efekt zaznamenán u týdenních kuřat; výjimku tvoří jediné skupina, které byl podán pentobarbital v dávce 40 mg kg^{-1} živé hmotnosti, ve které byl delší spánek než u týdenních zaznamenán u dvoudenních a osmitýdenních (u těchto však s velkými mezemi spolehlivosti) zvířat.

Pokud jde o celkové hodnocení změn účinnosti (doby spánku) v souvislosti s věkem kuřat, je možné na obecnější úrovni konstatovat, že doba spánku po podání barbituranech v obou dávkách se, byť nerovnoměrně, spíše zkracovala, zatímco u myši ve zmíněných pokusech (Šimůnek aj., 1971) se účinnost v závislosti na věku zvyšovala; naopak však byla v těchto pokusech toxicita fenobarbitalu pro mladé myši vyšší, což se projevilo i v pokusech na kuřatech s pentobarbitalem, jehož dávka 80 mg kg^{-1} živé hmotnosti byla letální pro kuřata dvoudenní, týdenní a dvoutýdenní v sestupném pořadí. Také další hynutí v našich pokusech bylo zaznamenáno jen u dvou nejmladších věkových skupin zvířat, a to po allobarbitalu.

Na základě shromážděných výsledků lze konstatovat, že základního cíle pokusu bylo dosaženo. Přestože byly pokusy konány i se zvířaty velmi mladými, projeví se také u nich již v poměrně malých věkových rozdílech pěti a sedmi dnů výrazné rozdíly v účinku i v toxicitě použitých barbituranů. Z hlediska účinku, tj. nástupu a délky spánku, je třeba brát v úvahu, že zvláště u mělkého a přerušovaného spánku je stanovení nástupu spánku a jeho trvání zatíženo značnou chybou metody; rovněž pak i rozdíl mezi spánkem a celkovou anestezií není ve výsledcích vyjadřován, protože se obtížně stanovuje právě u ptáků.

Je také zajímavé, že výsledky dosažené se třemi barbiturany u kuřat nejsou v souladu s obvyklým rozdělením barbituranů podle délky jejich působení. Přitom je ovšem nutno vzít v úvahu, že nebyly použity dávky odvozené od terapeutických dávek, nýbrž dávky pro použité barbiturany vždy stejné. Terapeutické dávky pro člověka jsou však pro fenobarbital a allobarbital přibližně stejné, jediné dávky pentobarbitalu jsou podstatně nižší; představují v průměru asi $1/6$ dávek ostatních dvou barbituranů. Nepřekvapuje proto, že po aplikaci relativně vysokých dávek pentobarbitalu docházelo k největšímu hynutí. Jinak je ještě třeba z hlediska mezidruhových rozdílů připomenout, že použité dávky fenobarbitalu pro kg živé hmotnosti kuřat představují dávky přibližně poloviční až čtvrtinové hodnoty hypnotických dávek pro člověka *pro toto*, nižší dávka pentobarbitalu pro kg živé hmotnosti kuřete je pak téměř hypnotickou dávkou tohoto barbituranu pro člověka *pro toho*. Přitom délka spánku u člověka po terapeutických dávkách fenobarbitalu se uvádí 10 až 13 hodin, po allobarbitalu 6 až 8 hodin a po pentobarbitalu 4 až 6 hodin. Spánek kuřat v našich pokusech trval – při značných rozdílech mezi věkovými skupinami – po fenobarbitalu (při velmi špatné kvalitě) po nižší dávce kolem půl až jedné hodiny, po vyšší dávce kolem dvou až tří hodin, po allobarbitalu po nižší dávce půl až čtyři hodiny, po vyšší dvě až sedm hodin a po nižší dávce pentobarbitalu kolem dvou hodin, po vyšší byl delší – dvě až čtyři hodiny.

Literatura

- FRITZ, J. C. — WHARTON, F. D. Jr. — CLASSEN, L. J.: Experiments with tranquilizers and sedatives in broiler production. *Poult. Sci.*, 38, 1959, s. 1474-1475.
- HUSTON, T. M. — MAY, K. N.: The use of sodium pentobarbital sedation as an aid in catching and plucking poultry. *Poult. Sci.*, 40, 1961, s. 434-439.
- RAŠKOVÁ, H. — VANĚČEK, J. — VOTAV, Z. — WENKE, M.: *Farmakologie*. Avicenum, Praha 1970. 680 s.
- ŠIMŮNEK, J. — KUDRNA, K. — KYSELÝ, K. — KOVAŘÍK, O.: Toxicity of phenobarbital and its influence on the spontaneous activity of young and adult mice. *Acta vet.*, Brno, 40, 1971, s. 307-314.
- Závěrečná zpráva „SEDOPHEN — sedativní premix pro drůbež“. VÚBVL, Spofa 1973. 127 s.

Došlo dne 20. 11. 1975

ШИМУНЕК Й., ШВЕЦ Й., ГЕГЕРОВА Э., ЯРОШ Й., ЯНКЭ С. (Ветеринарный институт, Брно, Чехословакия). Эффективность некоторых барбитуратов у цыплят различного возраста. *Vet. Med. (Praha)* 21 (4) : 229-235, 1976.

После внутримышечного введения фенобарбитала, аллобарбитала и пентобарбитала в дозах 40 и 80 мг/кг живого веса десятидневным группам петушков ЛБ в возрасте двух дней, одной, двух и шести недель и восьминедельными петушками ЛБ в группах по пяти животных, изучалось торможение, вызванное при помощи клинического наблюдения и повторного определения реакции животных на звук и прикосновение, а также при помощи оценки качества некоторых рефлексов (особенно сампроизвольного положения тела и исправления бокового положения). Сон наступил сначала после пентобарбитала (раньше в младших возрастных группах), самое позднее после фенобарбитала, который из-за большой легкости хуже оценивается. Время сна самое длительное было после аллобарбитала (только у восьминедельных цыплят сон был более продолжительный после пентобарбитала), самый короткий после фенобарбитала; продолжительность сна была также различной у разных по возрасту животных. После пентобарбитала дозой 80 мг/кг живого веса в трех самых младших по возрасту группах цыплят наблюдалась гибель у двухдневных: погибло девять из десяти цыплят, у однонедельных — восемь из десяти, а у двухнедельных — два из десяти цыплят). Различия в эффективности примененных барбитуратов в двух дозах на единицу живого веса проявились в связи с возрастом животных, а именно, и при незначительных различиях между самыми младшими тремя возрастными группами. Из сравнения с обычными дозами этих барбитуратов для человека вытекают весьма достоверные различия между видами.

фенобарбитал; аллобарбитал; пентобарбитал; цыплята ЛБ разного возраста

ŠIMŮNEK J., ŠVEC J., HEGEROVÁ E., JAROŠ J., JANCKE S. (University of Veterinary Medicine, Brno, Czechoslovakia). *The Effectiveness of Some Barbiturates in Chickens of Different Age*. *Vet. Med. (Praha)* 21 (4) : 229-235, 1976.

Phenobarbital, allobarbital, and pentobarbital in the doses of 40 and 80 mg per 1 kg body mass were applied intramuscularly to groups of the cockerels of the WL breed at the age of two days, one, two, and six weeks (each group had ten birds) and to eight-week-old WL cockerels in groups of five birds. The methods of clinical observation and repeated determination of the response of the animals to sonic stimuli and contact stimuli, and the evaluation of the quality of some reflexes (particularly the spontaneous position of the body and the correction of the lateral position) were used for the study of suppression evoked by the applied barbiturates. Sleep occurred first after the application of pentobarbital (sooner in younger age groups). The latest beginning of sleep was observed after phenobarbital; in the latter case, sleep was hard to evaluate because it was not very deep. The time of sleep had the longest duration after allobarbital (only in the eight-week-old sleep was longer after pentobarbital), and the shortest after phenobarbital; there were also differences in the duration of sleep between the age groups of birds. The pentobarbital dose of 80 mg kg⁻¹ of body mass killed birds

in the three youngest age groups (in the two-day-old it killed nine of ten birds, in the one-week-old eight of ten birds, and in the two-week-old two of ten birds). The differences in the effectiveness of the applied barbiturates in two doses per unit of body mass were related to the age of the animals, even in the cases of the shortest age intervals between individual groups. Very high interspecies differences ensue from a comparison with the doses of these barbiturates usually applied to man.

phenobarbital; allobarbital; pentobarbital; WL chickens of different age

SIMŮNEK J., ŠVEC J., HEGEROVÁ E., JAROŠ J., JANCKE S. (Veterinärmedizinische Hochschule, Brno, Tschechoslowakei). *Wirksamkeit einiger Barbiturate bei Küken von verschiedenem Alter*. Vet. Med. (Praha) 21 (4) : 229-235, 1976.

Phenobarbital, Allobarbital und Pentobarbital in Dosen von 40 und 80 mg je kg Körpermasse wurde in zehnköpfigen Gruppen von Hähnchen der Weißen Leghorns im Alter von 2 Tagen, einer, zwei und sechs Wochen und in Gruppen von je 5 Stück 8 Wochen alten Leghorn-Hähnchen appliziert. Nach der Applikation wurde die hervorgerufene zentral beruhigende Wirkung mittels klinischer Beobachtungen und wiederholter Feststellungen der Reaktionen der Tiere auf akustische und Berührungsanlässe, sowie durch Bewertung der Qualität einiger Reflexe (bes. der spontanen Körperlage und der Seitenlagekorrektur) beobachtet. Der Schlaf trat am schnellsten nach Verabreichung von Pentobarbital ein (früher bei den jüngeren Altersgruppen), am spätesten nach Phenobarbital, bei welchem er sich der Oberflächlichkeit wegen auch am schlechtesten bewerten ließ. Die Schlafdauer war die längste nach Allobarbital (mit Ausnahme der achtwöchigen Hähnchen, wo der Schlaf nach Pentobarbital länger dauerte), am kürzersten nach Phenobarbital; die Schlafdauer war auch bei verschiedenen alten Tieren unterschiedlich. Nach einer Phenobarbitaldosis von 80 mg je kg Körpermasse kam es zum Absterben in den drei jüngsten Altersgruppen der Küken (in der Gruppe der zweitägigen verendeten neun von zehn Küken, bei den einwöchigen acht von zehn und bei den zweiwöchigen zwei von zehn Küken). Die Unterschiede in der Wirksamkeit der angewandten Barbiturate in zwei Dosen je Körpermasseeinheit kamen im Zusammenhang mit dem Alter der Tiere zum Ausdruck, u. zw. auch bei unerheblichen Abständen unter den jüngsten drei Altersgruppen. Aus dem Vergleich zu den bei Menschen üblichen Dosen dieser Barbiturate resultieren äußerst bedeutsame artbedingte Unterschiede.

Phenobarbital; Allobarbital; Pentobarbital; Weiße Leghorn-Küken von verschiedenem Alter

Adresa autorů:

Prof. MVDr. Jan Šimůnek, CSc., MVDr. Jaroslav Švec, MVDr. Eva Hegerová, CSc., katedra farmakologie a toxikologie, Vysoká škola veterinární, Palackého 1-3, 612 42 Brno

MVDr. Josef Jaroš, Bioveta, n. p., 683 23 Ivanovice na Hané

Dr. vet. med. Sabine Jancke, Humboldt-Universität, DDR-104 Berlin, Hannoversche Str. 2 7

Časopis Veterinární medicína uveřejňuje původní práce, recenze apod.

Autor je plně odpovědný za původnost práce a za její věcnou i formální správnost. K práci musí být připojen souhlas vedoucího pracoviště s publikací článku a prohlášení autora o tom, že práce nebyla publikována jinde.

O uveřejnění prací rozhoduje redakční rada časopisu, a to se zřetelem k lektorským posudkům, vědeckému významu a přínosu a kvalitě prací.

UKLOPIKY MUŠÍ VYHOVOVAT TĚMTO PODMÍNKÁM:

1. Úprava rukopisu musí odpovídat ČSN 88 0220 (formát A4, 30 řádek na stránku, 60 úhozů na řádek, mezi řádky dvojité mezery). Obrázky se označují arabskými číslicemi a texty k nim jsou na zvláštním listě. Tabulky se číslují římskými číslicemi a jsou také na zvláštních listech.

2. Rukopis původní práce má zpravidla tyto části:

- a) Název práce — výstižný a stručný (nemá přesahovat 85 úhozů)
- b) Jména autorů — bez titulů, se zkratkou křestního jména
- c) Pracoviště — plný úřední název se sídelním městem
- d) Souhrn — má vystihnout jen to nové a podstatné, co práce přináší. Nemá překročit rozsah 10 řádků.
- e) Klíčová slova — připojí se po vynechání řádku pod souhrn. Klíčovým slovem rozumíme substantivum, které je nezbytné pro věcné zařazení práce. Klíčových slov by nemělo být méně než 3 a více než 12. Začínají malým písmem a oddělují se středníkem
- f) Úvodní stať — krátké odůvodnění práce a stav studované otázky
- g) Materiál a metody — metody se popisují pouze tehdy, jsou-li původní; popis metody by měl umožnit, aby se podle něho mohl použitý pracovní postup opakovat
- h) Výsledky — uvádějí se pouze skutečné nálezy a zjištění
- i) Diskuse — zhodnocení zjištěných výsledků, konfrontace s výsledky dříve publikovanými
- j) Literatura — musí odpovídat ČSN 01 0197. Odkazy na literaturu v textu jsou uvedeny jménem autora (čárka), rok vydání
- k) Adresa autora (autorů) — uvádí se plné jméno, akademické, vědecké a pedagogické tituly, jakož i podrobná adresa pracoviště s PSČ

ANTIDOTNÍ EFEKT TMB-4 COMPOS. (SPOFA) U OVČÍ INTOXIKOVANÝCH O-ETYL S-(2-DIMETYLAMINOETYL)METYL- FOSFONOTIOÁTEM

J. Beneš, M. Prokšová, J. Hrušovský

Vojenský veterinární výzkumný ústav, Praha

BENEŠ J., PROKŠOVÁ M., HRUŠOVSKÝ J. *Antidotní efekt TMB-4 compos. (SPOFA) u ovčí intoxikovaných 0-etyl S-(2-dimethylaminoetyl) metylfosfonotioátem*. Vet. Med. (Praha) 21 (4) : 237-249, 1976.

Jednorázové použití směsi cholinolytika a reaktivátoru cholinesterázy (TMB-4 compos. SPOFA), podané intravenózně v dávce 10,0 mg trimedoximu na kilogram živé hmotnosti ovčím 60 minut po intramuskulární intoxikaci 0-etyl S-(2-dimethylaminoetyl) metylfosfonotioátem (EDMM) v dávce 0,00835 mg na kilogram živé hmotnosti (i. m. LD₅₀, 2 h) má okamžitý klinický efekt. Reaktivace erytrocytární acetylcholinesterázy (AChE, E. C. 3.1.1.7.) sledovaná za 15 minut po podání antidotní směsi je téměř 100%, reaktivace plazmatické butyrylcholinesterázy (ChE, E.C.3.1.1.8.) cca 70 až 80 %. K restituci *ad integrum* došlo nejpozději do 14 dnů po intoxikaci.

organofosfáty; ovce; terapie; TMB-4 compos. SPOFA

Aktuálnost výskytu intoxikací látkami anticholinesterázového typu u zvířat nabývá na významu, neboť výzkum, vývoj a použití látek tohoto typu v široké zemědělské praxi narůstá geometrickou řadou, ať již máme na mysli plejádu pesticidních prostředků nebo veterinární terapeutika. Negativní stránkou používání látek na bázi organofosfátů je ovšem skutečnost, že tyto sloučeniny nebo jejich rezidua jsou všudypřítomná, mají podle fyzikálně-chemických parametrů různě dlouhou dobu persistence a zasahují živé organismy inhalací, absorpcí, resp. ingescí díky kontaminaci půdy, ovzduší, potravin i krmiv. Nejtoxičtější sloučeniny anticholinesterázového typu jsou pak v arzenálech řady armád, ať už je existence těchto nervově paralytických chemických zbraní motivována agresivními nebo obrannými úmysly.

Společenský význam terapie otrav látkami anticholinesterázového typu je tedy více než zřejmý.

V předkládané práci jsme využili jako anticholinesterázové noxy O-etyl (S-2-dimethylaminoetyl) metylfosfonotioátu (EDMM)*), patřící do

*) Seznam použitých zkratk je uveden v závěru práce.

skupiny organofosfátů, které jsou potenciálními inhibitory acetylcholinesterázy (AChE, E.C.3.1.1.7.) a butyrylcholinesterázy (ChE, E.C.3.1.1.8.) a vesměs disponují vysokou toxicitou (Aquilonijs aj., 1964, Bajgar, 1972). EDMM byl ovčím aplikován intramuskulárně v dávce 0,00835 mg kg⁻¹ živé hmotnosti (LD₅₀, 2 h), při volbě antidota jsme použili preparát Spofy TMB-4 compos., adjustovaný *ad usum humanum*.

V globále zahrnuje terapie otrav látkami anticholinesterázového typu, bez ohledu na výsledek laboratorního vyšetření na stupeň inhibice AChE, resp. ChE jako součásti pro klasifikační stupeň intoxikace (Nambaja aj., 1971), tyto postupy (Schumacher, 1970, Nambaja, 1971):

- a) odstranění noxy,
- b) podávání antidot,
- c) symptomatologickou terapii.

Ad a) Jak uvádí ve svém přehledu Schumacher (1970), patří sem odmoření kůže (Na-krezolátová mast – až 20%, Na-bikarbonát – až 10%, NH₄OH – maximálně 10%, eventuálně mýdla, pokud není nic vhodnějšího k dispozici), dále se považují za vhodné výplachy dutiny nosní, ústní, oční (3 % Na-bikarbonát), snížení perorální resorpce (vyvolání emesis, výplachy žaludku – 5% bikarbonát, aktivní uhlí – cca 50 g na 1,5 litru vody), konečně se doporučuje podávání salinických laxantií typu MgSO₄.

Ad b) Antidotní terapie u otrav látkami anticholinesterázového typu zahrnuje dvě skupiny farmak:

1. parasymptolytika (cholinolytika, anticholinergika),
2. reaktivátory cholinesterázy.

1. Typickými reprezentanty skupiny parasymptolytik jsou atropin a benaktyzin, které lze velmi obecně charakterizovat jako látky, které paralyzují muskarin-like příznaky.

Atropin plně blokuje muskarinový účinek injekčně podaného acetylcholinu, kdežto muskarinový účinek po stimulaci cholinergních postganglionárních vláken je blokován jenom částečně. Působení atropinu nelze vysvětlovat pouze jeho antimuskarinovým účinkem. Připouští se jeho vliv na periferní nervová vegetativní ganglia, adrenergní nervový systém, přímý účinek na některé tkáně, na aktivitu a množství acetylcholinu a jemu podobných látek ve tkáních. Nástup, maximální působení a doba trvání účinku atropinu není ovšem u všech orgánů stejná. Atropin je dále látka relativně málo toxická. Rozpětí mezi maximální terapeutickou a letální dávkou je značné. Atropin v netoxických dávkách neovlivňuje podstatně homeostazi (Hamet a Pidrmán, 1969).

U zvířat se při těžkých otravách látkami anticholinesterázového typu doporučuje atropin v maximálních dávkách hned na začátku, tzn. pro koně a krávy až 50,0 mg i. v., pro ovce, kozy, prasata a psy až 10,0 mg, pro kočku 1,0 mg. Stejná dávka se podává opětovně po 15 až 20 minutách,

protože účinek atropinu, jak již bylo uvedeno, odeznívá mnohem rychleji než účinek anticholinesterázových látek. Aby bylo možné zachránit zasažené zvíře, je třeba dávkovat velmi vysoko, tj. průměrně desetinásobek počáteční dávky během 24 hodin a z toho větší část v prvních šesti hodinách. Injekce atropinu je zapotřebí opakovat tak dlouho, až vymizí kardiopulmonální příznaky.

Případné vedlejší účinky atropinu lze paralyzovat parenterálně podaným metaraminolem (10,0 mg) (N a m b a aj., 1971). Není-li k dispozici ani atropin, ani oxim, lze využít parasymptolytik typu propantelin-bromidu (N a m b a aj., 1971).

Benaktyzin (dietylaminoester kyseliny benzylové) má ve srovnání s atropinem mohutné centrální účinky, zatímco periferní účinky jsou podstatně slabší. Účinky benaktyzinu nejsou podmíněny pouze jeho anticholinergním působením. Byl prokázán vliv na enzym monoaminoxidázu (MAO), serotonin a histamin. Lokálně anestetický a kardiodepresivní vliv nelze rovněž vysvětlit anticholinergním účinkem. Nástup účinků po podání benaktyzinu je velmi rychlý a jeho působení záhy odeznívá. Případné intoxikace probíhají sice dramaticky, ale velmi rychle odeznívají. V dávkách do 10,0 mg nebyly u lidí pozorovány významnější změny krevního tlaku, tělesné teploty a metabolismu. Někdy se objevuje zvýšení tepové frekvence (H a m e t a P i d r m a n, 1969).

2. Na základě studia reakce cholinesterázy s inhibitorem byl vysloven předpoklad, že účinné reaktivátory fosforylované cholinesterázy je nutno hledat mezi nukleofilními látkami, které obsahují zejména aminové, hydroxylaminové, sulfhydrylové a guanidinové skupiny, samotným reaktivátorem je i hydroxylamin. Další vývoj reaktivátorů cholinesterázy se zaměřil na potenciaci účinků hydroxylaminu a na snížení jeho toxicity. Tak byly připraveny 2-oxo-oximy a 2-PAM. Terciární pyridin-2-aldoxim a terciární i monokvarterní 3- nebo 4-pyridin aldoximy jsou podstatně méně účinné než 2-PAM. Reaktiváční schopnost 2-PAM je dána polohou oximové skupiny a přítomností kvarterního dusíku, který mnohonásobně zvyšuje účinnost reaktivátoru.

Nejvýznamnější etapou ve vývoji reaktivátorů cholinesterázy byla příprava biskvarterních pyridinaldoximů.

Velmi závažnou otázkou, zejména z hlediska humánní medicíny, je působení antidot na CNS, resp. změny vyvolané v mozku působením anticholinesterázových látek. Zatímco atropin jako parasymptolytikum je terciární amin a prochází vcelku bez problémů hematoencefalickou bariérou, oximy, povětšinou monokvarterní aminy, procházejí podstatně hůře, pokud procházejí vůbec.

Ze tří oximů, jež jsou komerčně vyráběny, totiž pralidoxim (pyridin-2-aldoxim-metyl-chlorid, event. jodid), obidoxim (bis-/4-hydroxyimino-metyl-pyridinium-(1)-metyl/eter-dichlorid) a trimedoxim (trimetylen-bis-/4-oxiiminometyl-pyridinium-dibromid, event. dichlorid), je z hlediska klinického použití nejvíce zkušeností s prvním (N a m b a aj., 1971).

Pralidoxim chlorid (např. Protopam chlorid, AYERST Labs., U.S.A.) je preferován ve srovnání s obidoximem a trimedoximem především pro

dobrou rozpustnost ve vodě, Cl^- aniont je rozhodně fyziologičtější než Br^- (TMB-4 SPOFA). V souvislosti s použitím 2-PAM-Cl (pralidoximu) referuje N a m b a aj., (1971) o 43 vyléčených otravách u lidí po intoxikaci parationem a metylparationem, o 8 vyléčených otravách diazinonem, 4 EPN, 2 TEPP, o jedné úspěšně vyléčené otravě bidrinem, karbofenotionem, DDVP, dimetoátem; menší efekt byl zaznamenán po intoxikaci mevinfosem (9 pacientů).

2-PAM-Cl je nejúčinnější při intoxikacích kvarterními amonnými anticholinesterázovými látkami typu neostigminu, pyridostigminu, ambenonia, zejména pro zvládnutí cholinergních krizí u myastenických pacientů. 2-PAM-Cl byl dále úspěšně likvidován systemický účinek DFP, lokální účinek DFP a echotiofátu (při použití excesivních množství u glaukomu) (N a m b a aj., 1971). Pralidoxim je však bez efektu, jak uvádí N a m b a aj. (1971), u pacientů intoxikovaných malationem (13 případů), metyldemetonem (2 případy), fosfamidonem (1 případ), azinfos-metylem a paraoxonem (1 případ). Stejná pozitivní i negativní zjištění v souvislosti s účinkem pralidoximu na různé typy pesticidů jsou popisována rovněž u zvířat (cit. N a m b a aj., 1971). Tak např. 24 služebních psů, používaných v rámci vietnamského konfliktu, bylo intoxikováno malationem. Použitý pralidoxim ($20,0 \text{ mg kg}^{-1}$ živé hmotnosti s. c.) kombinovaný s dexametazonem, atropin sulfátem ($0,1 \text{ mg kg}^{-1}$ živé hmotnosti i. m.) a symptomatologickou terapií byl málo efektivní – pouze osm psů bylo zachráněno (M c C u r n i n, 1969).

Účinné dávky obidoximu (např. TOXOGONIN Merck, NSR, OBIDOXIM Wolfen, NDR) a trimedoximu (např. TMB-4 compos. Spofa) jsou ve srovnání s pralidoximem nižší, terapeutický index je vyšší. Byla prokázána vysoká účinnost obidoximu u zvířat při otravách parationem, paraoxonem, DFP, IMPF, PMPF, mevinfosem, malationem. Není však účinný u intoxikace dimetoátem a formotionem (N a m b a, 1971). Výhody ve srovnání s pralidoximem jsou dány rychlejší reaktivací cholinesterázy, jednoduchou i. m. aplikací ve vcelku malém objemu a zejména výhodnou penetrací přes hematoencefalickou bariéru (N a m b a, 1971). Přesto se v současné humánní medicíně po zkušenostech s otravami parationem, dimetoátem, triamifosem, demetonem a mevinfosem nedává obidoximu přednost před pralidoximem. Doporučované dávky obidoximu reprezentují $3,0$ až $6,0 \text{ mg kg}^{-1}$ živé hmotnosti u lidí, kombinace s atropinem je nutná (N a m b a, 1971).

M i e t h a B e i e r (1973) srovnali efektivnost pralidoximu a obidoximu ve spojení s atropinem u skotu, ovcí a prasat při použití zejména trichlorfonu jako anticholinesterázové noxy. Doporučují pro terapii vysoké iniciální dávky atropinu (až $50,0 \text{ mg}$ na 100 kg živé hmotnosti – 50% i. v., 50% s. c.) a dále v intervalech 20 až 30 minut 2 až 5 mg atropinu na 100 kg živé hmotnosti s. c. až do paralýzy muskarinových příznaků. Potvrdili reaktivační účinnost obidoximu – 500 mg na 100 kg živé hmotnosti u skotu, 250 až 500 mg pro toto u ovcí a prasat, pokud možno nejdříve po klinických projevech otravy, eventuálně opakovaně po novém vzplanutí muskarinových a zejména nikotinových příznaků.

Použití trimedoximu v klinické praxi podle N a m b y aj. (1971) není tak rozšířené. Tito autoři citují jeden případ intoxikace trichlorfonem.

Přesto se ovšem syntézou trimedoximu podařilo odstranit některé z nevýhodných vlastností 2-PAM. Antidotní efekt ve spojení s cholinolytiky typu atropinu a benaktyzinu byl zvýšen vedle otrav anticholinesterázovými pesticidy typu demetonu i u otrav IMPF a PMPF. TMB-4 je ovšem účinný pouze v extracelulárních prostorách, víceméně nepostihuje mozkovou cholinesterázu, navíc je poměrně značně toxický.

Z hlediska veterinární medicíny byl na modelu přežvýkavce zkoušen TMD-4 při otravě kumafosem (Palmer, 1964); doporučená dávka trimedoximu při i. v. aplikaci = 10,0 – 20,0 mg kg⁻¹ živé hmotnosti.

Není zcela bez zajímavosti, že řada jak mono- tak biskvarterních pyridinoximů reaktivuje inhibovanou cholinesterázu a současně mají tyto komponenty parasymptolytický efekt. Parasymptolytický efekt obidoximu na izolovaném morčecím ileu popsala K u h n e n - C l a u s e n o v á (1972). Mechanismus působení je v tomto případě dán kompetitivním antagonismem N-metylatropinu vůči karbacholu nebo arecaidin-etylésteru. Byl rovněž popsán aktivační, resp. inhibiční efekt některých biskvarterních pyridinaldoxidů na neinhibovanou cholinesterázu (K u h n e n - C l a u s e n o v á, 1972). Předpokládá se, že podstatou mechanismu v tomto případě je kombinovaná kompetitivní a nekompetitivní reakce.

Jak z textu vyplývá, jsou všeobecně značné výkyvy v efektivnosti reaktivátorů cholinesterázy v souvislosti s použitím různých OF.

Intoxikace některými OF, zejména těmi, které mají krátký poločas dealkylace (ageing) (např. PMPF), je terapeutický zákrok v důsledku ireverzibilní vazby OF X enzym velmi obtížný, ne-li nemožný, pokud uvažujeme použití reaktivátorů. Z těchto aspektů jsou zajímavé experimentální poznatky J o v i č e (1972), který prokázal, že oxygenoterapie, prováděná umělým dýcháním, zvyšuje odolnost vůči letálním dávkám PMPF (model kočka). B e r r y a j. (1971) v souvislosti se studiem protekce otrav PMPF zjistili, že je možné za určitých okolností použít některých jiných anticholinesterázových látek, jejichž reverzibilní inhibice cholinesterázy je snadno zvládnutelná určitými oximy, resp. v kombinaci s cholinolytiky, jako premedikačních protektivních preparátů.

Ze sledovaných látek anticholinesterázového typu, jež je možné označit jako protektivní vůči účinkům oxim-rezistentních OF a karbamátů, je možno jako prototyp uvést TEPP aplikovaný v subtoxických dávkách. IMPF je nesrovnatelně méně protektivní, DFP je bez efektu zcela. Protektivně nejúčinnější je podle B e r r y h o a j. (1971) etyl-4-nitrofenyl-metylfosfonát, samozřejmě ve spojení s efektem P2S a atropinu. P2S byl nejefektivnější ze 7 sledovaných oximů (4-PAM, TMB-4, Lüh 6, MINA, 3-metyl-4-hydroxyiminometyl-tiazol-metansulfonát, resp. 3-metyl-5-hydroxyiminometyl-tiazol-metansulfonát), neuplatnila se kyselina salicylhydroxamová. Dávka P2S = 30,0 mg kg⁻¹ živé hmotnosti. Signifikantní protektivní efekt vybraných kombinací se uplatňuje po dobu 48 hodin. Mechanismus protekce je vcelku jasný. Protektivní OF vyvolá inhibici nadbytku acetylcholinesterázy ve vitálních orgánech. Tato reverzibilní vazba organofosfátu a cholinesterázy při zasažení PMPF působí tudíž vlastně ochranně; v časově vhodném podání směsi reaktivátor-cholinolytikum dojde k uvolnění vazby protektivní OF-enzym a de facto k paralýze účinků PMPF, před jehož působením byla takto cholinesteráza uchráněna.

Ad c) Symptomatologická terapie při otravách OF: zásahy zahrnují podporu pneumo-kardiálního systému analeptiky, antitussivy, kyslíkovou terapií, odstraňováním hypersekrece sliznic, dále se aplikují léčiva typu sedativ, antikonvulzivní preparáty, profylakticky se doporučuje podávat depotní antibiotika a rovněž farmaka, jež paralyzují dehydratační, acidózní trendy (Schumacher, 1970).

MATERIÁL A METODA

K terapeutickým pokusům bylo použito šesti ovcí typu merino nebo kříženek, vesměs samičího pohlaví, o hmotnosti 30 až 50 kg. Klinické, hematologické, biochemické a koprologické parametry prošetřené před pokusy byly ve fyziologické úrovni. Jako kontroly sloužily tři ovce, jež byly intoxikovány *i. m.* LD₅₀ (2 h) EDMM, bez terapeutického zákroku.

EDMM [O-etyl S-(2-dimethylaminoetyl)metylfosfonotioát], ředěný v 0,89% NaCl a pro každou ovci čerstvě připravený roztok, byl aplikován *i. m.* do plantární svaloviny stehna.

V intervalu 60 minut po intoxikaci EDMM (ihned po kontrolním odběru krve) jsme pokusným objektům intravenózně aplikovali TMB-4 compos. SPOFA tak, aby dávka trimedoximu byla 10,0 mg kg⁻¹ živé hmotnosti.

Krev pro stanovení aktivity erytrocytární acetylcholinesterázy (AChE, E.C.3.1.1.7.) a plazmatické butyrylcholinesterázy (ChE, E.C.3.1.1.8.), jakož i aktivity sérových transamináz (S-GOT, E.C.2.6.1.1., resp. S-GPT, E.C.2.6.1.2.) a hladiny krevního cukru byla odebírána z *v. jugularis* v intervalech těsně před aplikací noxy (C) a dále 15, 30, 60, 75, 90, 120 minut, 6, 24, 48 a 72 hodiny, popř. 7., resp. 14. den po provedené otravě, resp. terapii.

Aktivita obou cholinesteráz byla stanovována metodou podle Tulacha (1958) s tím rozdílem, že plazma byla ředěna 1:2 0,89% NaCl, erytrocytární suspenze 1:5 čerstvým 0,01% roztokem saponinu. Inkubační doba trvala 30 minut při teplotě 37 °C v Dubnoff-shakeru (60 kyvů za min.). Aktivita enzymů byla vyjadřována v μ Molech hydrolyzovaného substrátu 30 min./37 °C ml⁻¹ plazmy, resp. erytrocytů.

Hladina glukózy v celé krvi byla stanovována o-toluidinovou metodou v plném rozsahu podle komerčního Merckotestu (3306, Merck A.G., NSR); spektrofotometrie při 630 nm, 1,0 cm skleněné kyvety, fotokolorimetr Zeiss-Spekpol, NDR. Hodnoty byly vyjadřovány v mg%.

Aktivita sérových transamináz (GOT, GPT) byla určována v podstatě metodou podle Reitmana a Frankela v rozsahu, jaký uvádí komerční Merckotest 3302 (Merck A.G., NSR). Aktivita enzymů je vesměs udávána v mU ml⁻¹ séra.

U všech experimentálních ovcí byl sledován klinický průběh otravy a terapeutického ovlivnění, u exitovaných jedinců (jeden neléčený kus) byl zaznamenán patologicko-anatomický obraz.

Výsledky byly statisticky vyhodnoceny Studentovým *t*-testem.

EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST

a) Klinický průběh otravy EDMM u ovcí po nasazení antidotní směsi

Doba latence po intoxikaci *i. m.* LD₅₀ (0,00835 mg kg⁻¹ živé hmotnosti) se pohybovala mezi 30 až 40 minutami. Klinické příznaky po uplynutí doby latence se objevovaly za 40 až 60 minut po aplikaci noxy sérózní salivací, tremorem svalových partií zejména v kaudálních oblastech s postupným přechodem na veškeré svalové partie, zvýšenou tepovou i dechovou frekvencí; za 60 minut po aplikaci se ovce vesměs neudržely na nohou, padaly, zachvacovaly je tonicko-klonické křeče. Ihned po odběru krve v 60. minutě jsme *i. v.* aplikovali antidotum. Téměř okamžitě po dostříknutí TMB-4 compos. došlo k relaxaci spasmů, k úpravě dechové a tepové frekvence, za 75–90 minut zvíře opět stálo. Do šesti hodin nebyly klinické příznaky otravy zřejmé, ovce projevovaly běžnou chuť k potravě.

Ze tří kontrolních ovcí, jež byly intoxikovány pouze *i. m.* LD₅₀ EDMM, uhynula jedna po vystupňování tonicko-klonických křečí vesměs nepřerušovaného rytmu po čtyřech hodinách od intoxikace. Exitus měl typicky kurareformní charakter. U zbylých dvou kontrolních objektů po krizovém stadiu mezi 120 minutami až 4 hodinami měly jak muskarin-like, tak

I. Vliv intravenózního podání TMB-4 compos. (SPOFA) ovcím *i. m.* intoxikovaným LD₅₀ EDMM na aktivitu erytrocytární acetylcholinesterázy (AChE, E. C. 3.1.1.7.)

Interval	AChE ($\bar{x}$)	$\pm$ S.D.	<i>p</i>	<i>n</i>
C	29,13	0,41	—	6
15 min.	6,97	1,70	<0,001	5
30	3,48	0,60	<0,001	6
60	3,13	0,52	<0,001	6
75 (TMB-4)	26,27	2,10	<0,001	6
75 (neléč.)	2,09	1,01	—	3
90 (TMB-4)	26,24	2,20	<0,001	6
90 (neléč.)	3,22	0,21	—	3
120 (TMB-4)	26,99	1,06	<0,001	6
120 (neléč.)	3,96	0,95	—	3
6 h (TMB-4)	27,17	1,65	<0,001	6
6 h (neléč.)	5,69	1,60	—	3
24 (TMB-4)	28,70	0,52	<0,05	6
24 (neléč.)	24,00	—	—	2
48 (TMB-4)	28,36	0,10	—	6
48 (neléč.)	27,30	—	—	2
72 (TMB-4)	28,53	0,10	—	6
72 (neléč.)	29,25	—	—	2

Pozn.: hodnoty AChE jsou uvedeny vesměs v μ Molech /30 min./37 °C/ ml;

$\pm$ S.D. — standardní odchylka

n — počet použitých zvířat

II. Vliv intravenózního podání TMB-4 compos. (SPOFA) ovčím i. m. intoxikovaným LD₅₀ EDMM na aktivitu plazmatické butyrylcholinesterázy (ChE, E. C. 3. 1. 1. 8.)

Interval	ChE ($\bar{x}$)	$\pm$ S.D.	<i>p</i>	<i>n</i>
C	6,796	0,36	—	6
15 min.	1,108	0,24	<0,001	6
30	0,713	0,26	<0,001	6
60	0,792	0,17	<0,001	6
75 (TMB-4)	4,683	0,47	<0,001	6
75 (neléč.)	0,170	0,09	—	3
90 (TMB-4)	4,610	0,34	<0,001	6
90 (neléč.)	0,583	0,42	—	3
120 (TMB-4)	4,816	0,41	<0,001	6
120 (neléč.)	0,486	0,34	—	3
6 h (TMB-4)	5,325	0,37	<0,001	6
6 h (neléč.)	0,486	0,36	—	3
24 (TMB-4)	5,156	0,15	<0,05	6
24 (neléč.)	2,765	—	—	2
48 (TMB-4)	4,740	0,17	—	6
48 (neléč.)	4,000	—	—	2
72 (TMB-4)	5,340	0,36	—	6
72 (neléč.)	5,675	—	—	2

Pozn.: hodnoty ChE jsou vesměs uvedeny v μ Molech/30 min./37 °C/ml;

$\pm$ S.D. — standardní odchylka

n — počet použitých zvířat

nikotin-like příznaky výrazně klesající tendenci, po šesti hodinách s výjimkou hyperventilace plicní nebyly zřejmé klinické změny. Do 12 hodin měly triasové hodnoty fyziologickou hladinu, po 24 hodinách projevovaly ovce normální chuť k potravě.

Patologicko-anatomický obraz u jediné uhynuvší ovce lze obecně charakterizovat jako netypický: hemorhagická dieteze, *oedema pulmonum*, *degeneratio cordis*, hyperemie mozkových plen.

b) Aktivita AChE a ChE u ovce po terapii TMB-4 compos. SPOFA

Statistické vyhodnocení aktivit sledovaných enzymů je zachyceno v tab. I a II.

K statisticky významné inhibici obou enzymů dochází již ve stadiu latence — za 15 minut po aplikaci noxy ($p < 0,001$, 76 % inhibice).

V době i. v. podání TMB-4 compos. jsou jak AChE, tak ChE inhibovány z cca 89 % (p vesměs $< 0,001$). Za 75 minut po intoxikaci (15

III. Vliv intravenózního podání TMB-4 compos. (SPOFA) ovčím i. m. intoxikovaným LD₅₀ EDMM na hladinu glukózy v celé krvi

Interval	Glukóza ($\bar{x}$)	$\pm$ S.D.	<i>p</i>	<i>n</i>
C	43,57	4,20	—	6
15 min.	51,16	5,27	—	6
30	60,06	6,78	<0,05	6
60	74,53	9,04	<0,01	6
75 (TMB-4)	93,26	10,55	<0,05	6
75 (neléč.)	128,50	17,80	—	3
90 (TMB-4)	106,31	9,40	<0,05	6
90 (neléč.)	157,30	36,50	—	3
120 (TMB-4)	94,90	7,20	<0,05	6
120 (neléč.)	164,40	52,20	—	3
6 h (TMB-4)	44,53	6,18	<0,05	6
6 h (neléč.)	68,30	18,40	—	3
24 (TMB-4)	45,36	4,28	—	6
24 (neléč.)	40,90	—	—	2
48 (TMB-4)	45,84	1,40	—	6
48 (neléč.)	49,05	—	—	2
72 (TMB-4)	51,10	3,84	—	6
72 (neléč.)	53,90	—	—	2

Pozn.: hodnoty glukózy jsou vesměs uvedeny v mg%;

$\pm$ S.D. — standardní odchylka

n — počet použitých zvířat

minut po podání antidotní směsi) je u léčených ovčí pouze 9,5 % inhibice AChE, ChE je ještě z cca 31 % inhibována.

Ve srovnání s neléčenými ovci jsou tyto hodnoty vysoce signifikantní. Signifikantní difference mezi léčenými a neléčenými ovci přetrvává 24. hodinu ($p < 0,05 - 0,001$). Za 48 hodin lze hovořit o vyrovnání hladin u obou skupin sledovaných ovčí, i když ChE je ještě cca z 30 % inhibována v obou případech, AChE cca z 2,5 %. K úpravě aktivity plasmatického enzymu nedochází ani po 72 hodinách, zatímco jak přirozená, tak terapeuticky ovlivněná reaktivace AChE je v tomto časovém intervalu *de facto* totální. Restituci *ad integrum* u ChE jsme zaznamenali nejpozději do 14 dnů po otravě.

c) Hladina glukózy v celé krvi ovčí po terapii TMB-4 compos. SPOFA

Jak je zřejmé z tabulky III, hladina glukózy se statisticky významně zvyšuje počínaje 30. minutou ($p < 0,05$), za 24 hodiny jak u kontrol-

Interval	S-GOT ($\bar{x}$)	$\pm$ S.D.	<i>p</i>	<i>n</i>
C	19,07	3,90	—	6
15 min.	17,63	1,80	—	6
30	19,05	1,94	—	6
60	19,29	2,07	—	6
75 (TMB-4)	18,32	2,20	—	6
75 (neléč.)	20,60	1,25	—	3
90 (TMB-4)	18,70	1,40	—	6
90 (neléč.)	19,70	1,70	—	3
120 (TMB-4)	20,27	1,96	—	6
120 (neléč.)	21,10	0,90	—	3
6 h (TMB-4)	22,06	1,87	—	6
6 h (neléč.)	25,70	3,90	—	3
24 (TMB-4)	24,81	2,22	<0,1	6
24 (neléč.)	28,30	—	—	2
48 (TMB-4)	25,00	2,99	<0,01	6
48 (neléč.)	31,40	—	—	2
72 (TMB-4)	21,43	1,97	<0,05	6
72 (neléč.)	26,50	—	—	2
14 dní (neléč.)	20,05	—	—	2

Pozn.: aktivita S-GOT je vesměs uvedena v mU ml⁻¹

$\pm$ S.D. — standardní odchylka

n — počet použitých zvířat

ních, tak u léčených otrávených ovčí jsou hodnoty ve fyziologické normě. Absolutní hodnoty glukózy v mg% jsou vyšší v kritických intervalech u neléčených ovčí.

d) Aktivita sérových transamináz (GOT, GPT) u ovčí po terapii TMB-4 compos. SPOFA

O aktivitě SGOT a SGPT informují tab. IV a V. Zatímco u neléčených intoxikovaných ovčí se aktivita SGOT signifikantně zvyšuje počínaje 24. hodinou ($p < 0,1$), přetrvává 72. hodinu ($p < 0,05$) a normalizuje se do 14 dnů po otravě, u léčených ovčí nedochází k výrazným posunům v aktivitách.

Aktivita SGPT (tab. V) se u neléčených ovčí statisticky významně zvyšuje 75 minut po intoxikaci ($p < 0,1$), zvýšení přetrvává 72. hodinu, normalizace nastává do 14 dnů, u léčených ovčí se hladina SGPT výrazně nemění.

V. Vliv intravenózního podání TMB-4 compos. (SPOFA) ovcím i. m. intoxikovaným LD₅₀ EDMM na aktivitu sérové GPT (E. C. 2. 6. 1. 2.)

Interval	S-GPT ($\bar{x}$)	$\pm$ S.D.	p	n
C	3,41	1,88	—	6
15 min.	3,58	0,34	—	6
30	3,43	0,26	—	6
60	3,01	0,18	—	6
75 (TMB-4)	2,87	0,11	< 0,01	6
75 (neléč.)	4,23	0,33	—	3
90 (TMB-4)	3,43	0,41	< 0,1	6
90 (neléč.)	4,13	0,41	—	3
120 (TMB-4)	3,50	0,40	< 0,1	6
120 (neléč.)	4,33	0,38	—	3
6 h (TMB-4)	3,84	1,04	—	6
6 h (neléč.)	4,75	0,46	—	3
24 (TMB-4)	3,75	1,02	< 0,05	6
24 (neléč.)	6,75	—	—	2
48 (TMB-4)	4,35	0,84	< 0,001	6
48 (neléč.)	9,35	—	—	2
72 (TMB-4)	3,74	1,17	< 0,001	6
72 (neléč.)	6,17	—	—	2
14 dní (neléč.)	3,91	—	—	2

Pozn.: aktivita SGPT je vesměs uvedena v mU ml⁻¹

$\pm$ S.D. — standardní odchylka

n — počet použitých zvířat

Seznam použitých zkratk

EDMM	— 0-etyl S-(2-dimethylaminoetyl) metylfosfonotioát
TMB-4	— trimetylen-bis-/4-oxiiminometylpyridinium/-di-Br nebo Cl; tri-medoxim
ACHE	— acetylcholinesteráza, E. C. 3. 1. 1. 7.
ChE	— butyrylcholinesteráza, pseudocholinesteráza, E. C. 3. 1. 1. 8.
SGOT	— transamináza kyseliny glutamové-oxalocetové, E. C. 2. 6. 1. 1.
SGPT	— transamináza kyseliny glutamové-pyrohroznové, E. C. 2. 6. 1. 2.
OF	— organofosfát
2-PAM	— pyridin-2-aldoximmetyl-Cl, J. Br; pralidoxim
P-2-S	— pralidoxim metan sulfonát; pyridin-2-aldoxim-metyl-metan-sulfonát
Toxogonin	— bis-/4-hydroxyiminometyl-pyridinium/-1-metyl-eter-di-Cl; obidoxim; LüH 6
MMB-4	— N,N'-monometylen-bis/4-pyridinaldoxim/di-Br, Cl
MINA	— monoizonitrozoceton
DAM	— diacetylmonoxim
IMPF	— 0-izopropyl metylfosfonofluoridát; sarin
PMPF	— pinakolyl metylfosfonofluoridát; soman
paration	— 0-(0-nitrofenyl)-0,0-dietyltiofosfát; E 605; tiofos
paraaxon	— dietyl-p-nitrofenylfosfát; E 600
diazinon	— dietyléster kyseliny /2-izopropyl-4-metyl-pyrimidin-(6)/-tiofosforečné

EPN	— 0-etyl-0-(p-nitrofenyl)-benzen-tiofosfonát
TEPP	— tetraetylpyrofosfát
bidrin	— 3-hydroxy-N, N-dimetyl-cis-krotonamid-dimetylfosfát
karbofenotion	— trition; S-(p-chlorofenyltio)metyl-0-0-dietyl-fosforoditioát
DDVP	— 0, 0-dimetyl-0-(2,2-dichlorvinyl)-fosfát; dichlorvos; vapona
dimetoát	— 0, 0-dimetyl-S-merkaptó-N-metylacetamidoditiofosfát
mevinfos	— fosdrin; cis-2-metoksykarbonyl-1-metylvinyl dimetylfosfát
DFP	— diizopropylfluorfosfát; dyflos
malation	— S-(1,2-dikarbetoxyetyl)-0,0-dimetyl-ditiofosfát
demeton	— systox; etylester kyseliny β -etyl-merkaptó/-diethyltionofosfo- rečné
fosfamidon	— 1-chloro-dietylkarbamoyl-1-propen-2-yl-dimetylfosfát
azinfos (metyl)	— gution; gusation; S-(2,4-dihydro-4-oxo-benzo/d/(1, 2, 3)-triazin- -3-yl-metyl-0,0-dimetyl-fosforoditioát
kumafos	— 0, 0-dietyl-0(3-chlor-4-metyl)-2-oxo-2-H-1-benzpyran-7yl) fosfo- rotionát
trichlorfon	— metrifonát; (0,0-dimetyl-2,2,2-trichlor-1-hydroxyetylfosfonát)
echotiofát	— fosfolin; 2-dietoxy-fosfinyl-tioetyl-trimetyl-amonium

Literatura

- AQUILONIUS, S. M. — FREDRIKSSON, T. — SUNDWALL, A.: Studies on phosphorylated thiocholine and choline derivatives. I. General toxicology and pharmacology. Toxic. appl. Pharmac., 6, 1964, s. 269-279.
- BAJGAR, J.: Time course of acetylcholinesterase inhibition in the *medulla oblongata* of the rat by 0-ethyl S-(2-dimethylaminoethyl) methylphosphonothioate *in vivo*. Br. J. Pharmac., 45, 1972, s. 368-371.
- BERRY, W. K. — DAVIES, D. R. — GORDON, J. J.: Protection of animals against soman (1,2,2-trimethylpropyl methylphosphonofluoridate) by pretreatment with some other organophosphorus compounds followed by oxime and atropine. Biochem. Pharmac., 20, 1971, s. 125-134.
- CURNIN Mc, D. M.: Malathion intoxication in military scout dogs. J. Am. vet. med. Ass., 155, 1969, s. 1359-1363.
- HAMET, A. — PIDRMAN, V.: Přehled současných poznatků o účincích látek používaných jako antidot vůči OF. Informační zpravodaj VLIS, 6, 1969, s. 46-68.
- JOVIĆ, R.: Oksigenoterapija u eksperimentalnom trovanju somanom. Vojnosanit. Pregled, 29, 1972, s. 134-138.
- KUHNEN-CLAUSEN, D.: Structure-activity relationship of mono- and bis-quaternary pyridines in regard to their parasympatolytic effects. Toxic. appl. Pharmac., 23, 1972, s. 443-454.
- MIETH, K. — BEIER, D.: Über die Alkylphosphatvergiftungen und die Antidotbehandlung. Mh. Vet. Med., 28, 1973, s. 45-50.
- NAMBA, T. — NOLTE, C. T. — JACKREL, J. — GROB, D.: Poisoning due to organophosphate insecticides. Acute and chronic manifestation. Am. J. Med., 50, 1971, s. 475-492.
- NAMBA, T.: Cholinesterase inhibition by organophosphorus compounds and its clinical effects. Bull. Wld. Hlth Org., 44, 1971, s. 289-307.
- PALMER, J. S.: Oximes for treatment of coumaphos poisoning in cattle. J. Am. vet. med. Ass., 145, 1964, s. 1206-1210.
- SCHUMACHER, K.: Die Wirkung chemischer Kampfstoffe — Symptomatik und Therapie. Pharm. Praxis, Beilage No. 4 zur Die Pharmazie, 4, 1970, s. 73-80.
- TULACH, J.: Kolorimetrické stanovení cholinesterázy v lidské krvi. Voj. Zdrav. Listy, XXVII, 1958, s. 513-515.

Došlo dne 28. 5. 1975

БЕНЕШ Й., ПРОКШОВА М., ГРУШОВСКИЙ Й. (Военно-ветеринарный исследовательский институт, Прага, Чехословакия). Антidotный эффект ТМВ-4 компос. СПОФА у овец, отравленных 0-этил S-(2-диметиламиноэтил) метилфосфонотиоатом. Vet. Med. (Praha) 21 (4): : 237-249, 1976.

Одноразовое применение смеси холинолитика и реактиватора холинэстеразы (ТМВ-4 компос. СПОФА), подаваемой внутривенно в дозе 10,0 мг тримедоксина на кг живой массы овцам

спостя 60 мин после внутримышечной интоксикации 0-этил S-(2-диметиламиноэтил) метил-фосфонотиоатом (ED MM) в дозе 0,00835 мг на кг живой массы i. m. LD₅₀, 2 ч), имело моментальный клинический эффект. Реактивация эритроцитарной ацетилхолинэстеразы (AChE, E.C.3.1.1.7.), наблюдаемая через 15 мин после подачи антидотной смеси, почти равнялась 100 %, реактивация плазматической бутирилхолинэстеразы (ChE, E.C.3.1.1.8.) — приблизительно 70—80 %. Полное возобновление первоначального состояния не позже 14 дней после интоксикации.

органофосфаты; овцы; терапия; TMB-4сompос. СПОФА

BENEŠ J., PROKŠOVÁ M., HRUŠOVSKÝ J. (Military Veterinary Research Institute, Praha, Czechoslovakia). *Antidotal Effect of TMB-4 compos. SPOFA in Sheep Intoxicated with 0-Ethyl S-(2-Dimethylaminoethyl) Methyl Phosphonothioate*. Vet. Med. (Praha) 21 (4) : 237-249, 1976.

A single application of a mixture of cholinolytic and reactivator of cholinesterase (TMB-4 compos. SPOFA) administered intravenously in the dose of 10.0 mg of trimedoxim per kg of live weight to sheep for 60 minutes after an intramuscular intoxication with 0-ethyl S-(2-dimethylaminoethyl) methyl phosphonothioate (EDMM) in the dose of 0.00835 mg per kg of live weight (i. m. LD₅₀, 2 h) produces an immediate clinical effect. The reactivation of the erythrocytary acetyl cholinesterase (AChE, E. C. 3. 1. 1. 7.) examined in 15 minutes after the administration of the antidotal mixture is almost 100 p. c., the reactivation of the plasmatic butyryl cholin esterase (ChE, E. C. 3. 1. 1. 8.) approx. from 70 to 80 p. c. Restitution ad integrum occurred not later than in 14 days after the intoxication.

organophosphates; sheep; therapy; TMB-4 compos. SPOFA

BENEŠ J., PROKŠOVÁ M., HRUŠOVSKÝ J. (Militärisches Veterinärforschungsinstitut, Praha, Tschechoslowakei). *Antidoteffekt des TMB-4 compos. SPOFA bei mit 0-Äthyl S-(2-Dimethylaminoäthyl) Methylphosphonothiat intoxizierten Schafen*. Vet. Med. (Praha) 21 (4) : 237-249, 1976.

Die einmalige Applikation eines Gemisches des Cholinolytikums und des Cholinesterase-Reaktivators (TMB-4 copmos. SPOFA), verabreicht intravenös in einer Dosis von 10,0 mg Trimedoxim je Kilogramm Lebendmasse an Schafe 60 Minuten nach intramuskulärer Intoxikation mit 0-Äthyl S-(2-Dimethylaminoäthyl) Methylphosphonothiat in einer Dosis von 0,00835 mg je Kilogramm Lebendmasse (i. m. LD₅₀, 2 h) hat einen sofortigen klinischen Effekt. Die Reaktivierung der erythrozytären Azetylcholinesterase (AChE, E. C. 3. 1. 1. 7.), verfolgt in 15 Minuten nach Verabreichung der Antidotmischung, ist fast hundertprozentig, die Reaktivierung der plasmatischen Butyrylcholinesterase (ChE, E. C. 3. 1. 1. 8.) ist zirka siebzig- bis achzigprozentig. Zur Restitution ad integrum kam es am spätestens innerhalb von 14 Tagen nach der Intoxikation.

Organophosphate; Schaf; Therapie; TMB-4 compos. SPOFA

Adresa autorů:

MVDr. Jiří Beneš, CSc., PhMr. Milena Prokšová, doc. MVDr. Jozef Hrušovský, DrSc., Vojenský veterinární výzkumný ústav, 150 06 Praha

Upozorňujeme čtenáře, že v čísle 5/1976 časopisu

Veterinární medicína

budou uveřejněny následující články:

- E. Kudláč, J. Hrivnák, J. Nedbálková, B. Studenčík: Hladina některých minerálií, glukózy a vitamínu A v krevním séru prasnic během puerperia v podmínkách velkochovu
- E. Kudláč: Změny v krevním obraze během puerperia u prasnic českého bílého plemene chovaných ve velkovýrobních podmínkách
- L. Holý, F. Barba: Frekvence a diferenciacie defektních spermií ve vztahu k některým klinickým testikulárním změnám u černostrakatých býků plemene Holstein
- A. Ševčík, J. Kačmárik, J. Elečko: Fixné kyseliny pri konzervatívnom cisárskom reze u kráv
- J. Ševčík, J. Kačmárik, J. Elečko: Zmeny kyseliny mliečnej, pyrohroznovej a indexu L/P u kráv a teliat pri pôrode
- F. Schvarc, P. Gamčík, P. Mesároš: Variabilita hrúbky endometria u oviec pri intravaginálnom pôsobení chlórsuperlutinu
- P. Selinger, J. Mazurová: Výsledky bakteriologického a cytologického vyšetřování děložních laváží krav ve stádech s poruchami fertility

CELKOVÝ DUSÍK U MYŠÍ PO INJEKCII AUROTHIOGLUKÓZY

D. Šimková, K. Boďa

Ústav fyziológie hospodárskych zvierat SAV, Košice

ŠIMKOVÁ D., BOĎA K. Celkový dusík u myši po injekcii aurothioglukózy. Vet. Med. (Praha) 21 (4) : 251-255, 1976.

Dospelým myšiam — samiciam kmeňa „H“ sme jednorázove aplikovali aurothioglukózu v dávke 1 mg g⁻¹ živej hmotnosti *i. p.* Pri kŕmení *ad libitum* sme po troch mesiacoch experimentu stanovili v beztukovej sušine celkový dusík. V priemere boli hodnoty celkového dusíka u zvierat po injekcii aurothioglukózy rovnaké ako u zvierat kontrolných a prakticky rovnaké boli aj hodnoty celkového dusíka vzhľadom k beztukovej sušine.

celkový dusík; aurothioglukóza

Po elektrolytických léziách hypothalamického ventromediálneho (HVM) jadra dochádza u krýs k hyperfágii a obezite (Hetherington, Ranson, 1940; Brobeck a i., 1943). Podobný obraz je možné vyvolať u myši jednorázovou aplikáciou aurothioglukózy (ATG) (Brecher, Waxler, 1949; Marshall, Mayer, 1954). Histologickým vyšetrením hypothalamu po injekcii ATG boli zistené lézie v oblasti HVM jadier (Marshall a i., 1955). Pretože väčšina zvierat po aplikácii ATG prijíma väčšie množstvo krmiva (Šimková, Boďa, 1972), zistilo sa u nich výrazné zvýšenie celkovej hmotnosti (Šimková, Boďa, 1971a) a celkového tuku (Šimková, Boďa, 1971b), dokonca i pri obmedzenom príjme krmiva (Šimková, Boďa, 1976). U mladých rastúcich krýs sa síce léziami HVM jadier tiež podarilo vyvolať obezitu, ale zároveň boli zistené poruchy rastu (Kennedy, 1957; Han a i., 1965).

Cieľom našich experimentov bolo zistiť, či hromadenie tuku u väčšiny zvierat po injekcii ATG nie je doprevádzané zníženými hodnotami celkových bielkovín a či k hromadeniu tuku nedochádza do určitej miery na úkor bielkovinového tkaniva. U dospelých myši po injekcii ATG sme sledovali hodnoty celkového dusíka ako jedného ukazovateľa obsahu telových bielkovín.

MATERIÁL A METÓDA

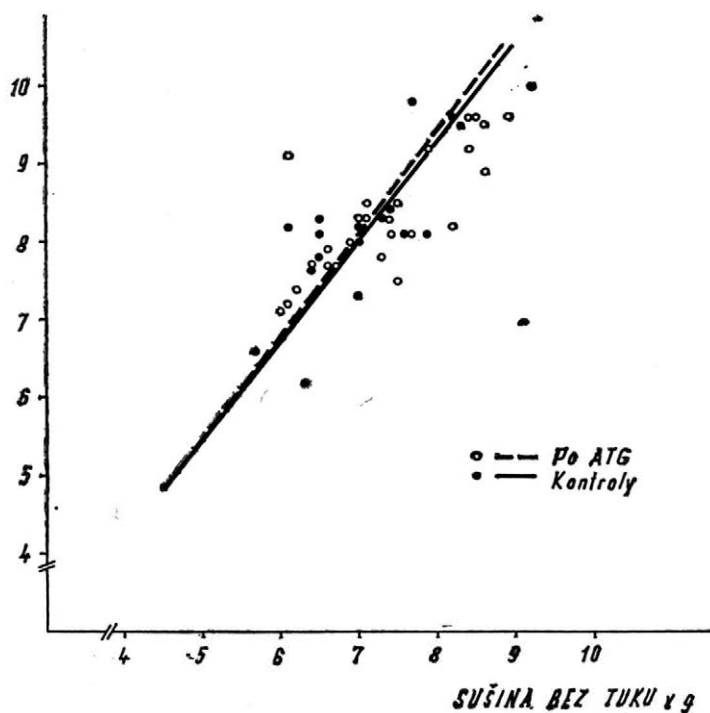
Pokusy sme robili u 44 dospelých myši — samíc kmeňa „H“. ATG v dávke 1 mg g⁻¹ živej hmotnosti *i. p.* sme injikovali 26 myšiam, ostatné slúžili ako kontroly. Zvieratá boli kŕmené tzv. Larsenovou diétou z Velaz

Praha. Krmivo i vodu dostávali *ad libitum*. Po troch mesiacoch sme zvieratá dekapitovali, pomleli a po extrakcii tuku sme v beztukovej sušine stanovili celkový dusík Kjeldahlovou metódou. Výsledky sme štatisticky vyhodnotili.

VÝSLEDKY A DISKUSIA

Medzi celkovou hmotnosťou myši a celkovým obsahom dusíka existuje štatisticky významná závislosť ($P < 0,001$). Vysoko štatisticky významná je i závislosť celkového dusíka vzhľadom k beztukovej sušine ($P < 0,001$). Z obr. 1 je vidieť, že sme takmer nenašli rozdiel v závislosti medzi celkovým dusíkom vzhľadom k beztukovej sušine u zvierat po injekcii ATG a zvierat kontrolných. Korelačný koeficient u zvierat po ATG = $0,7517 \pm 0,0587$, u kontrolných zvierat $r_{xy} = 0,7654 \pm 0,0679$.

CELKOVÝ N v g $\times 10^{-1}$



1. Závislosť celkového dusíka od beztukovej sušiny

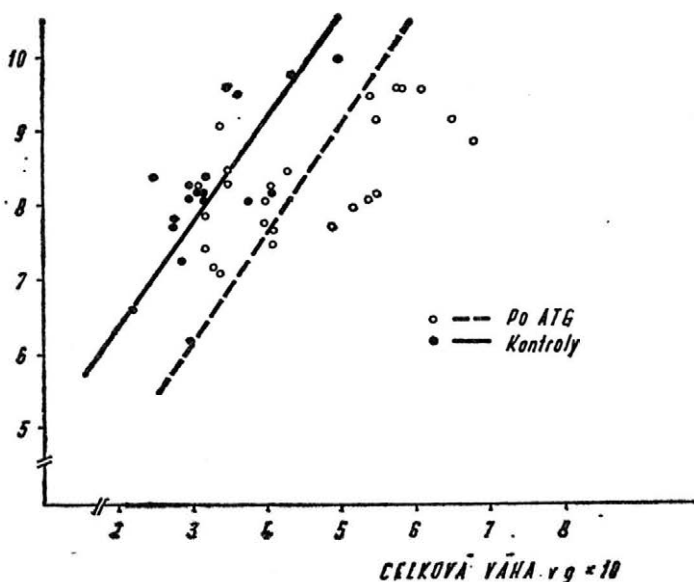
Pri hodnotení závislosti celkového dusíka vzhľadom k celkovej hmotnosti myši po pomleťi sme zistili skoro rovnaký korelačný koeficient — u zvierat po ATG = $0,662 \pm 0,0785$, u zvierat kontrolných = $0,697 \pm 0,0842$. Ako je vidieť na obr. 2, majú vzhľadom k celkovej hmotnosti zvieratá po injekcii ATG menej celkového dusíka ako zvieratá kontrolné. Výsledky sú tu ovplyvnené vysokým obsahom tuku, ktorý sme u zvierat po podaní ATG zaznamenali pri kŕmení *ad libitum* (Šimková, Boďa, 1971b) i pri obmedzenom kŕmení (Šimková, Boďa, 1976).

Vzhľadom na uvedené výsledky považujeme za správnejšie posudzovať množstvo celkového dusíka v závislosti od beztukovej sušiny.

Priemerné hodnoty beztukovej sušiny u zvierat po aplikácii ATG a u zvierat kontrolných neboli výrazne rozdielne. U zvierat, ktorým sme injikovali ATG, bola primerená hodnota beztukovej sušiny 7,35 g, u kontrolných 7,15 g. Takmer rovnaké boli i priemerné hodnoty celkového dusíka u zvierat po injekcii ATG 0,84 g, u kontrolných zvierat 0,83 g.

2. Závislosť celkového dusíka od celkovej hmotnosti

CELKOVÝ N v g $\times 10^{-1}$



Na základe našich experimentov nie je možné vylúčiť určité prechodné zmeny v bielkovinovom metabolizme, ako ich popisuje Holm a i. (1973) u rastúcich krýs po elektrolytických léziách HVM jadier. V období asi do 34 až 39 dní zistil u všetkých zvýšený katabolizmus bielkovín (alebo ich zníženú syntézu). Autor u nich popisuje aj znížený celkový obsah bielkovín, no je treba pripomenúť, že tieto hodnoty boli stanovené v homogenátoch obsahujúcich aj tuk, čo mohlo výsledky ovplyvniť.

Keď posudzujeme hodnoty celkového dusíka u zvierat po injekcii ATG a u zvierat kontrolných a výsledky získané sledovaním závislosti týchto hodnôt na beztukovej sušine, vyplýva, že u dospelých zvierat po injekcii ATG nedochádza k výrazným zmenám v množstve bielkovinového tkaniva a vysoký obsah tuku, ktorý bol u nich zaznamenaný (Šimková, Boďa, 1971b), sa nevytvára na úkor bielkovinového tkaniva, ale je pravdepodobne dôsledkom zmien v metabolizme lipidov.

Za technickú spoluprácu ďakujeme s. E. Kapustovej.

Literatura

- BRECHER, G. WAXLER, S.: Obesity in albino mice due to single injection of goldthioglucose. *Proc. Soc. exp. Biol. Med.*, 70, 1949, s. 498-501.
- BROBECK, J. R. — TEPPERMAN, J. — LONG, C. N. H.: Experimental hypothalamic hyperphagia in the albino rat. *Yale J. Biol. Med.*, 15, 1953, s. 831-853.
- HAN, P. W. — LIU, C. N. — CHU, K. C. — MU, I. J. — LIU, A. C.: Hypothalamic obesity in weanling rats. *Am. J. Physiol.*, 209, 1965, s. 627-631.
- HETHERINGTON, A. W. — RANSON, S. W.: Hypothalamic lesions and adiposity in the rat. *Anat. Rec.*, 78, 1940, s. 149-172.
- HOLM, H. — HUSTVEDT, B. E. — LOVO, A.: Protein metabolism in the rats with ventromedial hypothalamic lesions. *Metabolism*, 22, 1973, s. 1377-1387.
- KENNEDY, C. C.: The development with the age of hypothalamic restraint upon the appetite of the rat. *J. Endocr.*, 16, 1957, s. 9-17.
- MARSHALL, N. B. — BARNETT, R. J. — MAYER, J.: Hypothalamic lesions in the goldthioglucose injected mice. *Proc. Soc. exp. Biol. Med.*, 90, 1955, s. 240-244.
- MARSHALL, N. B. — MAYER, J.: Energy balance in goldthioglucose obesity. *Am. J. Physiol.*, 178, 1954, s. 271-274.
- ŠIMKOVÁ, D. — BOĎA, K.: Váňové prírastky dospelých a mladých myší po aplikácii aurothioglukózy. *Folia vet.*, Košice, XV, 1971a, s. 13-19.
- ŠIMKOVÁ, D. — BOĎA, K.: Obsah tuku u myší po aplikácii aurothioglukózy. *Vet. Med. (Praha)*, 16, 1971b, č. 9, s. 583-587.
- ŠIMKOVÁ, D. — BOĎA, K.: Spotřeba krmiva u myší po aplikácii aurothioglukózy. *Vet. Med. (Praha)*, 17, 1972, č. 4, s. 253-256.
- ŠIMKOVÁ, D. — BOĎA, K.: Prírastky hmotnosti a celkový obsah tuku po aplikácii aurothioglukózy pri obmedzenom množstve krmiva. *Vet. Med. (Praha)*, 21, 1976, č. 2, s. 101-105.

Došlo dne 19. 6. 1975

ШИМКОВА Д., БОДЯ К. (Институт физиологии сельскохозяйственных животных САН, Кошице, Чехословакия). Общий азот у мышей после инъекции авротииоглюкозы. *Vet. Med. (Praha)* 21 (4) : 251-255, 1976.

Взрослым мышам-самкам штамма «Н» в один прием подавалась авротииоглюкоза в дозе 1 мг/г живой массы *i. p.* При кормлении вволю после трехмесячного эксперимента мы определяли в обезжиренном сухом веществе общий азот. В среднем значения общего азота у животных после инъекции авротииоглюкозы были такими же, как у контрольных животных и практически такими же были значения общего азота, по отношению к обезжиренному сухому веществу.

общий азот; авротииоглюкоза; мыши

ŠIMKOVÁ D., BOĎA K. (Institute of the Physiology of Farm Animals of the Slovak Academy of Sciences, Košice, Czechoslovakia). *Nitrogen Total in Mice after an Injection of Aurothioglucose*. *Vet. Med. (Praha)* 21 (4) : 251-255, 1976.

To mature female mice of the „H“ strain aurothioglucose was applied, once in the dose of 1 mg g⁻¹ of live weight *i. p.* In the case of feeding ad libitum we determined, after three months of the experiment, the nitrogen total in the fatfree dry substance. On an average the values of the total N in the animals were, after the injection of aurothioglucose, equal to those of the control animals, and the values of the nitrogen total with regard to the fatfree dry substance were practically the same.

nitrogen total; aurothioglucose; mice

ŠIMKOVÁ D., BOĎA K. (Institut für Physiologie der landwirtschaftlichen Nutztiere der Slowakischen Akademie der Wissenschaften, Košice, Tschechoslowakei). *Gesamtstickstoff bei Mäusen nach Aurothioglukose-Injektion*. Vet. Med. (Praha) 21 (4) : 00-00, 1976.

Bei erwachsenen weiblichen Mäusen des H-Stammes applizierten wir einmalig die Aurothioglukose in einer Dosis von 1 mg g⁻¹ Lebendmasse *i. p.* Bei Fütterung *ad libitum* ermittelten wir nach drei Monaten des Experimentes den Gesamtstickstoffgehalt in der fettfreien Trockensubstanz. Im Durchschnitt waren die Gesamtstickstoffwerte bei den Mäusen nach der Aurothioglukose-Injektion dieselben wie bei den Kontrolltieren und praktisch waren auch die Werte des Gesamtstickstoffs in bezug auf die fettfreie Trockensubstanz gleich.

Gesamtstickstoff; Aurothioglukose; Mäuse

Rukopis odevzdán k tisku 12. 2. 1976 — Podepsáno k tisku 8. 6. 1976

Adresa autorů:

MVDr. D. Šimková, CSc., prof. MVDr. K. Boďa, DrSc., Ústav fyziológie hospodárskych zvierat SAV, Palackého 36, 040 00 Košice

OBSAH

Kursa J.: Proteinemie u mladého skotu v průběhu nutriční svalové dystrofie	195
Teleha M., Šlesárová L.: Aktivita a variabilita aminopeptidáz a γ -glutamyltranspeptidázy kutánní sliznice bachora kravy	201
Süssland Z., Hrdinová V.: Použití rychlé aglutinace v sérotypizaci <i>Mycobacterium avium-intracellulare</i> komplexu	209
Lukášová J., Labonek M.: Studium penetrace stafylokoků vaječnou skořápkou	215
Grieger C., Havrila J., Hromada H., Lengyel G., Pakánová M., Perl R., Verdon F.: Syridlo ako zdroj výskytu salmonel v niektorých mliečnych výrobkoch	221
Šimůnek J., Švec J., Hegerová E., Jaroš J., Jancke S.: Účinnost některých barbituranů u kuřat rozdílného věku	229
Beneš J., Prokšová M., Hrušovský J.: Antidotní efekt TMB-4 compos. (SPOFA) u ovci intoxikovaných 0-etyl S-(2-dimetylaminoetyl) metylfosfonotioátem	237
Šimková D., Boďa K.: Celkový dusík u myši po injekci aurothio-glukózy	251
Recenze	
Cvachovec B.: Piatkowski, B., Fischer, G. — Využití živin přežvýkavci	214
Kaman J.: Akajevskij, A. I. — Anatomija domašnich životnych	228

СОДЕРЖАНИЕ

Курса Й.: Протеинемия у молодняка в ходе беломышечной болезни	199
Телега М., Шлесарова Л.: Активность и изменчивость аминопептидазы и γ -глутамилтранспептидазы слизистой кожи рубца у коровы	207
Сюсланд З., Грдинова В.: Применение быстродействующей агглютинации в серотипизации комплекса <i>Mycobacterium avium-intracellulare</i>	213
Лукашова Я., Лабоунок М.: Изучение проникания стафилококков через яичную скорлупу	219
Григер Ц., Гаврила Й., Громала Р., Лендель Г., Паканова М., Перл Р., Вернон Ф.: Сычужный фермент как источник появления сальмонелл в некоторых молочных продуктах	226
Шимунек И., Шве́ц Й., Гегерова Э., Ярош Й., Янкэ С.: Эффективность некоторых барбитуратов у цыплят различного возраста	234
Бенеш Й., Прокшова М., Грушовский Й.: Антидотный эффект ТМВ-4 компос. СПОФА у овец, отравленных 0-этил S-(2-диметиламиноэтил) метилфосфотиоатом	248
Шимкова Д., Бодя К.: Общий азот у мышей после инъекции авротиоглюкозы	254

CONTENT

Kursa J.: Proteinemia in Young Cattle in the Course of the White Muscle Disease	199
Teleha M., Šlesárová I.: The activity and Variability of Amino Peptidases and γ -Glutamyl Transpeptidase of the Cutaneous Mucous Membrane of Cow's Rumen	207
Süssland Z., Hrdinová V.: Rapid Agglutination in the Serotyping of the <i>Mycobacterium avium-intracellulare</i> Complex	213
Lukášová J., Labounek M.: Studium penetrace stafylokolů vaječnou the Egg-Shell	219
Grieger C., Havrila J., Hromada H., Lengyel G., Pakánová M., Perl R., Verdon F.: The Rennet as a Source of Salmonella Occurrence in Some Milk products	227
Šimůnek J., Švec J., Hegerová E., Jaroš J., Jancke S.: The Effectiveness of Some Barbiturates in Chickens of Different Age	234
Beneš J., Prokšová M., Hrušovský J.: Antidotal Effect of TMB-4 compos. SPOFA in Sheep Intoxicated with 0-Ethyl S-(2-Dimethylaminoethyl) Methyl Phosphothioate	249
Šimková D., Boďa K.: Nitrogen Total in Mice after an Injection of Aurothioglucose	254

INHALT

Kursa J.: Proteinämie bei jungem Rindvieh im Verlauf der alimentären Muskeldystrophie	199
Teleha M., Šlesárová I.: Aktivität und Variabilität der Amino-peptidasen und der γ -Glutamyltranspeptidase der kutanen Schleimhaut des Kuhpansens	207
Süssland Z., Hrdinová V.: Anwendung einer raschen Agglutination bei der Serotypisation des <i>Mycobacterium avium-intracellulare</i> -Komplexes	213
Lukášová J., Labounek M.: Das Studium des Durchdringens von Staphylokokken durch die Eierschale	219
Grieger C., Havrila J., Hromada H., Lengyel G., Pakánová M., Perl R., Verdon F.: Das Lab als Hauptquelle des Auftretens von Salmonellen in einigen Milchprodukten	227
Šimůnek J., Švec J., Hegerová E., Jaroš J., Jancke S.: Wirksamkeit einiger Barbiturate bei Kühen von verschiedenem Alter	235
Beneš J., Prokšová M., Hrušovský J.: Antidoteffekt des TMB-4 compos. SPOFA bei mit 0-Äthyl S-(2-Dimethylaminoäthyl) Methylphosphothiat intoxizierten Schafen	249
Šimková D., Boďa K.: Gesamtstickstoff bei Mäusen nach Aurothioglucose-Infektion	255

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