

VĚDECKÝ ČASOPIS



VETERINÁRNÍ MEDICÍNA

10

ROČNÍK 22 (I)

PRAHA

ŘÍJEN 1977

CENA 10 Kčs

ČESKOSLOVENSKÁ AKADEMIE ZEMĚDĚLSKÁ

ÚSTAV VĚDECKOTECHNICKÝCH INFORMACÍ

PRO ZEMĚDĚLSTVÍ

VETERINÁRNÍ MEDICÍNA

Rídí redakční rada

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

Za vedení časopisu odpovídá prof. MVDr. Antonín Holub, DrSc.

Redaktorka ing. Jovanka Václavíčková

© Ústav vědeckotechnických informací pro zemědělství, Praha 1977

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

■
Научный журнал VETERINÁRNÍ MEDICÍNA публикует обзоры, анализы и научные статьи о разрешенных задачах по научному исследованию в области ветеринарии. Издает Чехословацкая сельскохозяйственная академия — 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. Published by the Czechoslovak Academy of Agriculture — Institute of Scientific and Technical Information for Agriculture. Issued monthly. Editorial office 120 56 Prague 2, Slezská 7.

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

IMUNOFLUORESCENCIA S VÍRUSOM PI-3 – PRÍPRAVA A VYHODNOTENIE KONJUGÁTOV Z IMÚNNYCH SÉR VIACERÝCH DRUHOV ZVIERAT

A. Žuffa, R. Chumchal, J. Menšík

ZUFFA, A. – CHUMCHAL, R. – MENŠÍK, J. (Výskumné stredisko, Bioveta, Nitra; Výzkumný ústav veterinárního lékařství, Brno): *Imunofluorescencia s vírusem PI-3 – příprava a vyhodnocení konjugátů z imunných sér viacerých druhov zvierat*. Vet. Med., Praha, 22, 1977 (10) : 577-588.

Imúnne séra s vysokým obsahom protilátok proti vírusu parainfluenzy 3 (PI-3), vhodné pre výrobu špecifických konjugovaných imunoglobulínov, boli pripravené na konvenčne odchovaných teľatách, králikoch a morčatách, s použitím rozdielnych spôsobov aplikácie antigénu. Pri spracovaní na konjugáty sa séra uvedených zvieracích druhov odlišovali čo do výťažnosti čistého IgG, hotového konjugátu, aj molárnych F/P pomerov, ale ich schopnosť vizualizovať antigény vírusu PI-3 do riedení bola približne rovnaká. Najnižší obsah protilátok aj najnižšiu výťažnosť čistého IgG vykazovalo sérum pripravené na bezkolostrálnom teľati, pričom aj farbiaca schopnosť konjugátu z neho pripraveného bola nižšia.

vírus parainfluenzy 3; príprava imúnnych sér; konjugáty; imunofluorescencia

Technika fluoreskujúcich protilátok našla v posledných rokoch široké uplatnenie ako špecifická a citlivá metóda na indentifikovanie vírusových antigénov v infikovanom tkanive.

Pri víruse parainfluenzy 3 (PI-3) se imunofluorescencia použila na sledovanie priebehu infekcie v kultúrach buniek pestovaných *in vitro* (Omar, 1965; Bürki a i., 1966; Ludwig a Paulsen, 1969; Maaten, 1969) a priebehu experimentálnych infekcií rôznych druhov zvierat (Valíček a Šmíd, 1967; Chien Liu a i., 1968; Valíček a Menšík, 1968; Maaten, 1969b; Stevenson, 1969). Pracovalo se pritom priamou (Ludwig a Paulsen, 1969; Maaten 1969a, b; Stevenson, 1969) aj nepriamou metódou (Sominina a i., 1967; Valíček a Šmíd, 1967; Valíček a Menšík, 1968, Stevenson, 1969). Pri priamej metóde sa pripravili konjugáty z hyperimúnnych sér vyrobených na králikoch (Stevenson, 1969), ovciach (Stevenson, 1969), hovädzom dobytku (Maaten, 1969a, b) a opiciach (Chien Liu a i., 1969). Neštudovali a neporovnávali sa pritom podmienky prípravy imúnnych sér na viacerých druhoch zvierat, so zreteľom na dosahované titre protilátok, výťažnosť imunoglobulínov, ako aj na kvalitu konjugátov z nich pripravených.

Cieľom našich pokusov bolo študovať možnosti výroby hyperimúnnych sér na viacerých druhoch zvierat, definovať podmienky ich spracovania na konjugované imunoglobulíny a hodnotiť kvalitu pripravených konjugátov podľa ich farbiacej schopnosti a intenzity nešpecifického žiarenia.

MATERIÁL A METÓDA

VÍRUS

Pracovali sme s kmeňom PI-3(T₁)25, ktorý sme v štvrtej pasáži na kultúrach primárnych teľacích obličkových buniek (PTOB) získali z Ústrednej zbierky vírusových a bakteriálnych kmeňov v Brne (Valíček a Šmíd, 1967; Menšík, 1968). Pre imunizáciu produkčných zvierat sme použili vírus napestovaný na kultúrach PTOB v prvej subpasáži. Dobré narastené kultúry v Rouxových fľašiach sme po infekcii veľkým inokulom zalievali médiom predstavujúcim Earlov roztok s 0,3 % LAHu (ER); médium sme v štádiu pokročilých cytopatických zmien zliali, odstredili počas 30 minút pri 3000 obrátkach za minútu a na očkovanie sme použili číry supernatant. Obsah vírusu sa pohyboval v hodnotách $10^{7,0}$ až $10^{7,5}$ TKID₅₀ ml⁻¹. Pre infekciu sklíčkových kultúr sme k vírusu, napestovanému rovnakým spôsobom, pridali 5 % inaktivovaného konského séra, rozplnili do ampuliek po 1 ml, titráciou na skúmavkových kultúrach PTOB stanovili obsah TKID₅₀ a až do použitia skladovali v zatavených ampulkách pri teplote -70 °C.

IMÚNNE SÉRA

Pre produkciu imúnnych hovädzích sér sme použili osem štvormesačných teliat odchovaných konvenčným spôsobom, ktorých séra boli prosté protilátok proti vírusu infekčnej bovínnej rinotracheitidy a titry protilátok proti vírusu slizničnej choroby nepresahovali hodnotu 1:4. Imunizovali sme ich dvojakým postupom: V prvej skupine dostali štyri zvieratá po 2 ml vírusu s.c. a za štyri týždne nato po 5 ml vírusu *i.m.*; za ďalšie štyri týždne sme im aplikovali vírus súčasne *i.nas.* v dávke 4 ml (po 2 ml do každého nosného otvoru) a *i.m.* v dávke 10 ml. Odbery krvi sa robili za dva týždne a následne za jeden a dva mesiace. V druhej skupine dostali štyri zvieratá po 4 ml vírusu *i.nas.*, s opakovaným *i.nas.* podaním za štyri týždne; za ďalšie štyri týždne boli hyperimunizované, rovnako ako zvieratá v prvej skupine, *i.nas.* a *i.m.* podaním vírusu v rovnakých dávkach a aj odbery krvi sa robili v rovnakom poradí.

Imúnne sérum na bezkolostrálnom teľati sme pripravili takto: Dvojtýždňové teľa, odchované bez kolostra, dostalo 5 ml vírusu *i.nas.*, s opakovaným *i.nas.* podaním rovnakej dávky vírusu po štyroch týždňoch. Za ďalšie štyri týždne bolo hyperimunizované *i.nas.* a *i.m.* aplikáciou vírusu v množstve po 10 ml.

Pre prípravu imúnnych sér na morčatách sme použili imunizačnú schému podľa Mc Kerchera (1963) a podľa Kettlera a i., (1961). V prvom prípade sme morčatám o hmotnosti 250 až 300 g aplikovali *i.nas.* po 1 ml vírusu a za dva týždne po 2 ml vírusu *i.perit.*, s opakovaním *i.perit.* podania rovnakej dávky vírusu za ďalšie dva týždne. Za ďalšie dva týždne sme morčatá vykrvácali. V druhom prípade dostali morčatá štyri *i.perit.* injekcie po 1 ml vírusu, vždy s časovým odstupom jedného týždňa, s vykrvením za dva týždne od posledného očkovania.

Aj pri príprave sér na králikoch sme použili dva imunizačné postupy. Pri prvom, podľa Dawsona (1964), dostalo šesť králikov štyri *i.perit.* injekcie vírusu po 2 ml v týždňových intervaloch, s následnou jednou *i.m.* inokuláciou vírusu v dávke 2 ml; za 10 dní od poslednej aplikácie boli zvieratá vykrvácané. Pri použití imunizačného postupu podľa Horeho a i. (1968) dostal rovnaký počet králikov po 2 ml vírusu *i.v.* a za dva týždne po 2 ml vírusu *i.v.* a po 3 ml *i.perit.* Krv zvierat sa odoberala za 10 dní od poslednej inokulácie. Séra, zliaté po šesťhodinovom státi krvi pri laboratórnej teplote a po ca 16 hodinách státi pri +4 °C, sa po opakovanom odstredení inaktivovali, vyšetrili na obsah neutralizačných protilátok (NP) a až do spracovania skladovali pri teplote -20 °C.

BUNKOVÉ KULTÚRY

Skúmavky a sklíčkové kultúry z teľacích obličiek (PTOB) sme pripravili spôsobom opísaným v predchádzajúcej práci (Žuffa a i., 1970).

TITRÁCIA PROTILÁTKO

K dvojnásobným riedeniam sér pripraveným v ER v množstve po 0,5 ml sa pridalo po 0,5 ml vírusu s obsahom približne 10^5 TKID₅₀ na 0,1 ml. Zmes sa inku-

bovala 1 hodinu pri teplote 37 °C; každým riedením sa očkovali štyri skúmavkové kultúry PTOB dávkou po 0,2 ml. Výsledok sa odčítal podľa CPE po sedemdnovej inkubácii kultúr pri teplote 37 °C, pričom sa za titer protilátok bralo riedenie, ktoré neutralizovalo uvedenú dávku vírusu aspoň vo dvoch zo štyroch skúmaviek.

PRÍPRAVA KONJUGÁTOV

Z príslušného hyperimúnného séra sa rivanolom vyzrážal albumín a podstatná časť alfa a prípadne aj beta globulínov. Po odstránení nadbytočného rivanolu adsorpciou na aktívne uhlie sa čistá IgC frakcia získala vyzrážaním filtrátu 3,2 M síranom amónnym do 45 až 50% nasýtenia. Síranové ióny sa odstránili dialýzou a roztok IgG sa nariadil východiskovým pufrom na koncentráciu 1% P. pH roztoku sa upravilo na 9,5 a k roztoku sa za miešania prisypal pevný FITC (Pharmacia Praha) v množstve 300 µg ml⁻¹. Po rozpustení farbiva sa v konjugácii pokračovalo ešte 90 až 120 minút pri izbovej teplote. Priebeh konjugácie sa kontroloval, po odstránení nezreagovaného farbiva, v polhodinových intervaloch. Po dosiahnutí požadovaného molárneho F/P pomeru sa konjugácia prerušila, nezreagované farbivo odstránilo gélovou filtráciou na SEPHADEXe G-25 a konjugát se purifikoval gradientovou elúciou na DEAE SEPHADEXe A-50 (0,1 M východiskový pufer proti 0,7 M NaCl v tom istom pufri). Počas elúcie sa odoberali frakcie s M F/P pomerom od 2 do 10. Frakcie sa zliali, zahustili ultrafiltráciou na 1% P a ultradialyzovali proti východiskovému pufru až do rovnováhy. Prípadne vypadnuté farbivo sa oddelilo odstredením na stolnej centrifúge a číry roztok sa rozplnil do ampulí a zlyofilizoval. Lyofilizovaný konjugát, v ampulkách zatavených vo vákuu alebo v atmosfére dusíka, sa skladoval pri teplote +4 °C.

INFEKCIA BUNKOVÝCH KULTÚR

Skličkové kultúry v Leightonových skúmavkách sme opláklí ER a infikovali vírusom nariadeným tak, aby 0,1 ml obsahoval ca 10⁵ TKID₅₀ v množstve 0,5 ml. Po jednodinovej adsorpcii pri 37 °C sa kultúry opláklí, prevrstvili 2 ml udržiavacieho média (UM), ktoré predstavovalo ER s 0,3% LAHu a 2% fetálneho telacieho séra a inkubovali počas 24 a 48 hodín pri 37 °C. Po ukončení inkubácie sa kultúry farbili jednotlivými konjugátmi neriedenými a v riedeniach 1:2 až 1:64, s použitím troch skličiek na každé riedenie, a prehliadali mikroskopicky.

IMUNOFLUORESCENCIA

Pracovali sme len priamou metódou. Kultúry sme fixovali a farbili rovnako, ako sme uviedli v predchádzajúcom oznámení (Žuffa a i., 1970; Chumchal a Žuffa, 1974). Farbené kultúry sme vyšetrovali mikroskopom FLUOVAL fy Zeiss (filtre G 247 a B 224 g, objektív 6,3 a 16, okulár PK 6,3). Pre fotografovanie sme použili film ORWO 27 DIN s expozičným časom 1 min.

Intenzita špecifickej aj nešpecifickej fluorescence na kultúrach farbených jednotlivými riedeniami každého konjugátu sa posudzovala vizuálne a hodnotila na štyri až jeden krížik, pričom ++++ vyjadrovala jasné, veľmi intenzívne žiarenie, +++ intenzívne žiarenie, ++ slabšie žiarenie a + slabé, ale dokázateľné žiarenie. Za pracovné sa považovalo to najvyššie riedenie konjugátu, po ofarbení ktorým vykazovali infikované kultúry intenzívne +++ špecifické žiarenie. Titer predstavovalo to riedenie konjugátu, ktoré po ofarbení infikovaných kultúr dovoľovalo preukazateľne dokázať prítomnosť a určiť lokalizáciu vírusových antigénov v rámci buniek s intenzitou žiarenia +.

Specifita imunofluorescencie sa dokázala dvojstupňovým inhibičným testom, farbením neinfikovaných kultúr, farbením kultúr infikovaných rozdielnymi vírusmi a farbením kultúr infikovaných vírusom PI-3 heterológnyimi konjugátmi.

VÝSLEDKY

KONJUGÁTY PRIPRAVENÉ Z IMÚNNYCH HOVÁDZÍCH SÉR

Imúnne séra pripravené na konvenčne odchovaných telatách obsahovali NP v titroch 1:256–1:2048, pričom neboli preukazné rozdiely

v titroch protilátok v sérach jednotlivých zvierat, resp. v sérach zvierat každej skupiny. Hodnoty titrov protilátok v sérach odoberatých za dva týždne od ukončenia imunizácie a v sérach odoberatých za jeden a dva mesiace boli približne rovnaké (tab. I).

I. Titre VN-protilátok proti vírusu PI-3 v sérach teliat za 2, 8 a 12 týždňov od ukončenia imunizácie — Titres of VN-antibodies to PI-3 virus in the sera of calves 2, 8 and 12 weeks after the completion of immunization

Skupina	Spôsob imunizácie	Číslo zvierat	Titre VN protilátok za týždňov po ukončení imunizácie		
			2	8	12
1.	2 ml <i>i. nas.</i> za 4 týždne	1	2048	2048	1024
	5 ml <i>i. m.</i> , za 4 týždne	2	2048	1024	1024
	4 ml <i>i. nas.</i> + 10 ml	3	2048	2048	1024
	<i>i. m.</i>	4	1024	1024	512
2.	4 ml <i>i. nas.</i> za 4 týždne	5	1024	1024	512
	8 ml <i>i. nas.</i> za 4 týždne	6	256	512	512
	4 ml <i>i. nas.</i> + 10 ml	7	512	1024	512
	<i>i. m.</i>	8	2048	2048	1024

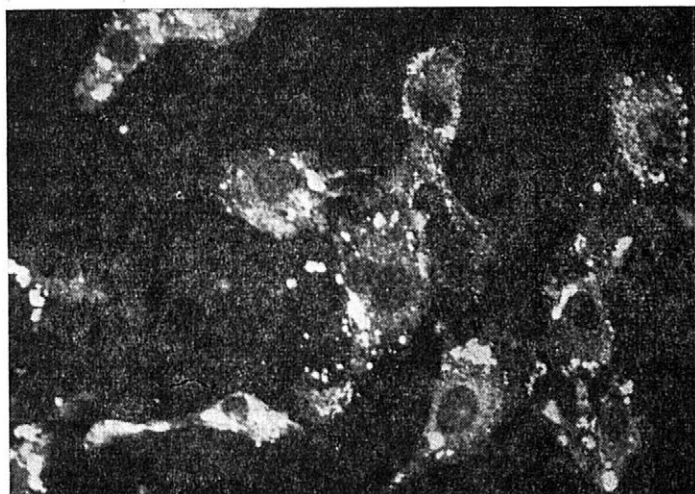
II. Vyhodnotenie konjugátov pripravených z jednotlivých hovädzích sér odoberatých za dva týždne po ukončení imunizácie — Evaluation of conjugates prepared from individual bovine sera collected two weeks after the completion of immunization

Po-kusná sku-pina	Číslo zvie-rat	Žiarenie	Intenzita žiarenia pri riedení konjugátu							Pracovné riedenie konju-gátu
			konc.	1 : 2	1 : 4	1 : 8	1 : 16	1 : 32	1 : 64	
1	1	špecifické nešpecifické	++++ +	++++ —	+++ —	(++)	+	(+)	—	1 : 4
	2	špecifické nešpecifické	++++ +	++++ —	++++ —	+++	++	(++)	+	1 : 8
	3	špecifické nešpecifické	++++ (+)	++++ —	(++++) —	+++	(+++)	++	+	1 : 16
	4	špecifické nešpecifické	++++ (++)	++++ (+)	++++ —	+++ —	++	++	+	1 : 8
2	5	špecifické nešpecifické	++++ ++	++++ +	+++ —	+++ —	(+++)	(++)	+	1 : 16
	6	špecifické nešpecifické	++++ +	+++ (+)	+++ —	++ —	+	(+)	—	1 : 4
	7	špecifické nešpecifické	++++ ++	+++ +	+++ —	++ —	+	(+)	—	1 : 4
	8	špecifické nešpecifické	++++ +	++++ (+)	+++ —	+++ —	++	+	+	ý : 8

Na konjugáty sme spracovali samostatne séra odobraté od jednotlivých zvierat za dva týždne od ukončenia imunizácie a zmesné vzorky sér prvej a druhej skupiny zvierat, odobraté za jeden a dva mesiace; okrem toho sme pripravili konjugáty zo zmesných vzoriek sér obidvoch skupín z odberu za dva týždne od ukončenia imunizácie, po ich polročnom a jednoročnom skladovaní pri teplote -20°C .

Konjugáty pripravené z jednotlivých sér vizualizovali antigény vírusu PI-3 do riedení 1:16 až 1:64, s pracovnými riedeniami 1:4 až 1:16. Aj pri hraničnom riedení konjugátu bola intenzita fluorescencie takého stupňa, že sa dala preukazne dokázať prítomnosť a určiť lokalizácia vírusovej infekcie v rámci buniek; intenzita nešpecifickej fluorescencie bola zanedbateľná aj pri farbení kultúr neriedeným konjugátom (tab. II). Neboli rozdiely v kvalite konjugátov pripravených zo sér odobratých v rozličnom období od ukončenia imunizácie. Konjugáty pripravené zo

1. Kultúry PTOB farbené hovädzím konjugátom za 24 hodín po infekcii vírusom PI-3 — PTOB cultures coloured with bovine conjugate 24 hours after PI-3 virus infection



2. Kultúry PTOB farbené hovädzím konjugátom za 48 hodín po infekcii vírusom PI-3 — PTOB cultures coloured with bovine conjugate 48 hours after PI-3 virus infection

sér skladovaných šesť mesiacov a jeden rok pri teplote -20°C boli rovnako kvalitné ako konjugáty z čerstvo spracovaných sér.

V kultúrach farbených riedením konjugátov, považovaným za pracovné, sa za 24 hodín od infekcie zistila ca na 30 % buniek jasná jemno zrnitá intenzívna fluorescencia v cytoplazme (obr. 1). V kultúrach farbených za 48 hod. p. i. žiaril takmer celý monolayer s nálezom ostro ohraničených intenzívne fluoreskujúcich granúl v cytoplazme jednotlivých buniek (obr. 2). Jadrá boli vo všetkých prípadoch prosté špecifickej fluorescencie.

Molárne F/P pomery sa v jednotlivých konjugátoch pohyboval v rozpätí hodnôt 2 až 7. Ako najvhodnejšie sa javia hodnoty M F/P od 4 do 5, pričom konjugáty s vyšším M F/P pomerom vykazovali vyššiu farbiacu schopnosť bez toho, aby preukazne stúpila intenzita nešpecifického žiarenia. Ako nepoužiteľné sa javia konjugáty s hodnotami M F/P 3 a nižšie. Obsah protilátok v konjugátoch sa javí byť v priamom vzťahu k obsahu protilátok vo východiskovom sére, ale ich schopnosť vizualizovať vírusový antigén do riedenia nie je vždy v priamom vzťahu k obsahu neutralizačných protilátok (tab. III).

III. Hodnoty konjugátov pripravených z jednotlivých hovädzích sér — Values of conjugates prepared from individual bovine sera

Číslo séra	Titer NP v		Molárny F/P pomer	Svietivosť			
				špecifická		nešpecifická	
	sére	konjugáte		riedenie	intenzita	riedenie	intenzita
1	2048	128	5,75	1 : 4	+++	konc.	+
2	2048	256	3,90	1 : 8	+++	konc.	+
3	2048	256	5,90	1 : 16	(+++)	konc.	(+)
4	1024	256	5,80	1 : 8	+++	konc.	(+)
5	1024	128	7,20	1 : 16	(+++)	1 : 2	+
6	256	64	3,00	1 : 4	+++	konc.	(+)
7	512	64	3,60	1 : 4	+++	konc.	(+)
8	2048	128	5,90	1 : 8	(+++)	konc.	+

Sérum získané od bezkolostrálneho teláta vykazovalo titer NP 1 : 128. Výťažnosť 1 % roztoku IgG bola 18 %, čo je v porovnaní so 70 až 75 % výťažnosťou pri spracovaní sér pripravených na telatách odchovaných konvenčným spôsobom až štvornásobne nižšia. Väzbou FITC na IgG sa dosiahol M F/P pomer 5,15, čo odpovedá horným hodnotám dosahovaným pri spracovaní bežných sér, avšak farbiaca schopnosť konjugátu bola preukazne nižšia; pri farbení kultúr neriedeným konjugátom sa zistila

+++ intenzita žiarenia, s pracovným riedením konjugátu 1 : 2 a konečným titrom 1 : 32. Nešpecifické žiarenie bolo aj pri farbení kultúry neriedeným konjugátom zanedbateľné (tab. IV).

IV. Hodnoty konjugátu pripraveného z imúneho séra bezkolostrálneho teľafa — Values of conjugates prepared from immune serum of calf not given colostrum

Sérum	Titer NP v		Molárny F/P pomer	Žiarenie	Intenzita žiarenia pri riedení konjugátu						Pracovné riedenie konjugátu
	sére	konjugáte			konc.	1 : 2	1 : 4	1 : 8	1 : 16	1 : 32	
Zmesná vzorka	128	32	5,15	špecifické nešpecifické	+++ ±	+++ ±	(+++) —	++ —	(++)	+	1 : 4

KONJUGÁTY PRIPRAVENÉ Z KRÁLIČÍCH A MORČACÍCH IMMÚNNYCH SÉR

Králičie séra obsahovali pri použití obidvoch imunizačných postupov vyššie titry NP ako séra morčacie (tab. V). Súdiac podľa výšky a vyrovnanosti titrov NP v sérach jednotlivých králikov obidvoch skupín, javí sa spôsob imunizácie podľa Horeho a i. (1968) efektívnejším ako postup podľa Dawsona (1964), aj keď získané hodnoty nie sú pre malý počet zvierat preukazné.

V. Obsah neutralizačných protilátok proti vírusu PI-3 v sérach pripravených na králikoch a morčatách — Content of neutralizing antibodies to PI-3 virus in the sera prepared on rabbits and guinea-pigs

Produkčné zvierá	Imunizácia podľa	Počet pozitívne reagujúcich zvierat pri riedení séra 1:						
		<128	128	256	512	1024	2048	4096
Králiky	Horeho	—	—	—	—	2	3	1
Králiky	Dawsona	1	—	1	1	2	1	—
Morčatá	McKerchera	—	1	2	2	1	—	—
Morčatá	Kettlera	—	1	1	2	1	—	—

Pri spracovaní králičích sér na konjugáty sme postupovali takto: Samostatne sme spracovali sérum č. 2796 (titer NP 1 : 4096) a potom osobitne zmesné vzorky sér obidvoch skupín; sérum č. 2985 sa pre nízky obsah protilátok (1 : 32) vyradilo. Pre malé množstvo séra získaného od morčiat sa pripravili oddelene zmesné vzorky každej skupiny a spracovali na konjugáty osobitne. Údaje o hodnotách pripravených konjugátov sú zhrnuté v tab. VI.

Druh séra	Imunizácia podľa	Titer NP v		Molárny F/P pomer	Žiarenie
		sére	konjugáte		
Králičie	Horeho	4096	256	6,50	špecifické nešpecifické
		1024	128	5,74	špecifické nešpecifické
	Dawsona	1024	128	5,90	špecifické nešpecifické
Morčacie	McKerchera	512	32	8,00	špecifické nešpecifické
	Kettlera	512	64	7,00	špecifické nešpecifické

Konjugáty pripravené zo sér králikov imunizovaných postupom podľa Horeho a i. (1968) a zo sér morčiat imunizovaných podľa Kettlera a i. (1961) vizualizovali antigény vírusu PI-3 v infikovaných bunkových kultúrach špecificky s vysokou intenzitou žiarenia do riedení 1:16 až 1:64, pri slabšej špecifickej fluorencii kultúr ofarbených neriedeným konjugátom. Konjugáty pripravené zo sér králikov a morčiat imunizovaných podľa McKerchera (1963), resp. Dawsona (1964), vykazovali slabšiu schopnosť vizualizovať vírusové antigény do riedení s požadovanou intenzitou žiarenia, pri vyššom stupni nešpecifickej fluorencie.

Molárny F/P pomer konjugátov pripravených z králičích, resp. morčacích sér sa pohyboval v rozpätí od 3 do 9, pri optimálnej hodnote 6 — 7. Znamená to, že optimálne M F/P pomery pri králičích konjugátoch vykazovali (v porovnaní s hovädzimi konjugátmi) vyššie hodnoty, ktoré však neboli spojené so zvýšením nešpecifického žiarenia. Titry protilátok v konjugátoch, resp. ich pokles v porovnaní k východiskovým séram, boli analogické s konjugátmi z hovädzích sér, a preto aj ich pracovné riedenia boli rovnaké.

Bunkové kultúry PTOB, farbené v rozličnom čase od infekcie odstupňovanými dávkami vírusu PI-3 pracovným riedením ktoréhokolvek konjugátu, vykazovali intenzívne špecifické žiarenie, ktoré dovoľovalo určiť lokalizáciu aj charakter vírusovej fluorencie. Neboli rozdiely ve fluorescentných nálezoch pri farbení infikovaných kultúr pracovným riedením králičích, morčacích a hovädzích konjugátov.

DISKUSIA

Imunizáciou konvenčným spôsobom odchovaných teliat, králikov a morčiat vírusom PI-3 pri použití rozdielnych spôsobov aplikácie antigénu sa získali séra s vysokým obsahom protilátok, vhodné pre spracovanie na konjugované imunoglobulíny. Obzvlášť kvalitné séra, s vyrovna-

Intenzita žiarenia pri riedení konjugátu							Pracovné riedenie konjugátu
konc.	1 : 2	1 : 4	1 : 8	1 : 16	1 : 32	1 : 64	
++++ ++	++++ +	++++ (+)	+++ —	+++ —	(+++)	++	1 : 16
++++ +	++++ +	(++++) —	+++ —	+++	(+++)	++	1 : 16
++++ (++)	++++ +	(++++) (+)	+++ —	++ —	+	+	1 : 8
+++ ++	+++ (++)	+++ +	(++) —	+	(+)	—	1 : 4
++++ +	++++ (+)	++++ —	+++ —	+++	++	(++)	1 : 16

nými vysokými titrami protilátok (1:1024 až 1:2048), sa pripravili na telatách kombinovaním *i. nas.* a parentálnej aplikácie vírusu (prvá pokusná skupina) a na králikoch *i. v.* a *i. perit.* aplikáciou vírusu podľa Horeho a i. (1968). Naproti tomu sérum pripravené na dvojtypným bezkolostrálnom telati vykazovalo preukazne nižší obsah protilátok (titer 1:128). Bez ohľadu na druh darcu boli séra vhodné pre výrobu konjugátov za predpokladu, ak obsahovali NP v titry 1:512 a viac. Pri produkcii sér na konvenčne odchovaných telatách treba — pre zaistene špecifity konjugátu — použiť ako darcov imúnneho séra jedince bez protilátok proti bežným vírusovým infekciám, alebo s ich nízkymi titrami. Tento nedostatok odstraňuje použitie králičích a morčacích sér, pričom králičie séra sú z technických a ekonomických dôvodov výhodnejšie ako morčacie.

Pri spracovaní imúnnych sér proti vírusu PI-3 jednotlivých zvierat, resp. jednotlivých druhov zvierat, na špecifické konjugáty sa použil postup, ktorý sa osvedčil pri spracovaní imúnnych sér pripravených na viacerých druhoch zvierat na konjugát proti Aujeszkeho vírusu (Chumchal a Žuffa, 1974). Výťažnosť čistého IgG (1% roztok IgG na objem spracovania séra) predstavoval pri králičích sérach 90 %, pri hovädzích 70–75 %, pri morčacích 30–35 %, ale pri spracovaní séra bezkolostrálneho teľaťa len 18 %. Objem hotového konjugátu, s obsahom 10 mg ml⁻¹ konjugovaného IgG, predstavoval pri spracovaní hovädzieho IgG 55–60 % východiskového množstva, pri spracovaní králičieho a morčacieho IgG a IgG zo séra bezkolostrálneho teľaťa ca 40 %.

Trvanie konjugácie, až do dosiahnutia optimálneho M/F/P pomeru, sa pohybovalo v rozpätí 90 až 120 minút. Optimálny M/F/P pomer konjugátu z hovädzích sér se pohyboval v rozpätí 4 – 5, resp. 5,15 pri konjugáte z bezkolostrálneho telacieho séra; králičie konjugáty vykazovali M/F/P pomer 6–7 a morčacie až 6–8. Vzhľadom na vysoké M/F/P pomery králičích a morčacích konjugátov by sa dalo predpokladať, že nimi ofarbené preparáty budú vykazovať intenzívnejšie nešpecifické žiarenie. Intenzita nešpecifickej fluorescencie bola však na úrovni hovädzích

konjugátov, pričom pri nižších hodnotách M F/P pomerov králičích a morčacích konjugátov sa znižovala aj intenzita špecifického žiarenia. Dlhodobé skladovanie imúnnych hovädzích sér pri teplote -20°C neovplyvnilo kvalitu z nich pripravených konjugátov. .

Pre farbenie, t.j. pre kontrolu konjugátov, sme cielavedome volili kultúry v rozdielnom štádiu infekcie, keďže menovite iniciálne štádium množenia vírusu PI-3 poskytuje charakteristické fluorescentné nálezy (Valíček a Šmíd, 1967; Ludwig a Paulsen, 1969; Maaten, 1969a). Farbením infikovaných kultúr PTOB sa zistovalo intenzívne žltozelené špecifické žiarenie, charakterizované nálezom práškovitej až jemnozrnitej fluorescencie v iniciálnom štádiu infekcie buniek a tvorbou ohraničených intenzívne fluoreskujúcich granúl pri akumulácii vírusových antigénov v bunkách, pričom neboli rozdiely vo fluorescentných nálezoch na kultúrach ofarbených pracovným riedením konjugátov hovädzích, králičích a morčacích. Intenzita žiarenia bola však preukazne nižšia pri farbení kultúr konjugátom zo séra bezkolostrálneho telata, čo súvisí najskôr s nižším obsahom protilátok, prípadne nižšou väzbovou schopnosťou protilátok vo východiskovom sére.

Získané poznatky poskytujú, pri zohľadnení technických a ekonomických ukazateľov, dostatok podkladov pre voľbu vhodnej imunizačnej schémy pre tie druhy zvierat, s ktorými sa pracovalo, pre podmienky skladovania imúnnych sér a spôsob ich spracovania na špecifické konjugáty pre vizualizovanie antigénov vírusu PI-3 fluorescentnou technikou.

Literatúra

- BÜRKI, F. — FISCHER, K. — FEY, H.: Vergleichende virologische fluoreszenzserologische und cytologische Untersuchungen mit einem bovinen Parainfluenza-3-Virus. Zentbl. Bakt., Parasit., Infekt., Hyg., 200, 1966, s. 191-201.
- DAWSON, P. S.: The isolation and properties of a bovine strain (T₁) of parainfluenza 3 virus. Res. Vet. Sci., 5, 1964, s. 81-88.
- HORE, D. E. — STEVENSON, R. G. — GILMOUR, N. J. L. — VANTSIS, J. T. — THOMPSON, D. A.: Isolation of parainfluenza virus from the lungs and nasal passages of sheep showing respiratory disease. J. Comp. Path., 78, 1968, s. 259-265.
- CHIEN, LIU — SHARP, ELEANOR — COLINS, J.: Studies on the pathogenesis of Parainfluenza 3 virus infection in hamsters. Arch. Ges. Virusforsch., 24, 1968, s. 203-219.
- CHUMCHAL, R. — ŽUFFA, A.: Štúdium vhodnosti imúnnych sér viacerých druhov zvierat pre prípravu konjugátu proti vírusu Aujeszkeho choroby. Vet. časopis, 16, 1974, s. 145-156.
- KERCHER Mc, D. G.: A comparative study of a strain of myxovirus from cattle in California affected with shipping fever with american and european strains of parainfluenza 3 virus. Cornell Vet., 53, 1963, s. 262-269.
- KETTLER, A. — HAMPARIAN, V. V. — HILLEMANN, M. R.: Laboratory and field investigations of bovine myxovirus parainfluenza 3 virus and vaccine. J. Immunol., 87, 1961, s. 126-133.
- LUDWIG, H. — PAULSEN, J.: Isolierung und fluoreszenzserologische Untersuchung von Parainfluenza-3-Virus aus Vaginal- und Nasentupfen vom Rind. Zentbl. Vet. Med., B, 16, 1969, s. 231-239.
- MAATEN, M. J.: Immunofluorescent studies of bovine Parainfluenza 3 virus. I. Cell cultures and experimentally infected hamsters. Canad. J. Comp. Med., 33, 1969a, s. 134-140.
- MAATEN, M. J.: Immunofluorescent studies of bovine parainfluenza 3 virus. II. Experimentally infected calves. Canad. J. Comp. Med., 33, 1969b, s. 141-147.
- MENŠÍK, J. — JURMANOVÁ, K. — PLEVA, V. — PLACHTOVÁ, I.: Izolace a identifikace kmenů myxoviru parainfluenzy 3 v ČSSR. Čs. epid. mikrobiol. imunol., 16, 1967, s. 143-151.

MENŠÍK, J.: Pathogenesis of experimental infection of calves with *Myxovirus parainfluenzae* 3. Docum. vet., Brno, 7, 1969, s. 89-98.

OMAR, A. R.: Cytopathic effects and immunofluorescence produced by the J 121 strain of bovine parainfluenza 3 virus in tissue culture. Comp. Path., 75, 1965, s. 287-297.

SOMININA, A. A. — ZUBZHITSKY, Yu. N. — SMORODINTSEV, A. A.: Dynamics of immunofluorescence and infectivity of parainfluenza 3 virus in susceptible cells. Acta virol., 11, 1967, s. 424-431.

STEVENSON, R. G.: Immunofluorescence studies of parainfluenza 3 virus in the lungs of lambs. J. Comp. Path., 79, 1969, s. 483-488.

VALÍČEK, L. — ŠMÍD, B.: Imunofluorescentní průkaz bovinního kmene myxoviru Parainfluenzae-3 v tkáňové kultuře telecích ledvin. Vet. Med., Praha, 12, 1967, s. 403-408.

VALÍČEK, L. — MENŠÍK, J.: Pathogenesis of experimental infection of calves with *Myxovirus parainfluenzae* 3. II. Demonstration of viral antigen by the fluorescent antibody technique. Docum. vet., Brno, 7, 1968, s. 99-108.

ŽUFFA, A. — RAJČANI, J. — MATIS, J.: Replication of infectious rhinotracheitis virus in calf kidney cells studied by immuno- and acridine orange-fluorescence. Acta virol., 14, 1970, s. 459-466.

Došlo dňa 14. 1. 1977

ЖУФФА, А. — ХУМХАЛ, Р. — МЕНШИК, Й. (Научно-исследовательский центр Биовета, Нитра; Научно-исследовательский институт ветеринарии, Брно): Иммунофлуоресценция с вирусом PI-3 — приготовление и оценка конъюгатов из иммунных сывороток некоторых видов животных. Vet. Med., Praha, 22, 1977 (10) : 577-588.

Иммунные сыворотки с высоким содержанием антител против вируса параинфлюэнцы 3 (PI-3), годных для производства специфических сопряженных иммуноглобулинов, были приготовлены на выращенных обычным образом телятах, кроликах и морских свинках с применением различных способов аппликации антигена. При переработке в конъюгаты сыворотки приведенных видов животных отличались как у выхода чистого IgG, готового конъюгата, а также молярных F/P отношений, однако их способность визуализировать антигены вируса PI-3 в разбавлении была приблизительно одинакова. Наименьшее содержание антител и наименьший выход чистого IgG имела сыворотка, приготовленная на безмолозивном теленке, причем и красящая способность приготовленного из него конъюгата была ниже.

вирус параинфлюэнцы 3; приготовление иммунных сывороток; конъюгаты; иммунофлуоресценция

ŽUFFA, A. — CHUMCHAL, R. — MENŠÍK, J. (Research Department Bioveta, Nitra; Veterinary Research Institute, Brno): *Immunofluorescence with PI-3 Virus-Preparation and Evaluation of Conjugates from Immune Sera of Different Animal Species*. Vet. Med., Praha, 22, 1977 (10) : 577-588.

Immune sera with a high content of antibodies to para-influenza-3 (PI-3) virus suitable for production of specific conjugated immunoglobulins were prepared on conventionally reared calves, rabbits, and guinea-pigs, applying antigen in different ways. When processing the sera of the above mentioned animal species to conjugates, the sera differed in pure IgG yield, in completed conjugate, and molar F/P ratios, but their ability to demonstrate antigens of the PI-3 virus in the dilution was approximately the same. The serum prepared on a colostrum deprived calf showed the lowest antibody content and the lowest pure IgG yield, the colouring ability of the conjugate prepared being as well somewhat lower.

para-influenza-3 virus; preparation of immune sera; conjugates; immunofluorescence

ŽUFFA, A. — CHUMCHAL, R. — MENŠÍK, J. (Forschungsabteilung Bioveta, Nitra; Forschungsinstitut für Veterinärmedizin, Brno): *Die Immunofluoreszenz mit dem Virus PI-3 — die Herstellung und Auswertung von Konjugaten aus immunen Seren mehrerer Tierarten.* Vet. Med., Praha, 22, 1977 (10) : 577-588.

Die immunen Seren mit hohem Gehalt an Antikörpern gegen das Virus der Parainfluenza 3 (PI-3), geeignet für die Herstellung von spezifischen konjugierten Immunoglobulinen, wurden zubereitet an konventionell aufgezüchteten Kälbern, Kaninchen und Meerschweinchen, mittels unterschiedlichen Applikationsarten des Antigens. Bei der Verarbeitung zu Konjugaten unterschieden sich die Seren der angeführten tierischen Arten bezüglich des Ertrags von reinem IgG, des fertigen Konjugates, sowie der molaren F/P- Verhältnisse; ihre Fähigkeit, das Virus PI-3 in der Verdünnung zu visualisieren war annähernd dieselbe. Den niedrigsten Gehalt der Antikörpern und den niedrigsten Ertrag von reinem IgG wies das Serum, zubereitet an kolostralfreiem Kalb, wobei auch die Farbfähigkeit des aus ihm hergestellten Konjugates, am niedrigsten war.

Virus der Parainfluenza; Herstellung von immunen Seren; Konjugate; Immunofluoreszenz

Adresy autorov:

Doc. MVDr. Aloiz Žuffa, ing. Richard Chumchal, Výskumné stredisko Bioveta, 949 91 Nitra

Doc. MVDr. Jaromír Menšík, CSc., Výzkumný ústav veterinárního lékařství, Hudcova 70, 621 32 Brno - Medlánky

FORSSMANOV HETEROGÉNNY ANTIGÉN A JEHO DŮKAZ VO SVALOVINE OVIEC

Š. Izák, K. Hrušovská

IZÁK, Š. — HRUŠOVSKÁ, K. (Vysoká škola veterinárska, Košice): *Forssmanov heterogénny antigén a jeho dôkaz vo svalovine oviec*. Vet. Med., Praha, 22, 1977 (10) : 589-592.

Hyperimunizáciou králikov viacnásobným vpravením emulzie morčacích obličiek i. v. v priebehu 36 dní sme vyrobili Forssmanovo antisérum, ktorého titer zo skupiny použitých králikov sa pohyboval v rozmedzí 1:1600 až 1:3200. Antisérum bolo použité na dôkaz Forssmanovho antigénu. Na základe Sachs-Georgiho reakcie sme zistili prítomnosť Forssmanovho heterogénneho antigénu vo všetkých vzorkách mäsa odobratých z rozličných partií odporazených oviec. Z našich pokusov vyplýva, na rozdiel od údajov Tanaku, že Forssmanov antigén je zastúpený aj v iných zložkách svaloviny, nielen v pojivovom tkanive.

hyperimunizácia; morčacie obličky; antisérum

Z dosiaľ známych heterogénnych antigénov je najviac preskúmaný Forssmanov antigén. Forssman roku 1911 objavil hemolýzín pre baranie krvinky, ktorý vznikol ako protilátka pri imunizácii králika najrôznorodejšími antigénmi a ktorý reagoval nielen s homológnyimi orgánmi, ale aj s heterológnyimi ovčimi erytrocytmami.

Na základe Forssmanovho heterogénneho antigénu rozdeľujeme zvieratá do dvoch skupín, a to do tzv. skupiny morčacej, u ktorej sa Forssmanov heterogénny antigén nachádza, a do skupiny kráľickej, kde Forssmanov antigén nebol zistený. Z jatočných zvierat patrí do prvej skupiny napr. kôň, ovca, koza a do druhej hovädzí dobytok a ošípaná. Tohoto sa v praxi využíva pri identifikácii (z hľadiska skupinovej príslušnosti) aj dokonale rozmiešanej a technologickým spracovaním hodne pozmenenej svaloviny. Zvláštnosťou tohoto antigénu je predovšetkým to, že sa neníči ani vysokými teplotami. Podľa Doerra a Picka (1948) vydrží až osemhodinový var.

Prítomnosť Forssmanovho antigénu sa zisťuje tak, že skúmaný materiál zmiešame s Forssmanovým antisérom. Prítomný Forssmanov antigén fixuje všetky hemolýziny antiséra. Ak potom pridáme ovčie červené krvinky a komplement, nastane útlm hemolýzy. Ak Forssmanov antigén v skúmanom materiáli chýba, zakotvia všetky hemolýziny antiséra na erytrocytoch a vzniká hemolýza.

V tejto práci bolo našou úlohou dokázať pomocou nami vyrobeného špecifického antiséra prítomnosť Forssmanovho antigénu vo svalovine oviec. Nie je nám známe, že by sa u nás bol niekto podobnou problematikou u oviec zaoberal.

MATERIÁL A METÓDA

Práca pozostávala z dvoch úsekov — za prvé to bola príprava Forssmanovho antiséra, za druhé vlastné pokusy na dôkaz Forssmanovho heterogénneho antigénu v študovanom materiáli.

I. Na výrobu Forssmanovho antiséra sme použili morčacie obličky. Za sterilných kautel sme odobrali od silných zdravých morčiat obličky, ktoré sme po pridaní 3 až 5násobného množstva fyziologického roztoku rozotreli v tretej miske. Takto získanú emulziu sme sterilne prefiltrovali cez vatový filter a potom sme ju vstrekovali dospelým králikom do ušnej vény. Čo do množstva sme naraz aplikovali 0,8 až 1,5 ml tejto emulzie. Postupovali sme pritom nanajvýš opatrne a veľmi pomaly. V ojedinelých prípadoch, keď sa objavili príznaky anafylaxie, použili sme ešte nižšie dávky. Dávky emulzie sme u každého králika aplikovali 5 až 6krát v štvordňových intervaloch. Približne za 14 dní po poslednej injekcii sme králiky sterilne vykrevili. Z krvi získané sérum sme potom bez akýchkoľvek konzervačných prímiesí držali v chladničke až do jeho použitia.

Sérum od každého králika sme titrovali takto: Fyziologickým roztokom zriedené sérum v pomere 1 : 50 sme inaktivovali 1/2 hodiny pri teplote 56 °C a napipetovali do radu aglutinačných skúmaviek v množstve 1 ml v rozličných zriedeniach (1 : 50, 1 : 100, 1 : 200 až 1 : 6400). Potom sme k nemu pridali 0,5 ml 5% suspenzie červených ovčích krviniek, k tomu po 10minútovej senzibilizácii ešte 0,5 ml 10% komplementu. Po dvojhodinovom uložení v termostate pri teplote 37 °C mala hemolýza určité zriedenie, ktoré udávalo titer antiséra. Titer našich antisér sa pohyboval medzi 1 : 1600 až 1 : 3200.

Komplement sme si vždy čerstvo pripravili zo sterilne odobratej morčacej krvi.

II. Vlastný pokus: Forssmanov heterogénny antigén sme zisťovali Sachs-Georgiho reakciou pomocou vyrobeného antiséra tak, že sme skúšaný materiál najprv varili 1 hodinu, aby sa vylúčili nešpecifické reakcie. Na 3 g vysušeného a rozdrveného materiálu sme pridali 12,5 ml Forssmanovho inaktivovaného séra, zriedeného fyziologickým roztokom 1 : 50. Po hodinovom prechovávaní v termostate pri teplote 37 °C sme obsah baniek prefiltrovali. Získaný filtrát sme plnili do aglutinačných skúmaviek v množstve 0,25 ml, k tomu sme pridali 0,75 ml fyziologického roztoku a 0,5 ml suspenzie ovčích erytrocytov. Po 10 minútach senzibilizácie erytrocytov sme konečne pridali 0,5 ml 10% komplementu. Potom sme skúmavky vložili do termostatu na dve hodiny pri teplote 37 °C. Po dvoch hodinách sme výsledok prvýkrát posúdili a po ich ďalšom 24hodinovom prechovávaní pri teplote laboratória bola reakcia hodnotená s konečnou platnosťou.

V pozitívnom prípade sa prítomnosť Forssmanovho antigénu prejaví útlmom hemolýzy, negatívny nález hemolýzou.

VÝSLEDKY A DISKUSIA

U všetkých vzoriek mäsa, odobratých z rozličných miest od šiestich odporazených oviec, sme zistili po Sachs-Georgiho reakcii útlm hemolýzy. Svedčí to o prítomnosti Forssmanovho heterogénneho antigénu v skúšanom materiáli, ovšem za predpokladu, že boli vylúčené nešpecifické reakcie príslušnými kontrolami.

Využitie vlastnosti Forssmanovho antigénu a Farssmanovho antiséra pre praktické účely v potravinárstve je známe. Tak Sachs a Georgi (1916) rozlišovali takto mäso a iné orgány skupiny morčacej od skupiny králičej, a to aj v prípadoch, keď tepelná denaturácia skúšaného materiálu znemožnila použitie precipitácie a väzby komplementu alebo alergickej reakcie na presné určenie druhu. Podobne Bauer (1917) sa zaoberal dôkazom konského mäsa v uvarenej svalovine a saláme. U nás Křivinka a Medek (1936) na tomto podklade vyšetřovali salám. Rozsiahlu prácu publikoval Izák (1954) o využití Sachs-Georgiho reakcie pri vyšetřovaní mäsa a kože po ich technologickom ovplyv-

není. Okrem rozličných druhov salámu a konzerv zistoval prítomnosť Forssmanovho antigénu aj v konských kožiach vo všetkých fázach ich garbiarskeho spracovania.

My sme v tejto práci sledovali ešte aj ďalší zámer. Pomýšľali sme využiť Sachs-Georgiho reakciu po príslušnej modifikácii ako novú metódu na stanovenie biologickej hodnoty ovčieho mäsa. Kvalita ovčieho mäsa sa zatiaľ hodnotí prakticky iba subjektívne, hlavne adspekciou, i keď práve u tohoto mäsa sme si vedomí, že býva hodne nevyrovnané. Preto by jednoduchá, objektívna metóda na stanovenie biologickej hodnoty bola veľkým prínosom pri hodnotení tohoto perspektívneho mäsa. Impulzom nám bol literárny údaj Juliusa a Vriesa z r. 1958, ktorí citujú Tanaku, podľa ktorého sa Forssmanov antigén v rozličných orgánoch a mäse u Forssman-pozitívnych zvierat nachádza v pojivovom tkanive a nie v parenchýme. Keďže je zastúpenie pojivového tkaniva v mäse rozhodujúcim ukazovateľom jeho biologickej hodnoty, bolo by kvantitatívne stanovenie Forssmanovho antigénu vo vzorkách mäsa modifikovanou zriedovacou metódou odrazom obsahu menejhodnotných bielkovín v príslušnej svalovine. Naše pokusy však nepotvrdili citovaný údaj o zastúpení Forssmanovho antigénu; naopak, z pokusov vyplynul záver, že tento antigén je zastúpený aj v iných zložkách tkanív. Postupným zriedovaním ovčieho mäsa s bohatým a tiež chudobným zastúpením pojivového tkaniva sme nezistili rozdiely medzi týmito dvoma skupinami (tab. I).

I. Dôkaz Forssmanovho antigénu vo svalovine oviec s rozdielnym zastúpením pojivového tkaniva — Demonstration of the Forssman's antigen in sheep muscle tissue with different proportion of the connective tissue

Zriedenie Forssmanovho antiséra 1 : 200	Svaly bohaté na pojivové tkanivo (<i>m. flexor carpi rad.</i>)			Svaly chudobné na pojivové tkanivo (<i>m. gluteus medius</i>)	
Vzorka č.	1	2	3	4	5
Ovčie mäso — 100 %	+	+	+	+	+
Ovčie mäso 10 % + hovädzie mäso 90 %	+	+	+	+	+
Ovčie mäso 5 % + hovädzie mäso 95 %	+	—	±	±	±
Ovčie mäso 3 % + hovädzie mäso 97 %	—	—	—	—	—

Literatúra

- BAUER, J.: Die Pferdefleischnachweis in gekochtem Fleisch und Wurstwaren nach Sach-Georgi. Z. f. Fl. u. Milchhyg., 27, 1917, s. 97-101.
 FORSSMAN, F. J.: Biochem. Z. 37, 1911, s. 115-118. Cit.: IZÁK, Š.: Forssmanov antigén a jeho dôkaz v technologicky spracovanom mäse. Vet. časopis, 1954, s. 45-54.
 IZÁK, Š.: Forssmanov antigén a jeho dôkaz v technologicky spracovanom mäse. Vet. časopis, 3, 1954, s. 45-54.
 JULIUS, H. W. — VRIES, P. J.: Forssman's antigen in Ehrlich mouse carcinoma. Nature, 182, 1958, s. 1165.
 KRIVINKA, J. — MEDEK, T.: Forssmanův heterogenní antigén. Zvěrol. obz., 18, 1936.

SACHS, H. — GEORGI, F.: Die Verwertbarkeit der Ambozeptorbindung durch koktostabile Rezeptoren zur Erkennung von Fleischarten. Z. f. Immunitätsforsch., 21, 1916, s. 342-348.

Došlo dňa 16. 9. 1976

ИЗАК, Ш. — ГРУШОВСКА, К. (Ветеринарный институт, Кошице): Гетерогенный антиген Форссмана и его доказательство в мышечной ткани овец. Vet. Med., Praha, 22, 1977 (10): 589-592.

Гипериммунизацией кроликов путем многократного внутривенного введения эмульсии почек морских свинок на протяжении 36 дней мы приготовили антисыворотку Форссмана, титр которой из группы примененных кроликов колебался в пределах 1:1600—1:3200. Антисыворотка была применена для доказательства антигена Форссмана. На основе реакции Сакс-Георги мы установили наличие гетерогенного антигена во всех пробах мяса, взятых из различных партий забитых овец. Из наших опытов очевидно, что — в противоречие данными Танака — антиген Форссмана содержится и в иных компонентах мускулатуры, не только в соединительной ткани.

гипериммунизация; почки морских свинок; антисыворотка

IZÁK, Š. — HRUŠOVSKÁ, K. (University of Veterinary Medicine, Košice): *The Forssman's Heterogenous Antigen and its Demonstration in Sheep Muscle Tissue*. Vet. Med., Praha, 22, 1977 (10): 589-592.

Preparation of Forssman's antiserum by means of hyperimmunization of rabbits with multiple injection of guinea-pig kidney emulsion i. v. in the course of 36 days is presented in the paper. The titre of the antiserum of rabbits utilized varied in the range between 1:1600 and 1:3200, using the antiserum to prove Forssman's antigen. On the basis of the Sachs-Georgi reaction, the presence of the Forssman's heterogenous antigen was recorded in all samples of meat collected from different parts of the slaughtered ewes. The experiments resulted, unlike the statement of Tanaka, in proving the incidence of the Forssman's antigen in many parts of the muscle tissue, not only in the connective tissue.

hyperimmunization; guinea-pig kidney; antiserum

IZÁK, Š. — HRUŠOVSKÁ, K. (Veterinärmedizinische Hochschule, Košice.): *Das heterogene Antigen von Forssman und dessen Nachweis im Muskelfleisch der Schafe*. Vet. Med., Praha, 22, 1977 (10): 589-592.

Durch die Hyperimmunisierung der Kaninchen durch mehrfaches Einbringen einer Emulsion von Nieren der Meerschweinchen i. v. während der Dauer von 36 Tagen, erzeugten wir Forssman's Antiserum, dessen Titer von der Gruppe der verwendeten Kaninchen sich innerhalb der Grenze von 1:1600 bis 1:3200 bewegte. Man verwendete das Antiserum, um das Forsman's Antigen nachzuweisen. Aufgrund des Sachs-Georgi-Reaktion konnten wir die Anwesenheit des Forssman's heterogenem Antigen in sämtlichen Proben des Fleisches — entnommen von verschiedenen Partien der geschlachteten Schafe — nachweisen. Aus unseren Versuchen geht hervor, zum Unterschied von den Angaben von Tanaka, daß das Forssman's Antigen auch in anderen Muskelfleischkomponenten, nicht nur im Bindegewebe, enthalten ist.

Hyperimmunisierung; Nieren der Meerschweinchen; Antiserum

Adresy autorov:

Doc. MVDr. Štefan Izák, CSc., Klára Hrušovská, CSc., Vysoká škola veterinárna, Komenského 73, 041 81 Košice

ACIDOBÁZICKÉ UKAZOVATELE KRVÍ A MOZGOMIEŠNEHO LIKVORU OVIEC

M. Chyla, L. Vrzgula

CHYLA, M. — VRZGULA, L. (Vysoká škola veterinárska, Košice): *Acidobázické ukazovatele krvi a mozgomiešneho likvoru oviec*. Vet. Med., Praha, 22, 1977 (10) : 593-598.

Boli určované acidobázické indexy krvi a mozgomiešneho likvoru Astrupovým prístrojom (Blood Microsystem BMS 2) u klinicky zdravých jednoročných (15 kusov) a dvoj- až trojročných (41 kusov) oviec plemena merino. Anaerobne odobratá krv z. v. *jugularis* a likvor subokcipitálnou punkciou do heparinizovaných striekačiek, resp. kapilár, boli vyšetrené hneď po odbere. Boli získané a tiež podľa nomogramov prepočítané tieto indexy: aktuálne pH, parciálny tlak kyslíčnika uhličitého — $p\text{CO}_2$, prebytok báz — BE, pufer báz — BB, štandardný bikarbonát — SB, aktuálny bikarbonát — AB a celkový kyslíčnik uhčitý — $t\text{CO}_2$ (tab. I, II). Štatisticky významné rozdiely hodnôt v porovnaní likvoru s venóznou krvou vykázali indexy pH, $p\text{CO}_2$, BE a BB, a to viac u vekovo mladšej skupiny oviec. Keďže sa hodnoty sledovaných indexov v mozgomiešnom likvore oviec v literatúre nenachádzajú, je možné zistené odporučiť ako základné fyziologické hodnoty pre danú vekovú skupinu.

ovce jednorôčné, dvoj- až trojročné; krv; mozgomiešny likvor; acidobázické indexy; pH; parciálny tlak kyslíčnika uhličitého ($p\text{CO}_2$); prebytok báz (BE); pufer báz (BB); štandardný bikarbonát (SB); aktuálny bikarbonát (AB); celkový kyslíčnik uhčitý ($t\text{CO}_2$)

Rovnováha a stálosť vnútorného prostredia organizmu je komplexný výsledok mnohých dejov pri jeho funkčnej dynamike a niektoré z nich ešte dnes nie je možné poznať či definovať. Udržiavanie dynamickej rovnováhy, ktorá je tiež odlišná v rôznych miestach organizmu pri súčasných technických možnostiach, je väčšinou mimo dosah u presného rozboru a poznania.

Do tohoto komplexu zapadá aj štúdium acidobázickej homeostázy, ktoré vo veterinárnej medicíne malo donedávna svoje medzery; v súčasnosti má už veľký význam pri posúdení vnútorného prostredia organizmu, najmä pri poruchách látkového metabolismu. U hovädzieho dobytku k tejto problematike u nás prioritne prispel Lebeda so svojimi spolupracovníkmi, a to jednak využitím možnosti Siggaard-Andersenových nomogramov pre výpočet acidobázických indexov krvi vo veterinárnej medicíne (Lebeda, Bouda, 1969), ale najmä pri diagnostike acidobázických porúch u hovädzieho dobytku a štúdium mechanizmov ich vzniku (Lebeda, 1971a,b, 1972; Bouda, 1975 ai.).

Literárne údaje zaoberajúce sa štúdiom acidobázickej homeostázy krvi boli u oviec menej rozpracované. Prvé práce, ktoré máme k dispozícii, sú ešte neúplné, riešia danú problematiku nekomplexne a na pomerne malom počte zvierat (Spec-

tor, 1965; Juhász, Szegedi, 1968, 1969; Phillips, 1970). V posledných rokoch prispel kolektív tunajšej katedry k vypracovaniu základných acidobázických indexov krvi oviec jednak podľa rôznych vekových kategórií (Vrzgula ai., 1974; Chyla ai., 1975), jednak podľa ich ročnej dynamiky (Bartko ai., 1975), ako aj podľa závislosti od diéty a zvýšeného prívodu glycidovej záťaže (Bartko ai., 1974, 1975).

Mozgomiešny mok — ako súčasť mimobunečnej tekutiny, teda vnútorného prostredia — je v súčasnosti z aspektu acidobázickej rovnováhy veľmi skromne rozpracovaný. V literatúre nachádzame údaje týkajúce sa niektorých indexov, ako aktuálneho pH (Fedotov, 1974; Soliman ai., 1965), u hovädzieho dobytku porovnávajú Bouda ai., (1973) hodnoty venóznej krvi a mozgomiešneho moku, ovšem u oviec údaje o tejto problematike chýbajú. Preto má byť táto práca príspevkom k základným fyziologickým hodnotám mozgomiešneho likvoru u oviec.

MATERIÁL A METÓDA

Indexy acidobázického stavu krvi a mozgomiešneho likvoru (Sp) sme vyšetrili a porovnali v experimente na tunajšej klinike u klinicky zdravých oviec plemena merino — jednorôčnych jahničiek (15 ks) a dvoj- až trojročné oviec v druhej polovici gravidity (41 ks). Ovce boli kŕmené bežným typom zimnej kŕmnej dávky. Vzorky boli odoberané v ranných hodinách, spravidla tri hodiny po kŕmení. Najprv bola odobraná krv z *vena jugularis* anaerobne do heparinizovaných striekačiek a potom v pravej postrannej polohe zvierata likvor subokcipitálnou punkciou do kapilár výroby Radiometer. Na odber likvoru sme použili punkčnú ihlu podľa Biera pre malé zvierata. Vzorky boli vyšetrené Astrupovým prístrojom (BMS 2) ihneď po odbere. Ekvilibrácia krvi a likvoru zmesou 3,59 a 7,21 % CO₂ bola zaisťovaná miešačom plynov BGMA 1.

Určovali sme aktuálne pH natívnej a ekvilibrovanej krvi a mozgomiešneho moku. Zo Siggaard-Andersenových nomogramov sme odčítali ďalšie indexy: partiálny tlak kyslíčnika uhličitého pCO₂ v kPa, baz excès -BE, pufer báz -BB, štandardný bikarbonát -SB, aktuálny bikarbonát -AB a celkový kyslíčnik uhličitý — tCO₂ v mmol l⁻¹.

Matematicko-štatistické hodnotenie výsledkov sme previedli *t*-testom pre párové hodnoty (Reisenaur, 1965). Hodnoty uvádzame v SI jednotkách, torry na kPa sme prepočítali koeficientom 0,133, mval l⁻¹ na mmol l⁻¹ koeficientom 1.

VÝSLEDKY

Výsledky uvádzame podľa vekových skupín v tab. I a II s udaním indexov v priemerných hodnotách, strednej chyby aritmetického priemeru a krajných hodnôt.

I. Hodnoty acidobázických indexov krvi a mozgomiešneho moku u jednorôčnych oviec — Values of acid-base indices in blood and cerebro-spinal fluid of sheep at the age of one year
n = 15

Hodnoty	pH	pCO ₂ kPa	BE	BB	SB	AB	tCO ₂
			mmol l ⁻¹				
$\bar{x}$	7,40	5,08	-0,5	46,8	24,0	23,6	24,7
Krv $s \pm$	0,07	0,42	1,4	3,1	2,4	2,9	3,1
min.	7,35	4,49	-5,2	42,7	20,3	19,0	20,1
max.	7,47	6,38	+3,9	51,5	27,8	28,2	29,5
$\bar{x}$	7,36	5,38	-2,1	43,3	22,6	22,7	23,9
Likvor $s \pm$	0,03	0,38	2,2	5,1	4,0	3,1	3,2
min.	7,31	4,34	-5,9	34,1	19,5	18,4	19,4
max.	7,45	6,42	+3,3	52,7	27,2	31,1	31,3

Mozgomiešny likvor po odbere predstavoval čiru, priehľadnú, vodnatú a bezfarebnú tekutinu bez sedimentu. V ojedinelých prípadoch, keď po poranení ciev punkčnou ihlou vzniklo zafarbenie Sp prímiesou krvi, sme takéto vzorky nehodnotili. Pri vzájomnom porovnaní hodnôt jednotlivých indexov venóznej krvi a likvoru je z uvedených výsledkov vidieť, že priemerne sú v Sp všetky nižšie, okrem $p\text{CO}_2$ a bikarbonátov u starších oviec.

II. Hodnoty acidobázických indexov krvi a mozgomiešneho moku dvoj- až trojročných oviec — Values of acid-base indices in blood and cerebro-spinal fluid of sheep at the age of two or three years
 $n = 41$

Hodnoty	pH	$p\text{CO}_2$ kPa	BE	BB	SB	AB	$t\text{CO}_2$
			mmol l ⁻¹				
$\bar{x}$	7,37	5,38	-0,66	44,33	23,31	23,34	24,57
Krv $s \pm$	0,03	0,47	3,02	3,34	2,43	2,96	3,06
min.	7,29	3,96	-7,70	38,00	18,00	17,70	18,90
max.	7,45	6,59	+4,00	52,50	28,00	28,50	29,90
$\bar{x}$	7,36	5,50	-1,12	42,35	23,35	23,59	24,85
Likvor $s \pm$	0,02	0,37	2,15	5,06	1,96	2,27	2,63
min.	7,29	3,73	-5,00	36,80	19,80	19,50	21,60
max.	7,49	6,79	+7,60	69,00	25,50	33,80	35,10

Aktuálne pH bolo významne nižšie u jednoročných oviec o 0,41 ($P < 0,05$), kdežto u skupiny dvoj- až trojročných sme zistili rozdiely na hranici významnosti ($P < 0,10$), keď v priemere pH likvoru bolo nižšie len o 0,014.

Parciálny tlak CO_2 ako jediný z indexov vykázal opačné pomery, pretože v oboch vekových skupinách bol vyšší v mozgomiešnom moku u mladších ako u starších oviec. Rozdiel v priemere o 0,30 kPa bol na hranici významnosti, kdežto o 0,12 kPa (ovce dvoj- až trojročné) nebol signifikantný.

Prebytok báz — BE bol vyrovnanejší v individuálnych hodnotách u jednoročných oviec jak v krvi, ako aj v Sp a nižšia priemerná odchýlka v likvore o -1,6 bola vysokovýznamná ($P < 0,025$). Záporné priemerné hodnoty BE sme zisťovali podobne u oviec dvoj- až trojročných signifikantne nižšie v Sp ($P < 0,05$), ale krajné hodnoty u tejto vekovej skupiny viac kolísali.

Nárazníkové bázy — BB u oboch pokusných skupín vykazali nižšiu koncentráciu v likvore oproti venóznej krvi, pričom významný pokles ($P < 0,05$) bol iba u jednoročných oviec.

Ostatné acidobázické indexy — SB, AB a $t\text{CO}_2$ — mali pomerne vyrovnané hodnoty a nezistili sme žiadne štatisticky významné rozdiely.

Výsledky dosiahnuté v tejto práci je možné porovnávať najmä s indexmi acidobázickej homeostázy krvi, nakoľko v literatúre je už v súčasnosti táto problematika pomerne rozsiahla a hlbšie rozoberaná. Hodnoty indexov venózneho krvi, ktoré sme v tomto pokuse zaznamenali, sa zhruba zhodujú s literárnymi údajmi citovanými v úvode. Z tohto dôvodu je potrebné zaujať stanovisko najmä k hodnotám indexov a ich rozdielnosti v mozgomiešnom moku.

Pomerne presná mikroanalýza Astrupovým prístrojom, ktorú sme použili, dáva objektívnu možnosť posúdenia získaných indexov. Hodnoty aktuálneho pH v Sp, ktoré udáva Fedotov (1951) u hovädzieho dobytká (7,4 – 7,6) a u oviec a kôz (7,3 – 7,4), je potrebné upresniť, pretože pH likvoru 7,6 u dobytká je už dnes mimo fyziologickej hranice. Podobne napr. aj pH hodnoty u hovädzieho dobytká od 7,0 do 7,4, získané Solimanom a i. (1965) menej presnými prístrojmi, ťažko dnes akceptovať, najmä ich dolnú hranicu.

Cerebrospinálny mok ako súčasť extracelulárnej tekutiny svojim zložením zodpovedá zhruba plazme zbavenej bielkovín, líši sa však významne koncentraciami jednotlivých kryštaloidných zložiek. Charakteristické rozdiely medzi plazmou a Sp sa ustalujú už počas embryonálneho vývoja. Wright (1970) udáva, že u embrya prasata nie sú do 40. dňa rozdiely v zložení, ale počas ďalších troch dní po vývoji *plexus choriodei* vznikajú. U ľudí zisťuje v likvore vyššiu koncentráciu HCO_3^- o 110 mg na 100 ml, oproti plazme, ktorá obsahuje 1200 mg na 100 ml. Opačné hodnoty sú pri HPO_4^- v plazme 3,0 a v Sp 1,8 mg na 100 ml. Oproti 8,0 g proteínov v krvi mozgomiešny mok obsahuje len stopy, resp. 0,02 g na 100 ml.

Uvedené rozdiely by sa mali podľa očakávania aj rozdielne uplatniť, keď posudzujeme Sp ako kvapalinový nárazník. V našom pokuse sa takto dajú vysvetliť rozdiely aktuálneho pH, ktoré bolo v likvore nižšie, súčasne s vyšším pCO_2 , ktoré bolo dané vyššou koncentráciou HCO_3^- . Podobne aj Schain a O'Brien (1966) udávajú u ľudí nižšie pCO_2 v Sp o 2,0 – 2,9 mEq l^{-1} . Na rozdiel od našich výsledkov zisťuje Bouda a i. (1973) aj keď nie tak zjavný, ale predsa paradoxný pokles pCO_2 v likvore kráv oproti venózneho krvi. Jeho údaje o ďalších acidobázických indexoch mozgomiešneho moku a venózneho krvi u hovädzieho dobytká sa už zhruba zhodujú s našimi výsledkami u oviec. Dôležitosť pufrácie činnosti krvných proteínov se podľa očakávania aj v našom pokuse prejavila najmä v rozdielnych hodnotách pufr. bazu a báz. excusu, ktoré boli vo venózneho krvi vyššie.

Bikarbonátová zložka sa v svojej koncentrácii podľa očakávania nezachovala charakteristicky u oboch pokusných skupín oviec. Jednoročné ovce svojimi pomermi bikarbonátov zodpovedajú približne hodnotám zisteným u hovädzieho dobytká, kdežto výsledky, ktoré sme zistili u starších oviec, zodpovedajú pomerom HCO_3^- udávaným Wrightom (1970) u ľudí.

Celkový CO_2 v plazme a likvore nevykázal nápadné rozdiely, ovšem stanovenie jeho hodnôt v Sp na základe prepočtu Siggaard-Andersenových nomogramov podobne ako v krvi, resp. plazme, poslúži s väčšou presnosťou ako doteraz získavané a udávané hodnoty CO_2 pri alkalickej re-

zerve. Metodika stanovovania alkalickej rezervy už dnes nepostačuje k jej optimálnemu hodnoteniu, keď porovnáme v likvore udávané vol % CO_2 u oviec (49 – 52) s výsledkami udávanými Fedotovom (1970). V prepočte podľa indexov s našimi výsledkami (tCO_2) nám udávaná dolná hranica by znamenala koncentráciu CO_2 svedčiacu o narušení acidobázickej rovnováhy.

Záverom sa teda dá konštatovať, že za normálnych podmienok u klinicky zdravých oviec je potrebné akceptovať rozdiely v hodnotách acidobázických indexov ako medzi venóznou krvou a likvorom, tak aj s prihliadnutím k vekovým kategóriám zvierat. Simultánne sledovanie indexov krvi, likvoru a iných extracelulárnych tekutín, resp. výlučkov, nám dáva možnosť komplexného posúdenia acidobázickej homeostázy. Pri určovaní základných hodnôt indexov Sp sme vychádzali zo simultánneho posúdenia už aj preto, aby bola možnosť vylúčiť prípadnú kompenzovanú acidobázickú poruchu u niektorého zvierata, pri ktorej by samostatne posúdené pomery Sp neboli smerodajné.

Takto získané acidobázické indexy mozgomiešneho likvoru odporúčame ako základné fyziologické hodnoty pre uvedené vekové skupiny oviec, ktoré môžu poslúžiť nielen ako indikátor fyziologického stavu organizmu, ale aj ako faktor pri komplexnom hodnotení metabolických porúch.

Literatúra

- BARTKO, P. – VRZGULA, L. – CHYLA, M. – KOVÁČ, G.: Vplyv zvýšeného prívodu glycidov na acidobázický stav krvi oviec. *Folia vet.*, Košice, 1974, v tlači.
- BARTKO, P. – VRZGULA, L. – CHYLA, M.: Ročná dynamika acidobázických indexov v krvi oviec. *Vet. Med.*, Praha, 20, 1975 č. 1, s. 47–55.
- BARTKO, P. – VRZGULA, L. – SKALKA, J. – CHYLA, M.: Hodnoty acidobázických indexov v krvi jahniat – brojlerov odchovaných mliekárensky upraveným mliekom a pevnými zmesami. *Folia vet.* 1976, v tlači.
- BOUDA, J. – ILLEK, J. – LEBEDA, M. – BEGOVIČ, I.: Several Biochemical Values in Cerebrospinal Fluid of Cattle. *Acta vet.*, Brno, 42, 1973, s. 135–139.
- BOUDA, J.: Studium mechanismů acidobázických poruch u skotu a jejich význam v diagnostice. [Kandidátská disertační práce.] Brno, 1975.
- FEDOTOV, A. I.: Fiziko-chemičeskije a biologičeskije svojstva cerebrospinalnoj židkosti krupnogo rogatogo skota. *Veterinarija*, 24, 1974, s. 19–20.
- FEDOTOV, A. I.: Veterinarnaja likvorologija. *Seľchozgis*, Moskva 1951.
- CHYLA, M. – VRZGULA, L. – BARTKO, P. – MICHNA, A.: Hodnoty indexov acidobázickej homeostázy krvi jahniat pri tradičnom spôsobe odchovu. *Živočišná Výroba*, 20, 1975, č. 12, s. 925–931.
- JUHÁSZ, B. – SZEGEDI, B.: Untersuchungen über die Ätiologie der Pansenazidose der Wiederkäuer. *Arch. exp. Vet. Med.*, 22, 1968, s. 969–993.
- JUHÁSZ, B. – SZEGEDI, B.: Experimentelle Untersuchungen über Regulierungsmechanismus des Säure-Basens-Gleichgewichts bei Schafen. *Acta vet. hung.*, 1969, s. 61–69.
- LEBEDA, M.: Acidobázická fyziologie a patofyziologie hospodárskych zvierat se základny detekce a terapie. *Pardubice*, 1971a.
- LEBEDA, M.: K problémům diagnostiky a hodnocení acidobázických disbalancí v současných podmínkách veterinárních laboratorí. *Veterinářství*, 21, 1971b, s. 266–268.
- LEBEDA, M.: Normální acidobázické hodnoty venózní krve krav a hodnocení stupně kompenzace metabolické poruchy. *Veterinářství*, 22, 1972, s. 454–456.
- LEBEDA, M. – BOUDA, J.: Použitelnosti Siggaard-Andersenova nomogramu pro venózní krev skotu. *Vet. Med.*, Praha, č. 1, s. 75–80.
- PHILLIPS, G. D.: Plasma standard bicarbonate and chloride concentration in cattle and sheep. *Br. vet. J.*, 126, 1970, s. 409–419.
- REISENAUR, R.: Metody matematické statistiky a jejich aplikace. *SNTL-Práce*, Praha 1965.
- SCHAIN, R. J. – O'BRIEN, K.: Acid base relationships of cerebrospinal fluid and blood in children. *Clinica chim. Acta*, 13, 1965, s. 200–206.

SOLIMAN, M. K. — AMROUSI, S. E. — BOTROS, Y. L.: Some studies on the cerebrospinal fluid of healthy cattle. Zentbl. VetMed., A., 12, 165, s. 769-778.
SPECTOR, W.: Handbook of biological data. Philadelphia and London 1956.
VRZGULA, L. — BARTKO, P. — CHYLA, M.: Hodnoty acidobázických indexov u oviec. Vet. Med. Praha, 19, 1974, č. 2-3, s. 105-112.
WRIGHT, S.: Klinická fyziologie. Avicenum, Praha 1970.

Došlo dňa 9. 2. 1977

ХИЛА, М. — ВРЗГУЛА, Л. (Ветеринарный институт, Кошице): Кислотнощелочные показатели крови и спинномозговой жидкости овец. Vet. Med., Praha, 22, 1977 (10): (10): 593-598.

Определялись кислотнощелочные индексы крови и спинномозговой жидкости прибором Аструпа (Blood Microsystem BMS 2) у клинически здоровых овец породы меринос однолетнего (15 голов) и двух-трехлетнего возраста (41 голова). Анаэробно взятая кровь из яремной вены и спинномозговая жидкость, взятая подзатылочной пункцией в гепаринизированные шприцы или капилляры, были подвержены обследованию тотчас же после взятия. Были получены и по номограммам вычислены следующие индексы: фактическое pH, парциальное давление углекислого газа pCO_2 , избыток оснований — BE, буфер оснований — BB, стандартный бикарбонат — SB, фактический бикарбонат — AB и общий углекислый газ — tCO_2 (табл. I, II). Статистически значимые различия величин при сравнении спинномозговой жидкости венозной кровью имели индексы pH, pCO_2 , BE и BB, причем в большей мере у групп овец младшего возраста. Поскольку значения изучаемых индексов в спинномозговой жидкости в литературе отсутствуют, можно установленные данные рекомендовать в качестве основных величин для данной возрастной группы.

овцы однолетние, двух- и трехлетние; кровь; спинномозговая жидкость; кислотнощелочные индексы; pH; парциальное давление углекислого газа (pCO_2); избыток оснований (BE); буфер оснований (BB); стандартный бикарбонат (SB); фактический бикарбонат (A); общий углекислый газ (tCO_2)

CHYLA, M. — VRZGULA, L. (University of Veterinary Medicine, Košice): *Acid-Base Indices in Sheep Blood and Cerebro-Spinal Fluid*. Vet. Med., Praha, 22, 1977 (10): 593-598.

By means of the Astrup apparatus (Blood Microsystem BMS 2) acid-base indices in blood and cerebro-spinal fluid of clinically healthy Merino sheep at the age of one year (15 head) and of two or three years (41 head) were determined. Blood collected anaerobically from *v. jugularis* and liquor collected by means of the suboccipital puncture in heparinized syringes and/or capillaries were examined immediately after the collection. Following indices were obtained and re-counted according to nomograms: actual pH, partial CO_2 pressure — pCO_2 , base excess — BE, base buffer — BB, standard bicarbonate — SB, actual bicarbonate — AB, total CO_2 — tCO_2 (Tables I, II). Indices of pH, pCO_2 , BE and BB indicated statistically significant differences in values when comparing liquor with venous blood (in younger ewes). As the values of the sheep cerebro-spinal fluid indices examined are not to be found in literature, the above stated values can be recommended to be used as basic values for a given age group.

sheep at the age of one year, of two or three years; blood; cerebro-spinal fluid; acid-base indices; pH; partial CO_2 pressure (pCO_2); base excess (BE); base buffer (BE); standard bicarbonate (SB); actual bicarbonate (AB); total CO_2 (tCO_2)

Adresy autorov:

MVDr. Michal Chyla, CSc., prof. MVDr. Leopold Vrzgula, CSc., Vysoká škola veterinárská, Komenského 73, 041 81 Košice.

PREŽIVATELNOSŤ SPERMIÍ BARANA PRI POUŽITÍ RÔZNYCH DRUHOV RIEDIDIEL PO HLBOKOM ZMRAZENÍ V TEKUTOM DUSÍKU

P. Mesároš, P. Gamčík, F. Schvarc

MESÁROŠ, P. — GAMČÍK, P. — SCHVARC, F. (Vysoká škola veterinárska, Košice): *Preživateľnosť spermií barana pri použití rôznych druhov riedidiel po hlbokom zmrazení v tekutom dusíku*. Vet. Med., Praha, 22, 1977 (10) : 599-604. V práci sa hodnotila vhodnosť troch riedidiel pre hlboké zmrazovanie ejakulátov baranov. Sledovala sa preživateľnosť spermií po rozmrazení a v priebehu šesťhodinovej inkubácie. Zistilo sa, že najlepšia preživateľnosť bola pri použití riedidla s obsahom Tris, fruktózy a kyseliny citrónovej, a to 49,2 % po rozmrazení a po šiestich hodinách 20,7 %. Diskutuje sa aj o vplyve rozmrazovacieho postupu na motilitu spermií. Ako najlepšie sa ukázalo rýchle rozmrazenie, bez použitia rozpúšťadla. Uvedené výsledky majú len orientačný charakter, pretože vhodnosť riedidla potvrdí plodnosť inseminovaných oviec.

hlboké zmrazovanie semena; alumíniová fólia; riedidlo; posúdenie preživateľnosti; baran

Problematikou konzervácie baranieho semena sa najmä v zahraničí zaoberá mnoho autorov, ktorí hlboké zmrazovanie jednoznačne považujú za veľmi perspektívne. V pomerne krátkom čase sa odskúšalo mnoho riedidiel rôzneho zloženia.

Blackshaw (1960) študoval účinok mliečnych riedidiel na životaschopnosť semena barana a jeho preživateľnosť po rozmrazení. Podobne aj Sahní a Roy (1972) používali zahriate kravské mlieko ako riedidlo pri hlbokom zmrazovaní baranieho semena. Další autori (Kalev a i., 1970; Salamon, Lightfoot, 1969; Nauk, Ljansberg, 1971; Varnavskij, Turbin, 1974; Colas, 1975 a iní) používali pre tento účel riedidlá s obsahom špecificky účinných látok, zabráňujúcich narušeniu membrány akrozómu. Lightfoot, Salamon (1969), Koutsouris, Vaupel (1973) a iní venovali značnú pozornosť metódam a stupňu riedenia, koncentracii glycerínu a postupom schladzovania pred zmrazením baranieho semena.

MATERIÁL A METÓDA

V práci sme sledovali účinok troch riedidiel nasledujúceho zloženia na preživateľnosť spermií baranov po hlbokom zmrazení v tekutom dusíku:

riedidlo č. 1 (Koutsouris, Vaupel, 1973)

podiel A:

Tris-aminometán	3,02 g
fruktóza	1,15 g
kyselina citrónová	1,73 g
redestilovaná voda <i>ad</i>	100,00 ml
vaječný žltok	25,00 ml

podiel B:

Tris-aminometán	3,02 g
fruktóza	1,15 g
kyselina citrónová	1,73 g
glycerín	15,00 ml
redestilovaná voda <i>ad</i>	100,00 ml
vaječný žltok	25,00 ml

riedidlo č. 2 (Platov, 1965)

laktóza	12,00 g
redestilovaná voda	100,00 ml
vaječný žltok	20,00 ml
glycerín	4,00 g

riedidlo č. 3 (Varnavskij, 1974 — nami modifikované)

rafinóza 13 %	38 %
laktóza 13 %	38 %
vaječný žltok	20 %
glycerín	4 %

Ako vidieť, jednotlivé riedidlá sa navzájom odlišovali v obsahu cukrov. Konštantnými zložkami riedidiel boli vaječný žltok a glycerín.

Semenom sme získavali od pokusných baranov plemena merino dvoj- až trojročných, pravidelne dvakrát týždenne. Pri odbere sme používali skrátenú umelú vagínu a sberač na jednorázové použitie. Hneď po odbere sme vykonali makroskopické a mikroskopické vyšetrenie. Na ďalšie spracovanie sme používali len tie ejakuláty, ktoré vyhovovali požiadavkám kladeným na čerstvé baranie semeno. Semeno sme riedili jednorázovo v konštantnom pomere 1 : 4 pri teplote 30 °C. Takto zriedené semeno sme v priebehu 1,5 hodiny ochladili na 4 °C. Pri tejto teplote sme ho nechali v chladničke dve hodiny (doba ekvibrácie). Po uplynutí tejto doby sme opätovne posúdili pohyblivosť zriedeného semena a pri pozitívnom výsledku zmrazovali do peliet v objeme 0,1 ml rýchlou metódou na alumíniovej fólii, umiestnenej v parách tekutého dusíka. V tomto prostredí sme nechali pelety 7 minút. Potom sme ich uskladňovali v tekutom dusíku. Pelety sme rozmrazovali v 0,2 ml 3,1 % roztoku citrátu sodného ponorené v skúmavke do vodného kúpeľa pri teplote 38 °C, alebo tak, že sme tri pelety vložili do skúmavky, ktorú sme na 8 sekúnd ponorili do vody 60 až 70 °C teplej. Prežiteľnosť spermií sme sledovali počas šiestich hodín inkubácie. Výsledky sme vyhodnotili matematicko-štatisticky.

VÝSLEDKY

Celkove sme spracovali a vyhodnotili 20 vzoriek semena v každej skupine. Výsledky prežiteľnosti spermií po rozmrazení sme zisťovali odhadom a uvádzali sme ich v priemerných hodnotách (tab. I).

Najlepšiu prežiteľnosť v priebehu šiestich hodín inkubácie po rozmrazení peliet v citráte sodnom sme zistili pri použití riedidla č. 2. Pri tomto riedidle bola pohyblivosť spermií po rozmrazení 45,5 %, po dvoch hodinách inkubácie 25,5 %, po štyroch hodinách inkubácie 14,7 %, po šiestich hodinách inkubácie 8,5 %. Pri rozmrazení peliet bez použitia citrátu sodného sme najlepšiu prežiteľnosť zistili v riedidle č. 1. Po rozmrazení bola pohyblivosť spermií 49,2 %, dve hodiny po rozmrazení

I. Pohyblivosť spermií po rozmrazení v percentách — Motility of spermatozoa after de-freezing (in per cent)

Čas inkubácie	Použité riedidlo					
	1		2		3	
	použitý spôsob rozmrazovania					
	v citráte sodnom	bez citrátu sodného	v citráte sodnom	bez citrátu sodného	v citráte sodnom	bez citrátu sodného
Hneď po rozmrazení	32,85 ±2,65	49,28 ±5,19	45,50 ±3,42	44,50 ±4,89	9,50 ±2,19	19,00 ±4,33
2 hod.	21,42 ±2,89	39,28 ±4,67	25,50 ±5,31	33,85 ±5,31	6,50 ±1,55	10,50 ±2,71
4 hod.	13,57 ±2,55	30,71 ±3,60	14,75 ±6,68	23,25 ±6,68	3,50 ±1,00	6,00 ±1,15
6 hod.	7,85 ±1,71	20,71 ±2,99	8,50 ±5,75	13,75 ±5,75	1,00 ±0,94	3,50 ±1,00

39,2 %, štyri hodiny po rozmrazení 30,7 % a šesť hodín po rozmrazení 20,7 %.

Najnižšie percento pohyblivých spermií pri oboch spôsoboch rozmrazovania (s citrátom a bez citrátu sodného) sme zaznamenali pri použití riedidla č. 3, ako to vyplýva z tab. I.

Porovnávaním používaných metód rozmrazovania sme podstatne lepšie výsledky zistili pri rozmrazovaní peliet v ohrievaných skúmavkách, bez riediaceho roztoku. Z tab. I vidieť, že pri použití tejto metódy rozmrazovania je vyššie percento pohyblivých spermií pri všetkých skúšaných riedidlách v priebehu celého obdobia inkubácie. Porovnávaním percenta pohyblivosti spermií vo všetkých troch používaných riedidlách hneď po

II. Štatistická preukaznosť prežívateľnosti spermií v jednotlivých riedidlách — Statistical significance of sperm survival with individual diluents

Použité riedidlo		t-test			
		po rozmrazení	2 hod.	4 hod.	6 hod.
1—2	C	2,56	0,23	2,74	2,70
	B	0,49	0,61	1,02	1,13
1—3	C	5,97	6,82	4,80	3,99
	B	4,58	5,25	4,32	3,47

Vysvetlivky: C — rozmrazené v citráte sodnom
B — rozmrazené bez citrátu sodného

rozmrazení sme zistili relatívne najvyššie hodnoty pri riedidle č. 2, pri ktorom sme pozorovali takmer nepatrné rozdiely v pohyblivosti pri použití citrátu sodného a bez jeho použitia. Najvyššiu pohyblivosť hneď po rozmrazení sme ovšem zistili pri riedidle č. 1 bez použitia citrátu sodného pri rozmrazovaní.

Hodnotením výsledkov *t*-testom sme zistili, že pri porovnávaní riedidla č. 1 s č. 2 pri rozmrazovaní v citráte sodnom bolo hneď po rozmrazení $P < 0,02$. Po dvoch hodinách inkubácie sme nezistili štatistickú významnosť a po uplynutí štyroch až šiestich hodín je $P < 0,01$. Pri rozmrazovacím postupe bez citrátu sodného sme nezistili štatistickú významnosť.

Porovnávaním riedidiel č. 1 a č. 3 počas celej inkubácie a pri oboch rozmrazovacích postupoch sme zistili vysokú štatistickú významnosť — $P < 0,001$ (tab. II).

DISKUSIA

Na prežiteľnosť spermií pri hlbokom zmrazovaní vplýva mnoho faktorov. Jednou z najdôležitejších zásad pri konzervácii semena je vytvorenie takého prostredia pre spermie, ktoré sa najviac približuje prirodzeným podmienkam vytvoreným semennou plazmou. V našej práci sme sa zamerali na preskúšanie niektorých riedidiel, ktoré sa používajú pri hlbokom zmrazovaní semena barana.

Výsledky, ktoré sme zaznamenali pri použití riedidla obsahujúceho laktózu, sú v súlade s výsledkami, ktoré zistil Platon (1965) pri používaní toho istého riedidla. Lightfoot a Salamon (1969) zistili pri použití riedidla podobného zloženia a pri rovnakom postupe zmrazovania v priebehu inkubácie 30,1 %; 20,3 %; 19,0 %; 16,7 % pohyblivých spermií, čo súhlasí s našimi výsledkami (tab. I).

Andersen a Aamdal (1972) používali rôzne riedidlá pri hlbokom zmrazovaní baranieho semena. Najlepšie výsledky v pohyblivosti spermií po rozmrazení zistili pri použití riedidla, ktoré obsahovalo 11 % laktózu. Podobné výsledky sme zo škály používaných riedidiel zaznamenali aj my.

Pri použití riedidla Tris sa naše výsledky zhodujú s výsledkami, ktoré uvádzajú Koutsouris a Vaupel (1973). Uvedení autori používali riedidlá toho istého zloženia a podobný postup pri zmrazovaní a rozmrazovaní peliet. Aj Andersen a i. (1973) používali riedidlo toho istého zloženia na hlboké zmrazovanie baranieho semena. Uvedení autori nehodnotia prežiteľnosť, ale plodnosť oviec po inseminácii, ktorá predstavovala 57 %.

Lightfoot a Salamon (1969) zistili v podstate vyššiu prežiteľnosť spermií po rozmrazení v porovnaní s našimi výsledkami pri použití riedidla obsahujúceho rafinózu a laktózu. Varnavskij a Turbin (1974) používali na hlboké zmrazovanie semena baranov riedidlo podobného zloženia. Po inseminácii takto spracovaným semenom dosiahli 43 % plodnosť oviec.

Pri skúšaní metód zmrazovania sme zistili lepšie výsledky bez použitia rozmrazovacieho roztoku. Lightfoot a Salamon (1969) zaznamenali podobné výsledky len v tých prípadoch, keď pred zmrazovaním riedili semeno 1:16 a toto rozmrazovali pri teplote 37 °C. Pri nižšom po-

mere riedenia a pri tej istej teplote rozmrazovania zaznamenali autori horšie výsledky.

Nami zistené výsledky nepotvrdzujú potrebu tak vysokého riedenia. Podobné výsledky uvádzajú Andersen a Aamdal (1972), ktorí ejakulát riedili v pomere 1:4 alebo 1:6 a pelety rozmrazovali pri teplote 75 °C. Títo autori však prisudzujú značný význam práve teplote, pri ktorej sa pelety rozmrazujú. Zastávajú názor, že pomalé rozmrazovanie (pri teplote 35 °C) môže mať nepriaznivý vplyv na spermie baranov. Túto teplotu používali Lightfoot a Salamon (1969). Oproti predošlým názorom Plátov (1965) nezistil podstatné rozdiely medzi rozmrazovaním peliet v rozmrazovacom roztoku alebo v suchej skúmavke.

Uvedené výsledky poukazujú na potrebu ďalšieho štúdia vlastností riedidiel ejakulátu barana a hlavne rozmrazovacích postupov i so zreteľom na použitú teplotu. Podľa literárnych údajov pri skúšaných riedidlách podobného zloženia sa ako kritérium vhodnosti používala len motilita spermií (Plátov, 1965; Lightfoot a Salamon, 1969; Andersen a Aamdal, 1972; Koutsouris a Vaupel, 1973) a v dvoch prípadoch sa hodnotila aj plodnosť (Andersen a i., 1973; Varnavskij a Turbin, 1974), ktorá objektívnejšie hodnotí použité riedidlo. Správnosť výberu riedidla i v našom pokuse ukáže v konečnom dôsledku plodnosť oviec.

Literatúra

- ANDERSEN, K. — AAMDAL, J.: Artificial insemination with frozen semen in sheep in Norway. *World Review of Animal Production*, 8, 1972, s. 77-79.
- ANDERSEN, K. — AAMDAL, J. — FOUGNER, J. A.: Intrauterine and deep cervical insemination with frozen semen in sheep. *Zuchthygiene*, 8, 1973, s. 113-118.
- BLACKASHAW, A. W.: The effects of milk diluents on the viability of ram spermatozoa and their revival after freezing. *Australian vet. J.*, 36, 1960, s. 432-435.
- COLAS, G.: Effect of initial freezing temperature addition of glycerol and dilution on the survival and fertilizing ability of deepfrozen ram semen. *J. Reprod. Fert.*, 42, 1975, s. 277-285.
- KALEV, G. — ZAGORSKY, D. — ZACHARIEV, Z.: O glubokom zamoraživanii spermy barana. *Zeszyty problemowe postepow nauk rolniczych*, 108, 1970, s. 177-180.
- KOUTSOURIS, CH. D. — VAUPEL, H.: Tiefgefrierung von Schafbocksperma in Pelletform mit unterschiedlichen Abkühlverfahren vor dem Einfrieren. *Zuchthygiene*, 8, 1973, s. 163-169.
- LIGHTFOOT, R. J. — SALAMON, S.: Freezing ram spermatozoa by the pellet method. II. The effects of method of dilution, dilution rate, glycerol concentration and duration of storage at 5 °C prior to freezing on survival of spermatozoa. *Aust. J. biol. Sci.*, 22, 1969, s. 1547-1560.
- LIGHTFOOT, R. J. — SALAMON, S.: Freezing ram spermatozoa by the pellet method. III. The effects of pellet volume, composition of the thawing solution and reconcentration of the thawed semen on survival of spermatozoa. *Aust. J. biol. Sci.*, 22, 1969, s. 1561-1572.
- NAUK, V. A. — LJANSBERG, E. S.: Sochranenie semeni barana pri minus 196 gradusach. *Ovcevodstvo*, 10, 1971, s. 35-37.
- PLATOV, E. M.: Zamoroživanje semeni barana v laktozo-želtočno-etilenglikolevoj srede. *Ovcevodstvo*, 9, 1965, s. 11-12.
- SAHNI, K. L. — ROY, A.: A study on the effect of deep freezing (−79 °C) on post-thawing revival of sheep and goat spermatozoa. *Indian J. Anim. Sci.*, 42, 1972, č. 2, s. 102-105.
- SALAMON, S. — LIGHTFOOT, R. J.: Freezing ram spermatozoa by the pellet method. I. The effect of diluent composition on survival of spermatozoa. *Aust. J. biol. Sci.*, 22, 1969, s. 1527-1546.
- VARNAVSKIJ, A. N. — TURBIN, V. F.: Ulučšenie metoda zamnoživanja semeni baranov. *Vestnik sel'sk. nauki*, 9, 1974, s. 80-83.

Došlo dňa 10. 12. 1976

МЕСАРОШ, П. — ГАМЧИК, П. — ШВАРЦ, Ф. (Ветеринарный институт, Кошице): Выживаемость сперматозоидов барана при применении разных видов разбавителей после глубокого замораживания в жидком азоте. *Vet. Med., Praha*, 22, 1977 (10): 599-604.

В работе оценивалась пригодность трех разбавителей для глубокого замораживания семени баранов. Изучалась выживаемость сперматозоидов после размораживания и в течение шестичасового инкубирования. Установили, что наилучшая выживаемость обеспечена при применении разбавителя с содержанием Трис, фруктозы и лимонной кислоты, а именно 49,2 % после размораживания и 20,7 % спустя шесть часов. Ведется также дискуссия о влиянии процесса размораживания на подвижность сперматозоидов. Лучшим оказалось быстрое размораживание без разбавителя. Приведенные результаты носят лишь ориентировочный характер, так как пригодность разбавителя подтвердит плодovitость осемененных овцематок.

глубокое замораживание спермы; алюминиевая фольга; разбавитель; оценка выживаемости; баран

MESÁROŠ, P. — GAMČÍK, P. — SCHVARC, F. (University of Veterinary Medicine, Košice): *Ram Sperm Survival with the Use of Various Diluents after Deep-Freezing in Liquid Nitrogen*. *Vet. Med., Praha*, 22, 1977 (10): 599-604.

Suitability of three diluents for a deep-freezing of ram ejaculates and sperm survival after de-freezing and in the course of a six-hour incubation were investigated. The longest survival was found with the use of diluent containing Tris, fructose, and citric acid: 49.2 % after de-freezing, and 20.7 % after six hours. The influence of the de-freezing procedure on the motility of spermatozoa can also be taken into consideration. The best proved rapid de-freezing without any diluent. The stated results serve for orientation only as the suitability of the diluents will be confirmed by the fertility of inseminated ewes.

deep-freezing of semen; aluminium foils; diluent; survival evaluation; ram

MESÁROŠ, P. — GAMČÍK, P. — SCHVARC, F. (Veterinärmedizinische, Hochschule, Košice): *Die Fähigkeit des Überlebens von Schafbockspermien unter Verwendung verschiedener Lösungsmittelarten, bei Tiefgefrierung in flüssigen Stickstoff*. *Vet. Med., Praha*, 22, 1977 (10): 599-604.

In der Arbeit bewertete man die Eignung von drei Lösungsmitteln für die Tiefgefrierung von Schafbockspermien-Ejakulaten. Man beobachtete die Fähigkeit des Überlebens von Spermien nach dem Auftauen und im Verlaufe der sechstägigen Inkubation. Dabei stellte man fest, daß das beste Überleben beim Anwenden des Lösungsmittels mit dem Gehalt an Tris, Fruktose und Zitronensäure, u. zw. 49,2 % nach dem Auftauen und nach 6 Stunden 20,7 % bestand. Es wurden auch der Einfluß des Auftauvorganges auf die Fertilität der Spermien diskutiert. Am besten bewährte sich ein rasches Auftauen, ohne Verwendung eines Lösungsmittels. Die angeführten Ergebnisse sind nur von Orientierungscharakter, denn die Eignung des Lösungsmittels durch die Fruchtbarkeit der inseminierten Schafe bestätigt wird.

Tiefgefrierung des Samens; Aluminium-Folie; Lösungsmittel; Beurteilung der Überlebensfähigkeit; Schafbock

Adresa autorov:

MVDr. Pavol Mesároš, prof. MVDr. Pavol Gamčík, CSc., doc. MVDr. František Schvarc, CSc., Vysoká škola veterinárska, Komenského 73, 041 81 Košice

J. Dušek

DUŠEK, J. (Výzkumná stanice pro chov koní, Slatiňany): *Hladina fibrinogenu u klinicky zdravých koní*. Vet. Med., Praha, 22, 1977 (10) : 605-611.

Vzhledem k nutnosti rozšířit spektrum biochemických látek určovaných pro diagnostické účely na úseku veterinární medicíny byly vyšetřeny různé soubory koní s cílem získat základní informace o hladině fibrinogenu a její proměnlivosti. V průměru byla zjištěna hodnota 280 mg⁰/₁₀₀ ($s = 89$, $s_{\bar{x}} = 12$, $V^0_{10} = 32$). U koní výrazného oxidačního typu je hladina fibrinogenu nižší než u koní se sníženou úrovní metabolismu. Různá úroveň hladin fibrinogenu má vazby se sedimentační rychlostí erytrocytů. Opakovaným vyšetřením dílčího souboru koní ($n = 10$) ve třech různých dnech v rozsahu jednoho týdne za stejných definovaných podmínek byla zjištěna nevýznamná rozdílnost variance mezi sledovanými jedinci ($F = 0,901$); rovněž koeficient opakovatelnosti ($r_{op} = 0,11$) nedosahuje hladiny testovacího kritéria. Tyto výsledky ukazují na proměnlivost hladiny fibrinogenu i při normálním fyziologickém stavu zvířete. Fyziologickou proměnlivost této látky lze vysvětlit ve vazbě s ostatními bíkovinými frakcemi.

kůň; fibrinogen

Protein fibrinogen je základní koagulační substrát; jeho molekula je až čtyřikrát větší než molekuly ostatních globulinů plazmy (má protáhlý tvar v poměru 50:1 – velká viskozita fibrinogenového roztoku). Typické zvýšení (hyperinózu) hladiny fibrinogenu lze v humánní medicíně zaznamenat u chronických a akutních zánětů (pneumonie, pleuritidy, polyartritidy), nefrózy, infarktu myokardu, nádorových afekcí, gravidity, tbc atd. Zvýšení hladiny fibrinogenu je podmíněno symptomaticky. Tato hyperinóza bývá často provázena zvýšenou sedimentací erytrocytů. Pokles hladiny fibrinogenu bývá zjištěn u zhoubné anemie, dystrofie jater, cirrhózy, hepatitid atd. Fibrinogen je tvořen v játrech a retikuloendoteliální soustavou. Onemocnění kostní dřene může vyvolat hypofibrinogemii. Vzhledem ke klinickému významu při biochemickém vyšetřování bude účelné systematicky sledovat tuto látku i ve veterinární medicíně. V předloženém informativním sdělení tedy hodnotíme fyziologickou hranici normálů hladiny fibrinogenu s přihlédnutím k variabilitě hodnot u klinicky zdravých koní. Současně jsme chtěli stanovit stabilitu fibrinogenu při opakovaných odběrech vybraných jedinců za stejných fyziologických podmínek.

Dokumentace o fibrinogenu u hospodářských zvířat není rozsáhlá. Kolb aj. (1959) uvádějí pro koně ($n = 42$) průměrnou hodnotu $308 \text{ mg}\%$, u skotu ($n = 30$) $213 \text{ mg}\%$ a u prasat ($n = 32$) $529 \text{ mg}\%$; toto šetření doplnili stanovením fibrinogenu u psů ($n = 26$), u kterých zjistili v průměru $493 \text{ mg}\%$. Vliv gama záření na proměnlivost hladiny fibrinogenu u skotu sledoval Koenig (1960). Minocchieri (1961) se zabýval stanovením hladiny fibrinogenu u různých druhů hospodářských zvířat. Hydrolyzu fibrinogenu u skotu studoval Melnyčuk (1962). Vztahem fibrinogenu a sedimentační rychlosti erytrocytů se zabývá ve své práci Dušek (1967) a determinuje vliv různé pracovní intenzity na dynamiku sedimentačního procesu. Metody stanovení fibrinogenu a jeho klinický význam v humánní medicíně popisují Donner (1956), Homolka (1956) a Hořejší (1957).

MATERIÁL A METODA

Stanovení fibrinogenu pro základní experimentální práce je technicky náročné. V rutinní praxi biochemických laboratoří se v humánní medicíně běžně používají metody rychlejší, jejichž přesnost však pro klinickou potřebu plně postačuje. Nejčastěji jsou to metody kjeldahlizační, kolorimetrická, nefelometrická atd.

Jako praktickou metodu pro rutinní laboratorní vyšetřování lze považovat metodu podle Stilanda. Podle ní je rozdíl extincí inkubované a neinkubované plazmy ve fenolovém reagens přepočítáván na obsah fibrinogenu v $\text{mg}\%$. Ve svém šetření jsme použili právě této metody. Hladina fibrinogenu byla stanovena na spektrálním fotometru K-56. Vyšetřeno bylo celkem 57 teplokrevných koní; plemenná příslušnost, věk, pohlaví a četnost případů je uvedena v tab. I. Krev byla odebírána z *vena jugularis* do Wintrobova odparku (10 ml krve na 0,2 ml Wintrobova roztoku) za dvě až tři hodiny po ranním krmení.

V druhé části sdělení se zabýváme stabilitou fibrinogenu v souboru 10 klisen starokladrubského vraníka. Zpracovali jsme výsledky získané ve třech různých dnech. Krev byla odebírána metodicky stejně jako v první části práce. Fibrinogen byl stanoven ve třech šetřeních v průběhu jednoho týdne při dodržení stejného

I. Hladina fibrinogenu v $\text{mg}\%$ a její variabilita v náhodných výběrech koní — Fibrinogen level in $\text{mg}\%$ and its variability at random selection of horses

Plemeno koní	Pohlaví	Věk v letech	n	$\bar{x} \pm s_{\bar{x}}$	s	$V\%$	$\tilde{x}$
Starokladrubský vraník (remonty)	♀	3 1/2	10	$322 \pm 18,9$	107,0	33,2	307
Starokladrubský vraník (chovné klisny)	♀	5—12	13	$297 \pm 16,4$	59,3	20,0	300
Český teplokrevník	♀	5—8	8	$289 \pm 28,1$	79,4	27,5	299
Anglický plnokrevník	♂	2 3/4	7	$178 \pm 18,1$	48,0	27,0	196
Anglický polokrevník	♀	3—9	9	$246 \pm 36,1$	108,0	44,1	256
Hucul	♀	4—6	10	$310 \pm 36,1$	114,0	36,8	340
Český teplokrevník (hříbata)	♂	1 1/2	12	$285 \pm 27,7$	96,1	33,7	301
Průměr (bez hříbat)	♂, ♀	3—12	57	$280 \pm 11,8$	88,8	31,7	295

fyziologického prostředí. V druhém šetření byl fibrinogen stanoven na spektrálním fotometru MOM. Z numerických hodnot byl vyhodnocen rozdíl variance mezi sledovanými jedinci a byl stanoven koeficient opakovatelnosti. Hodnoty fibrinogenu jsou uvedeny v $\text{mg}\%_0$ (obdobně jako v odborné hematologické literatuře humánní medicíny).

K přepočtu na mikromol se vychází ze vztahu:

$$\text{mM} = \frac{\text{mg}\%_0 \cdot 10}{\text{mol. hmotnost fibrinogenu}}$$

V první části předložené práce je uvedeno šetření z roku 1963, druhá část byla zpracována v roce 1976.

VÝSLEDKY

HODNOTY FIBRINOGENU U KONÍ RŮZNÝCH PLEMEN

Zjištěné průměrné hodnoty a matematicko-statistické charakteristiky vyšetřovaných souborů jsou uvedeny v tab. I. Hodnoty aritmetických průměrů doplňujeme i hodnotami mediálními $\tilde{x}$, abychom tak upřesnili informace o výběrových průměrech souborů s menším počtem případů a při možné předpokládané vyšší variabilitě.

Naměřené hodnoty ukazují na značnou variační šíři proměnné, tedy souhlasně s nálezy v humánní medicíně. Při hodnocení přihlížíme k varianci testováním podílu $\delta = \frac{\hat{\sigma}_1^2}{\hat{\sigma}_2^2}$ při hypotéze $\hat{\sigma}_1^2 = \sigma_2^2 \langle = \rangle \frac{\hat{\sigma}_1^2}{\hat{\sigma}_2^2} = 1$

proti alternativě $\frac{\hat{\sigma}_1^2}{\hat{\sigma}_2^2} = \delta \neq 1$. Srovnáváme-li podíly rozptylů variance

II. Hodnoty F testu hladiny fibrinogenu srovnávaných souborů — F -test values of fibrinogen level in tests compared

Posuzované soubory		1	2	3	4	5	6
Starokladrubský vraník (remonty)	1	—	3,26	1,82	4,97*	1,03	1,14
Starokladrubský vraník (chovné klisny)	2		—	1,79	1,53	3,34*	3,70*
Český teplokrevník	3			—	2,74	1,86	2,06
Anglický polokrevník	4				—	5,10*	5,64*
Anglický plnokrevník	5					—	1,11
Hucul	6						—

* statistická významnost pro $\alpha_{1,11}$

mezi jednotlivými plemeny (tab. II), zjišťujeme většinou nesignifikantní hodnoty F testu; i když některé hodnoty dosahují hladiny testovacího kritéria, nemůžeme považovat výsledky za fyziologicky zobecnitelné, vzhledem k velké proměnlivosti sledovaného znaku a malé četnosti souborů.

Pro značnou variabilitu nepřikládáme ani zvlášť velký význam rozdílům výběrových průměrů mezi jednotlivými pokusnými soubory koní. Přesto však nelze přehlédnout nižší hladinu fibrinogenu u anglických plnokrevníků, která ve srovnání s ostatními plemeny naznačuje fyziologickou vazbu se zjištěnou nižší sedimentační rychlostí erytrocytů. Přirozeně, že naměřené hodnoty neumožní zobecnit meziplemenné rozdíly, neboť obdobná šetření postrádají v našem případě základní požadavky na četnost jedinců a zastoupení plemen. Zaměřujeme se však na hodnocení variability proměnné, neboť znalost fyziologické hranice „normálu“ nám podává informace pro hodnocení fyziologické váhy nálezů. Zjištěná míra variability ukazuje, že kolísání hodnot normálů je u fibrinogenu větší než u většiny jiných biochemických látek; určitým větším rozptylem se však vyznačují i ostatní globulinové frakce. Přihlédneme-li k variabilitě frekvencí v dílčích souborech, vidíme, že při hodnocení shody rozptylů jsou podílové hodnoty značně variabilní; pokud nedosahují kritické hladiny testového kritéria (pro $F_{0,05}$), nevyjadřují zjištěné testy fyziologickou závislost, a tím vliv plemenné příslušnosti, naprosto jednoznačně. Lze spíše usuzovat, že v souborech s větší frekvencí bude variabilita vždy značná, a to souhlasně u všech plemen. Tuto otázku v budoucnu ještě rozpracujeme.

Při hodnocení hladiny fibrinogenu jsme přihlédlí ke vztahu hladiny této látky a sedimentační rychlosti erytrocytů. Zjištěné závislosti byly vesměs statisticky významné, zvláště při hodnocení relativní sedimentační rychlosti.

STABILITA FIBRINOGENU PŘI OPAKOVANÝCH ŠETŘENÍCH

Abychom doplnili výsledky uvedené v první části, přihlédlí jsme k problematice proměnlivosti hladiny fibrinogenu při opakovaných stanoveních ve stejných fyziologických podmínkách. Do šetření bylo zařazeno deset starokladrubských klisen, které byly převážně jalové, nebo v nízkém stupni gravidity. Šetření se konalo v jednom týdnu. V souboru těchto deseti klisen byly zjištěny v jednotlivých dnech šetření tyto hodnoty (v mg %):

1. den: $\bar{x} = 249,0$; $s = 44,85$; $s_{\bar{x}} = 14,18$; $v \% = 18,0$;
2. den: $\bar{x} = 303,4$; $s = 34,36$; $s_{\bar{x}} = 10,87$; $v \% = 11,3$;
3. den: $\bar{x} = 308,3$; $s = 36,25$; $s_{\bar{x}} = 11,46$; $v \% = 11,8$.

Analýzou variance zjišťujeme, že vypočítaná hodnota F testu ($0,901$) leží hluboko pod kritickou hladinou pro $\alpha_{0,05}$. Ukazuje se tak, že rozdíl variací mezi sledovanými jedinci není významný a testování rozdílů výběrových průměrů (i když jsou v některých případech výraznější) není opodstatněné. Ve vazbě s nízkou hodnotou F testu je i koeficient opakovatelnosti, který je nevýznamný ($r_{op} = 0,11$); potvrzuje tak značnou variabilitu hladiny fibrinogenu u jedinců, určenou při opakovaných šetřeních v různých dnech.

Protože se hladina fibrinogenu při četných chorobách mění, nabývá jeho vyšetřování na významu vzhledem k možnosti využití jako pomocného diagnostického ukazatele.

Fibrinogen – bílkovina krevní plazmy – je fyzikálně-chemicky odlišný od albuminů. Lze jej rozdělit na tři frakce, což však nebylo cílem našeho šetření. To bylo zaměřeno na sledování fyziologické odpovědi organismu na pracovní zátěže různé intenzity. V předložené práci se tedy zabýváme otázkou klidových hodnot a jejich proměnlivostí. Literatura v oblasti veterinární fyziologie, zabývající se stanovením fibrinogenu a jeho klinickým významem, není rozsáhlá, a proto jsme zpracovali naměřené klidové hodnoty s cílem získat základní informace o stabilitě této látky jako výchozí báze pro posuzování změn vyvolaných pracovní zátěží nebo onemocněním. Ve své práci se omezujeme jen na stanovení hladiny klidových fyziologických hodnot a jejich rozptylu a proměnlivosti, abychom tak rozšířili pohled na tuto látku při jejím klinickém využití ve veterinární medicíně.

V předchozích pracích jsme zjistili významný vztah fibrinogenu a sedimentační rychlosti erytrocytů. K této otázce je nutné poznamenat, že v humánní medicíně je právě význam fibrinogenu spatřován v jeho působení na fyzikální a koloidní děje v krevní tekutině (vazba dikarbonových kyselin asparágové a glutaminové a povrchu erytrocytů, zvýšená vazkost atd.). Při pozorování vlivu této látky na sedimentační proces je nutné uvážit, že při posouzení jen absolutních hodnot sedimentace erytrocytů je třeba kriticky hodnotit jejich „fyziologickou váhu“ z hlediska časového průběhu sedimentačního procesu. Sedimentaci erytrocytů jsme vyjádřili exponenciální funkcí $y = A(1 - e^{-kt})$. Největší sedimentační zrychlení nastává u koní mezi 10. až 30. minutou. Rychlostní konstanta k je proměnlivou veličinou; je závislá na pracovní intenzitě, která podmiňuje i délku časového úseku s největším zrychlením sedimentace. Po 60 minutách sedimentace se hodnoty již homogenizují. Normální obor se zužuje, tím se ztrácí typický individuální charakter sedimentační rychlosti erytrocytů a možnost posouzení vlivu fibrinogenu na rychlost sedimentačního procesu. Proto vztahy fibrinogenu a sedimentační rychlosti erytrocytů jsou nejkonkrétnější v časovém intervalu 10 až 30 minut; při hodnocení těchto vztahů nelze ani přehlédnout naše zjištění o kompenzaci relativní sedimentační rychlosti v jednotlivých časových úsecích (D u š e k, 1967).

Zjištěnou sníženou sedimentační rychlost erytrocytů u anglických plnokrevníků nelze přirozeně vysvětlit jen nižší hladinou fibrinogenu, ale celým biofyzikálním komplexem, kdy i podstatně vyšší počet erytrocytů u anglických plnokrevníků vytváří jiné fyzikální podmínky pádu erytrocytů a jejich shlukovací schopnosti. Přirozeně, že však z výsledků u tak malé skupiny ($n = 7$) nemůžeme závěry zobecňovat. Zjištěnou diferenci průměrů hladiny fibrinogenu anglických plnokrevníků a ostatních plemen musíme ještě ověřit v souborech s podstatně vyšší četností.

V předložené práci se zaměřujeme hlavně na vyhodnocení výše hladiny fibrinogenu a její variability. Konkretizace vlivu plemen na hladinu této proměnné by vyžadovalo rozsáhlé šetření. Po právě probíhajícím pokusném šetření ve VSCHK Slatiňany při sledování biochemických změn u hříbat v průběhu ontogeneze bude možné zodpovědět otázku těsnosti

vazby hladiny fibrinogenu a věku. V humánní biochemii se uvádí zvyšování hladiny fibrinogenu se zvyšujícím se věkem. U mláďat je funkční význam fibrinogenu snížený (fibrinostemie).

Vzhledem ke sledované četnosti pokusných koní mají dosažené výsledky informativní charakter a neumožní tedy zobecnit závěry o mezilemných rozdílech, či rozdílech mezi pohlavím. I při nižších počtech pokusných jedinců nabízejí však výsledky možnosti dalšího metodického pojetí v oblasti fyziologické v chovu koní. Právě zjištěná variabilita je důležitou charakteristikou fyziologie stability této látky (fibrinogenu) u jedinců a homogenity hodnot v souboru. Naznačený vztah vzestupu hladiny fibrinogenu se snižováním intenzity metabolismu by však bylo nutné ověřit ve velkých souborech koní různých plemen, pokud tyto soubory splňují metodické požadavky na stejný komplex podmínek prostředí, věku koní a jejich tréninku. To však zatím nebylo cílem řešení předložené práce.

Dosažené výsledky jsou v poměrně dobré shodě s hodnotami, které publikovali Kolb aj. (1959). Bližší rozvedení výsledků a srovnání s údaji Kolbovými není možné, neboť tento autor vyšetřil soubor 42 koní bez specifikace plemenné příslušnosti. Z tohoto hlediska je tedy shoda Kolbových a našich výsledků uspokojivá.

Literatúra

- DONNER, L.: Hematologie. SPN, Praha 1956.
DUŠEK, J.: Možnost aplikace šikmé sedimentační metody erytrocytů u koní. In: Ročenka VSCHK Slatiňany, 1965, s. 245-256.
DUŠEK, J.: Die Wertung des allgemeinen Verlaufs der Erythrocytensenkungskurve bei Pferden. I. Mitteilung. Arch. exp. VetMed., 21, 1967, č. 2, s. 577-593.
DUŠEK, J.: Die Veränderungen der Blutkörperchensenkungsgeschwindigkeit bei Pferden vom Gesichtspunkt der Arbeitsbelastung. II. Mitteilung. Arch. exp. VetMed., 21, 1967, č. 2, s. 593-601.
GREVE, J. H. — MOSES, H. E.: Histopathologic changes in Xanthomatosis in chickens. J. Am. vet. med. Ass., 139, 1961, č. 10, s. 1089-1092.
HOMOLKA, J.: Chemická diagnostika v dětském věku. SZN, Praha 1956.
HOREJŠÍ, J. aj.: Základy chemického vyšetřování v lékařství. SZN, Praha 1957.
KOENIG aj.: Physiochemical effects of radiation. V. Effects of gamma radiation on bovine fibrinogen. Radiation Research, 13, 1960, č. 3, s. 432-444.
KOLB, aj.: Zum Vorkommen und zur Bestimmung des Fibrinogens im Plasma von Haustieren. Zentbl. VetMed., 6, 1959, č. 1, s. 14-17.
MICHEL, R. aj.: Effets des hormones thyroïdiennes, de l'iode et de l'iodure de cyanogène sur les mitochondries hépatiques. Archs int. Physiol. Biochim., 70, 1962, č. 4, s. 575-576.

Došlo dne 28. 9. 1976

ДУШЕК, Я. (Научно-исследовательская станция коневодства, Слати́ны): Уровень фибриногена у клинически здоровых лошадей. Vet. Med., Praha, 22, 1977 (10): 605-611.

Ввиду необходимости расширить спектр биохимических веществ, предназначенных для диагностических целей на участке ветеринарии, обследовались разные совокупности лошадей в целях получения основной информации об уровне фибриногена и его изменчивости. В среднем установлена величина $280 \text{ мг}\%$ ($s = 89, s_{\bar{x}} = 12, V\% = 32$). У лошадей отчетливо окислительного типа уровень фибриногена ниже, чем у лошадей с пониженным уровнем метаболизма. Различный уровень фибриногена находится в корреляционной зависимости от скорости седиментации эритроцитов. Повторным обследованием частной совокупности ло-

шадей ($n = 10$) в три разных дня на протяжении одной недели при разных дефинированных условиях установлено незначимое различие вариантности между обследованными особями ($F = 0,901$); также коэффициент повторности ($r_{op} = 0,11$) не достигает уровня тестируемого критерия. Эти результаты свидетельствуют об изменчивости уровня фибриногена и при нормальном физиологическом состоянии животного. Физиологическую изменчивость этого вещества можно объяснить в корреляции с остальными белковыми фракциями.

лошадь; фибриноген

DUSEK, J. (Research Station for Horse Breeding, Slatiňany): *Fibrinogen Level in Clinically Healthy Horses*. Vet. Med., Praha, 22, 1977 (10) : 605-611.

Various sets of horses were examined in view of the necessity of widening the range of biochemical substances for diagnostic purposes in the field of veterinary medicine. The aim of the investigations was to obtain basic information on fibrinogen level and its variability. The average value stated was $280 \text{ mg}\%$ ($s = 89$, $s_x = 12$, $V\% = 32$). The fibrinogen level in horses of the pronounced oxidation type was lower than in those with reduced metabolism, the difference being connected with the speed of sedimentation of erythrocytes. Repeated examination of a part of the set of horses ($n = 10$) on three different days within one week under the same conditions, showed a nonsignificant difference in the variability of the investigated horses ($F = 0.901$); neither did the coefficient of repeatability ($r_{op} = 0.11$) reach the level of the testing criterion. The results indicate variability, with normal physiological condition of the animal, in the fibrinogen level. The physiological variability in fibrinogen level can also be explained in connection with other protein fractions.

horse; fibrinogen

DUSEK, J. (Forschungsstation für Pferdezucht, Slatiňany): *Das Fibrinogen-Niveau bei klinisch gesunden Pferden*. Vet. Med., Praha, 22, 1977 (10) : 605-611.

Mit Rücksicht auf die Notwendigkeit, das Spektrum der biochemischen Stoffe, zu diagnostischen Zwecken auf dem Gebiet der Veterinärmedizin zu bestimmen, untersuchte man verschiedene Pferdegruppen mit dem Ziele, Grundinformationen über das Fibrinogen-Niveau und dessen Veränderlichkeit zu gewinnen. Im Durchschnitt ermittelte man den Wert von $280 \text{ mg}\%$ ($s = 89$, $s_x = 12$, $V\% = 32$). Bei Pferden von ausgeprägtem Oxidationstyp ist das Fibrinogen-Niveau niedriger, als es bei Pferden mit herabgesetztem Niveau des Metabolismus der Fall ist. Verschiedenes Niveau der Fibrinogenspiegel besitzt Bindungen von Sedimentationsgeschwindigkeit der Erythrozyten. Durch eine wiederholte Untersuchung einer Pferde- teilgruppe ($n = 10$) in drei verschiedenen Tagen im Umfang von einer Woche, unter denselben definierten Bedingungen ermittelte man eine unsignifikante Unterschiedlichkeit der Varianz unter den beobachteten Individuen ($F = 0,901$); auch der Koeffizient der Wiederholbarkeit ($r_{op} = 0,11$) erreicht das Niveau des getesteten Kriteriums nicht. Diese Ergebnisse weisen auf die Veränderlichkeit des Fibrinogenniveaus auch bei normalen physiologischen Stand des Tieres hin. Die physiologische Veränderlichkeit von diesem Stoffe kann in Bindung mit übrigen erklärt werden.

Pferd; Fibrinogen

Adresa autora:

Doc. ing. Jaromír Dušek, CSc., Výzkumná stanice pro chov koní, 538 21 Slatiňany, okres Chrudim

Maximálně účinná terapie žaludečních, střevních
a plicních helmintóz u skotu, ovcí a koz.

NILVERM

orální nálev

Experimentální a terénní ověření v mnoha zemích světa včetně Československa a stejně tak i celosvětové přijetí tohoto přípravku veterinárními lékaři a chovateli hospodářských zvířat ukázaly, že Nilverm je vynikajícím anthelmintikem.

Nilverm ničí široké spektrum gastrointestinálních nematodů a hlísty druhu *Dictyocaulus*, přičemž jeho účinnost proti nezralým nematodům nebyla dosud překonána. Příznivý koeficient bezpečnosti dovoluje i náhodné předávkování a také není třeba činit žádná speciální opatření dávkování přípravku nebo omezovat ostatní druhy medikace.

Další předností je, že se Nilverm aplikuje v jednotné dávce bez ohledu na stupeň nebo druh invaze.

NILVERM

Orální nálev obsahuje 3% tetramisol hydrochloridu. Nilverm je chráněná známka.
Dodává se v balení po 1 litru. V licenci vyrábí
Bioveta Ivanovice na Hané a Bioveta Nitra.



Imperial Chemical Industries Ltd.
Pharmaceuticals Division
Alderley Park Macclesfield
Cheshire, England

MIKROELEMENTY V PEČENI A OBLIČKE NOSNÍC V SÚČASNÝCH PODMIENKACH VEĽKOCHOVŮV PRI ICH NORMÁLNOH, AKO AJ ZVÝŠENOM PRÍVODE DO ORGANIZMU

I. Beseda, A. Rippel, J. Kováč, M. Monišová

Venované k 50. narodeninám prof. MVDr. K. Bođu, DrSc.

BESEDA, I. — RIPPEL, A. — KOVÁČ, J. — MONIŠOVÁ, M. (Ústav fyziológie hospodárskych zvierat SAV, Ivanka pri Dunaji, laboratórium Zvolen; Výskumný ústav hygieny, Bratislava; Štátny veterinárny ústav, Zvolen): *Mikroelementy v pečeni a obličke nosníc v súčasných podmienkach veľkochovov pri ich normálnom, ako aj zvýšenom prívode do organizmu*. Vet. Med., Praha, 22, 1977 (10) : 613-620.

Stanovil sa obsah mangánu, zinku, medi a železa v pečeni a obličke nosníc (Shaver) za súčasných veľkochovateľských podmienok, a to jednak pri normálnom, ako aj pri ich zvýšenom príjme v krmive. Obsah sledovaných stopových prvkov sa stanovil pomocou atómovej absorpčnej spektrofotometrie bezplameňovou technikou s použitím grafitovej kyvety. Pri kŕmení nosníc krmivom s normálnym obsahom stopových prvkov sa zistilo, že v pečeni je v priemere koncentrácia mangánu $15,8 \pm 8,8$ mg kg⁻¹, zinku $35,0 \pm 5,1$ mg kg⁻¹, medi $19,9 \pm 2,8$ mg kg⁻¹ a železa $761,6 \pm 245,8$ mg kg⁻¹. Pri prídavku sledovaných mikroelementov sa zvýšil ich priemerný obsah vo všetkých prípadoch len v obličkách, kým v pečeni došlo ku zvýšeniu primernej hodnoty koncentrácie len v prípade železa.

nosnice Shaver; pečeň; oblička; mikroelementy; mangán; zinok; meď; železo; diagnostika

Pri štúdiu biochemických procesov v živom organizme sa v súčasnej dobe venuje veľká pozornosť stopovým prvkom, ktoré sú rôznym spôsobom zapojené do metabolických procesov v živej hmote a sú pre živý organizmus nepostrádateľné. Sú súčasťou rôznych enzýmov a iných pre organizmus dôležitých zlúčenín (napr. hemoglobín a iné metaloproteiny).

V záujme homeostázy udržiava organizmus v telových tekutinách obsah minerálnych látok včítane stopových prvkov na približne rovnakej úrovni, pričom regulácia tohoto stavu sa zaistuje jednak resorpciou, vylučovaním, ako aj ukladaním minerálie do depótnych orgánov. V niektorých tkanivách organizmu môže preto koncentrácia stopových prvkov vystúpiť na nefyziologickú hladinu, čo by mohlo mať za následok poškodenie tkaniva, ak sa prekročí určitá koncentračná hranica.

Mikroelementami v chove hydiny sa zaoberajú viacerí autori. Veliký (1957) sleduje vplyv dávky mikroelementov na odchov a rast hydiny. Bernštejn (1958) a Veliký (1964) poukazujú súhrnne na význam mikroelementov pre živý organizmus a na ich obsah v niektorých orgánoch zvierat, včítane hydiny. Kriegová (1966) uvádza obsah mangánu, zinku, medi a železa u dospeléj hydiny (Leghorn) pri kontrolovanom príjme týchto mikroelementov.

Sova a i. (1968, 1970), Marek a i. (1968) študovali zmeny obsahu magánu, medi, železa a kobaltu v pečeni kurčiat v rannom postinkubačnom období až do 31. dňa života. Hill (1965) študuje retenciu rádioaktívneho mangánu pri jeho orálnom podaní hydine. Opichal (1964) študoval význam stopových prvkov pre dosiahnutie optimálnej úžitkovosti u hospodárskych zvierat, včítane hydiny. Hill (1967) študuje súvis retencie mangánu a príjmu vitamínu D krmivom. Randion a i. (1961) sa zaoberajú obsahom mangánu v pečeni hydiny. Comar (1964) určuje normálnu hladinu medi v pečeni kurčiat. Davis a i. (1962) študujú vplyv deficiencie železa u kurčiat na ich zdravotný stav v súvisi s príjmom diéty zloženej z proteínov sójových bôbov. Alvarez a i. (1964) zisťujú inhibičný efekt medi na gastrointestinálnu ureážu kurčiat. Carlton a Henderson (1963) sledovali súvis experimentálne vyvolanej deficiencie medi s kardiovaskulárnymi léziami.

Otázka fyziologického obsahu mikroelementov v tkanivách živého organizmu sa v súčasnej dobe stáva problematikou vzhľadom na to, že príjem mikroelementov do organizmu je zvýšený, a to jednak zásluhou kŕmnych zmesí obohatených o mikroelementy, ako aj príjmom krmiva s prirodzeným obsahom stopových prvkov, zvýšeným v dôsledku znečisťovania životného prostredia, hlavne v exhalátových oblastiach.

V našich pokusoch sme sa preto zamerali na zistenie obsahu mangánu, zinku, medi a železa v pečeni a obličkách hydiny (vysokoprodukčné nosnice Shaver) pri súčasnej technológii chovu s kontrolovaným normálnym a zvýšeným prívodom mikroelementov do organizmu.

MATERIÁL A METÓDA

Ako pokusné zvieratá sme použili nosnice Shaver o priemernej živej hmotnosti 1220 g.

V prvej, kontrolnej skupine (6 ks), dostávali nosnice krmivo s obsahom mikroelementov podľa Receptúry kŕmnych zmesí pre hydinu na rok 1975 – kŕmnu zmes NV (kompletná zmes pre vysokoprodukčné nosnice). V druhej skupine dostávali pokusné zvieratá (6 ks) tú istú kŕmnu zmes NV, ale s prídavkom mikroelementov, ako je to zrejmé z tab. I.

I. Prídavok mikroelementov do krmiva – Microelements supplements to the feed (mg kg⁻¹ čerstvej hmoty)

Prvok	Skupiny pokusných zvierat	
	I. skupina	II. skupina
Mangán	89,15	285,0
Meď	11,00	16,7
Železo	121,40	133,3
Zinok	44,00	176,6

Pokusné zvieratá oboch skupín sa kŕmili v kliebkach za podmienok pre intenzívny chov nosníc. Spotreba krmiva zodpovedala 120 až 160 g na kus a deň v priebehu 56 dní pokusu. Obsah mangánu, zinku, medi a železa sa analyticky stanovoval metódou atómovej absorpčnej spektrometrie, bezplameňovou technikou na prístroji PERKIN ELMER, model 305, s použitím grafitovej kyvety. Výsledky merania sa vyhodnotili obvyklými štatistickými metódami (Janko, 1958).

Materiál (oblička, pečeň) sa mineralizoval koncentrovanou kyselinou dusičnou. Koncentrácia mangánu, zinku, medi a železa je vyjadrená v mg kg⁻¹ vzhľadom na suchú hmotu, pokiaľ to nie je uvedené inak.

VÝSLEDKY

V oboch skupinách nosníc sa stanovil obsah mangánu, zinku, medi a železa tak v pečeni, ako aj v obličke. Prehľad o obsahu sledovaných mikroelementov podáva tab. I.

Obsah mangánu v pečeni a obličke nosníc je uvedený v tab. II, obsah zinku v tab. III, obsah medi v tab. IV a obsah železa v tab. V.

II. A) Obsah mangánu v pečeni a obličke nosníc Shaver – The content of manganese in the liver and kidney of the Shaver laying hens
(mg kg⁻¹ suchej hmoty)

Materiál	I. skupina	II. skupina
Pečeň	15,8 ± 8,8 (n = 6)	15,6 ± 8,5 (n = 6)
Oblička	22,3 ± 5,6 (n = 4)	31,8 ± 18,3 (n = 4)

B) Obsah mangánu v krmive – The content of manganese in the feed
(mg kg⁻¹ čerstvej hmoty)

Prvok	I. skupina	II. skupina
Mangán	89,1	285,0

III. A) Obsah zinku v pečeni a obličke nosníc Shaver – The content of zinc in the liver and the kidney of the Shaver laying hens
(mg kg⁻¹ suchej hmoty)

Materiál	I. skupina	II. skupina
Pečeň	35,0 ± 5,1	35,3 ± 3,4
Oblička	40,2 ± 12,7	49,4 ± 7,8

B) Obsah zinku v krmive – The content of zinc in the feed
(mg kg⁻¹ čerstvej hmoty)

Prvok	I. skupina	II. skupina
Zinok	44,0	176,6

IV. A) Obsah medi v pečeni a obličke nosníc Shaver — The content of copper in the liver and kidney of the Shaver laying hens
(mg kg⁻¹ suchej hmoty)

Materiál	I. skupina	II. skupina
Pečeň	19,9 ± 2,8 (n = 6)	18,7 ± 2,8 (n = 4)
Oblička	16,6 ± 5,7 (n = 6)	25,0 ± 6,0 (n = 6)

B) Obsah medi v krmive — The content of copper in the feed
(mg kg⁻¹ čerstvej hmoty)

Prvok	I. skupina	II. skupina
Meď	11,0	16,7

V. A) Obsah železa v pečeni a obličke nosníc Shaver — The content of iron in the liver and kidney of the Shaver laying hen
(mg kg⁻¹ suchej hmoty)

Materiál	I. skupina	II. skupina
Pečeň	488,8 ± 108,8	510,9 ± 176,5
Oblička	761,6 ± 245,8	1198,5 ± 663,3

B) Obsah železa v krmive — The content of iron in the feed
(mg kg⁻¹ čerstvej hmoty)

Prvok	I. skupina	II. skupina
Železo	121,4	133,4

DISKUSIA

MANGÁN

Mangán sa v živočíšnom organizme pomerne zle vstrebáva zo zažívacieho aparátu. Poukázali na to u hydiny viacerí autori (Bernštejn, 1958; Velický, 1964; Kriegová, 1966). Naše výsledky uvedené poznatky potvrdzujú. V pečeni prvej skupiny nosníc sme zistili koncentráciu mangánu v priemere 15,8 ± 8,8 mg kg⁻¹. V pečeni nosníc druhej skupiny (zvýšený príjem Mn) sme zistili jeho koncentráciu v priemere 15,6 ± 8,5 mg kg⁻¹ (tab. II). Tieto naše výsledky zodpovedajú údajom Kriegovej (1966), ktorá uvádza, že v pečeni dospeljej hydiny (Leghorn) dosahuje kon-

centrácia mangánu $19,6 \text{ mg kg}^{-1}$ pri príjme krmiva s obsahom mangánu 100 mg kg^{-1} . Veliký (1964) udáva obsah mangánu $14,6 \text{ mg kg}^{-1}$ suchej hmoty pečene u zdravých jedincov, pri peróze uvádza zníženie koncentrácie na hodnotu $2,6 \text{ mg kg}^{-1}$.

V obličkách nosníc sme zistili zreteľný rozdiel v obsahu mangánu medzi prvou a druhou skupinou nosníc. U prvej skupiny je to $22,3 \pm 5,6 \text{ mg kg}^{-1}$, u druhej $31,8 \pm 18,3 \text{ mg kg}^{-1}$ (tab. II). Napriek zrejmemu rozdielu priemerných hodnôt na základe štatistického zhodnotenia platí $0,05 < P < 0,10$. Kriegová (1966) uvádza obsah mangánu v obličkách dospeljej hydiny (Leghorn) $12,0 \text{ mg kg}^{-1}$, pri jeho obsahu v krmive 100 mg kg^{-1} . Ďalej zisťuje, že pri zvýšenom príjme mangánu krmivom (koncentrácia Mn v krmive 160 mg kg^{-1}) zodpovedal jeho obsah v obličke $14,5 \text{ mg kg}^{-1}$. Rozdiely medzi našimi výsledkami a údajmi Kriegovej (1966) môžu vyplývať z viacerých faktorov, medzi ktoré počítame jednak zásoby mangánu v organizme z krmiva, ktoré nosnice dostávali ešte pred pokusom, ďalej vplyv kŕmnej technológie v podmienkach veľkochovov, genetickú podmienenosť a pod..

Nami zistené zvýšenie priemernej koncentrácie mangánu v obličkách u druhej skupiny nosníc súvisí pravdepodobne s exkréčnou funkciou obličiek, čo naznačujú práce niektorých autorov (Krieg, 1966; Veliký, 1964), kde sa poukazuje na vysokú koncentráciu mangánu v exkrementoch pri jeho zvýšenom príjme.

ZINOK

Zinok je pravidelne sa vyskytujúcou súčasťou tkanív živého organizmu a jeho obsah kolíše v širokom rozmedzí. V pečeni hydiny sa podľa Kriegovej (1966) nachádza množstvo zinku v rozmedzí od 56 do 280 mg kg^{-1} . Bernštejn (1958) uvádza obsah zinku v pečeni hydiny 120 mg kg^{-1} . Vohra a Bond (1970) našli v pečeni japonskej prepelice $67,0 \text{ mg}$ zinku na kg pečene. Veliký (1964) u husi uvádza obsah zinku v pečeni 68 mg kg^{-1} .

V našich pokusoch sme zistili v pečeni prvej skupiny nosníc obsah zinku $35,0 \pm 5,10 \text{ mg kg}^{-1}$, u druhej skupiny $35,3 \pm 3,4 \text{ mg kg}^{-1}$ (tab. III).

V obličkách prvej skupiny nosníc sme zistili obsah zinku $40,2 \pm 12,7 \text{ mg kg}^{-1}$, v druhej skupine $49,4 \pm 7,8 \text{ mg kg}^{-1}$. Napriek vyššiemu priemernému obsahu v druhej skupine neboli rozdiely medzi skupinami štatisticky významné. Kriegová (1966) uvádza obsah zinku v obličkách hydiny (Leghorn) 126 mg kg^{-1} , Vohra a Bond (1970) zistili v obličkách japonskej prepelice obsah 75 mg kg^{-1} , Veliký (1964) u husi uvádza obsah zinku v obličke 20 mg kg^{-1} . Údaje uvedených autorov približne zodpovedajú našim nálezom. Rozdiely sa podobne ako v prípade mangánu dajú pričítať už spomínaným faktorom.

MED

Podľa Kriegovej (1966) zodpovedá obsah medi v pečeni hodnotám 11,1 až $16,5 \text{ mg kg}^{-1}$. Sova a i. (1968) zisťovali dynamiku zmien hladiny medi v pečeni kurčiat v priebehu postnatálneho vývoja až do 31. dňa života. V prvom dni života zistili obsah medi v pečeni v priemere $51,2 \text{ mg kg}^{-1}$, v 31. dni $35,0 \text{ mg kg}^{-1}$. Beseda (1969) zistil u dospeljej hydiny

11,1 mg medi na kg pečene, pri intoxikáciach medou v pečeni našiel koncentráciu 26,7 mg kg⁻¹.

V našich pokusoch sme zistili u prvej skupiny nosníc obsah medi v pečeni $19,9 \pm 2,8$ mg kg⁻¹ a u druhej skupiny $18,7 \pm 2,8$ mg kg⁻¹. Tieto výsledky zodpovedajú údajom uvedeným inými autormi.

V obličke sme našli u prvej skupiny nosníc obsah medi $16,6 \pm 5,7$ mg kg⁻¹, u druhej skupiny $25,0 \pm 6,0$ mg kg⁻¹ (tab. IV). Uvedené rozdiely priemerných hodnôt medzi prvou a druhou skupinou nosníc sú významné len pre 10% hladinu významnosti ($0,05 < P < 0,10$). Kriegová (1966) uvádza obsah medi v obličke 14,5 mg kg⁻¹ pri príjme krmiva s obsahom medi 1,5 mg kg⁻¹. Nami zistený obsah medi v prvej skupine nosníc zodpovedá údajom Kriegovej (1966). V druhej skupine nosníc možno zvýšený obsah medi pripísať jej vyššiemu príjmu v krmive.

ŽELEZO

U zdravých zvierat sa zo železa prijatého krmivom rezorbuje 1 až 10 %, prípadne aj viac, čo sa reguluje zložitými mechanizmami podľa potreby organizmu. Kriegová (1966) v pečeni dospeléj hydiny Leghorn zistila obsah železa v rozsahu 313 až 517 mg kg⁻¹. Sova a i. (1968) stanovili obsah železa v pečeni kurčiat (Leghorn) v ranom postinkubačnom období, pričom zistili u jednodňových kurčiat koncentráciu 112,8 mg kg⁻¹ a u 31-dňových kurčiat 215,0 mg kg⁻¹. Vohra a Bond (1970) uvádzajú obsah železa v pečeni japonskej prepelice 590 mg kg⁻¹.

V našom pokuse sme u prvej skupiny nosníc zistili obsah železa $488,8 \pm 108,8$ mg kg⁻¹, u druhej skupiny $510,9 \pm 176,5$ mg kg⁻¹ (tab. V). Tieto naše výsledky súhlasia s údajmi uvedených autorov.

V obličkách u prvej skupiny nosníc sme našli obsah železa v priemere $791,6 \pm 245,8$ mg kg⁻¹, kým u druhej skupiny bol jeho obsah zvýšený v priemere na $1198 \pm 663,3$ mg kg⁻¹. Podľa autorov Vohra a Bond (1970) zodpovedá v obličkách japonskej prepelice koncentrácia železa 720 ± 165 mg kg⁻¹, Kriegová (1966) uvádza jeho obsah v obličkách hydiny (Leghorn) od 230 do 405 mg kg⁻¹.

Odhládnuť od druhej skupiny nosníc Shaver, zodpovedajú uvedené údaje nami zisteným hodnotám. U druhej skupiny nosníc sa prejavilo zvýšenie príjmu železa na jeho vyššej koncentrácii v porovnaní s prvou skupinou tak v obličkách, ako aj v pečeni. Rozdiely sú však preukazné len na 10% hladine významnosti pri ich štatistickom zhodnotení.

Celkove možno povedať, že sa pri každom zo sledovaných mikroelementov (Mn, Zn, Cu a Fe) za uvedených podmienok pokusu zistila pri ich zvýšenom príjme súčasne zvýšená koncentrácia týchto mikroelementov v obličkách. Je pravdepodobné, že zvýšená hladina mikroelementov v obličkách súvisí s exkréčnou funkciou obličiek. Vzhľadom na značné individuálne rozdiely koncentrácií stopových prvkov, čo je zrejmé z viacerých prác (Kriegová, 1966; Vohra, Bond, 1970 a i.), by bolo možné štatisticky významnejšie výsledky získať len z väčšieho počtu analyzovaného materiálu.

Literatúra

- ALVAREZ, A. P. — HENDRICKSON, R. F. — VISEK, W. J.: Effect of isoniazid, chlortetracycline and copper upon growth and gastrointestinal urease activity of chicks. *J. Nutr.*, 83, 1964, s. 79-84.
- BERNŠTEJN, F.: Mikroelementy, ich biologičeskaja roľ i značenie dľja životnovodstva. Minsk, Gos. izd. BSSR 1958.
- BESEDA, I.: Obsah medi v orgánoch a tkanivách niektorých hospodárskych zvierat pri intoxikáciách prípravkami obsahujúcimi meď. III. seminár „Metodika stanovení a význam stopových prvků v biologickém materiálu“, Praha, VŠChT, katedra chemie a zkoušení potravin, 6. V. 1969.
- CARLTON, W. W. — HENDERSON, W.: Cardiovascular lesions in experimental copper deficiency in chickens. *J. Nutr.*, 81, 1963, s. 200-208.
- COMAR, C. S.: Mineral metabolism. Vol. 2. Part A: The Elements. New-York — London, Academic Press 1964.
- DAVIS, P. N. — NORRIS, L. — KRATZER, F. M.: Iron deficiency studies in chicks using treated isolated soybean protein diets. *J. Nutr.*, 78, 1962, s. 445-453.
- HILL, R.: The retention of an oral dose of radioactive manganese in the pullet and the effect on retention of the intake of inactive manganese. *Br. J. Nutr.*, 19, 1965, s. 171-176.
- HILL, R.: Vitamin D and manganese in the nutrition of the chick. *Br. J. Nutr.*, 21, 1967, s. 507-512.
- JANKO, J.: Statistické tabulky. Praha, Nakl. ČSAV 1958.
- KRIEG, R.: Die Wirkung verschieden hoher Spurenelementzulagen im Futter weißer Leghornhennen. *Arch. Geflügelkde.*, 30, 1966, s. 213-222.
- MAREK, Z. — SOVA, Z. — KOUDELA, K. — HOUSKA, J.: Stanovení mikroelementů v játrech kuřat leghornka bílá v raném postinkubačním období. II. sdělení — meď. *Biologizace Chem. Výž. Zvíř.*, 4, 1968, s. 373-377.
- OPICHAL, M.: Stopové prvky ve výživě hospodárskych zvierat. ÚVTI Praha 1965.
- RANDION, L. — GALLIC, P. Le — DUPPUIS, U. a i.: Tables de composition des aliments. III. Aufl. Jaques Lanore, Paris 1961.
- VELIKÝ, I.: Biochémia mikroelementov u živočíchov. [Dizertačná práca.] Bratislava, SVŠT — chemická fakulta 1957.
- VELIKÝ, I.: Mikroelementy v teórii a praxi. Bratislava, Slov. vyd. pôdohosp. lit. 1964.
- VOHRA, P. — BOND, D. C.: The effect of various levels of dietary EDTA on mineral contents of some tissues of *Coturnix coturnix japonica*. *Poult. Sci.*, 49, 1970, s. 565-568.

Došlo dňa 22. 11. 1975

БЕСЕДА, И. — РИППЕЛ, А. — КОВАЧ, Й. — МОНИШОВА, М. (Институт физиологии сельскохозяйственных животных САН, Иванка-при-Дунае; Научно-исследовательский институт гигиены, Братислава; Государственный институт ветеринарии, Зволен): Микроэлементы в печени и почке кур в современных условиях промышленного птицеводства при их нормальном и повышенном введении в организм. *Vet. Med.*, Praha, 22, 1977 (10): 613-620.

Определяли содержание марганца, цинка, меди и железа в печени и почке несущек (Шавер) в нынешних промышленных условиях птицеводства, а именно как при нормальном, так и при их повышенном приеме с кормом. Содержание изучаемых микроэлементов определяли с помощью атомной абсорбционной спектрофотометрии беспламенной техникой с использованием графитной кюветки. При кормлении несущек кормами с нормальным содержанием микроэлементов установили, что в печени в среднем концентрация марганца составляет $15,8 \pm 8,8$ мг/кг, цинка $35,0 \pm 5,1$ мг/кг, меди $19,9 \pm 2,8$ мг/кг и железа $761,6 \pm 245,8$ мг/кг. При добавлении наблюдаемых микроэлементов их среднее содержание повысилось во всех случаях только в почке, тогда как в печени наблюдалось повышение среднего значения концентрации только у железа.

несушки Шавер; печень; почка; микроэлементы; марганец; цинк; медь; железо; диагностика

BESEDA, I. — RIPPEL, A. — KOVÁČ, J. — MONIŠOVÁ, M. (Institute of Animal Physiology, Slovak Academy of Sciences, Ivanka pri Dunaji; Hygiene Research Institute, Bratislava; State Veterinary Institute, Zvolen): *Microelements in the Liver and Kidney of Laying Hens Kept on Large-Capacity Poultry Farms: Normal and Increased Microelement Supply to the Organism*. Vet. Med., Praha, 22, 1977 (10) : 613-620.

The contents of manganese, zinc, copper, and iron in the liver and kidney of laying hens (Shaver), kept on modern large-capacity poultry farms, were determined under the conditions of a normal and increased supply of these microelements to the organism. The content of the mentioned trace elements was determined by means of atomic absorption spectrophotometry, flameless technique, and with the use of graphite cell. In the layers fed a diet with a normal content of trace elements the average concentrations of the microelements in the liver were the following: manganese: 15.8 ± 8.8 mg kg⁻¹, zinc: 35.0 ± 5.1 mg kg⁻¹, copper: 19.9 ± 2.8 mg kg⁻¹, and iron: 761.6 ± 245.8 mg kg⁻¹. When increased amounts of microelements were added to the diet, their average content generally increased just in the kidneys, whereas their average concentrations in the liver remained the same, with the exception of iron, the content of which showed an increase.

Shaver laying hens; liver; kidney; microelements; manganese; zinc; copper; iron; diagnostics

BESEDA, I. — RIPPEL, A. — KOVÁČ, J. — MONIŠOVÁ, M. (Institut für Physiologie der Haustiere der Slowakischen Akademie der Wissenschaften, Ivanka pri Dunaji; Forschungsinstitut für Hygiene, Bratislava; Staatliches Veterinärinstitut, Zvolen): *Mikroelemente in der Leber und den Nieren der Legehennen unter gegenwärtigen Großzuchtbedingungen bei deren normaler sowohl erhöhter Zufuhr in den Organismus*. Vet. Med., Praha, 22, 1977 (10) : 613-620.

Unter den gegenwärtigen Großzuchtbedingungen wurde Gehalt an Mangan, Zink, Kupfer und Eisen in der Leber und den Nieren der Legehennen (Shaver) bestimmt, und zwar sowohl bei normaler, als auch bei erhöhter Aufnahme durch Futter. Gehalt an den untersuchten Spurenelementen wurde mit Hilfe der Atomabsorptionsspektrophotometrie mit flammenloser Technik unter Anwendung der Graphitküvette bestimmt. Bei Fütterung der Legehennen mit Futter von Normalgehalt an Spurenelementen konnte festgestellt werden, daß in der Leber die Mangankonzentration im Durchschnitt bei $15,8 \pm 8,8$ mg kg⁻¹, die des Zinks bei $35,0 \pm 5,1$ mg kg⁻¹, des Kupfers bei $19,9 \pm 2,8$ mg kg⁻¹ und des Eisens bei $761,6 \pm 245,8$ mg kg⁻¹ liegt. Bei Zugabe der untersuchten Mikroelemente stieg ihr Durchschnittsgehalt in allen Fällen nur in den Nieren an während in der Leber der Durchschnittswert der Konzentration nur bei Eisen anstieg.

Legehennen Shaver; Leber; Nieren; Mikroelemente; Mangan; Zink; Kupfer; Eisen; Diagnostik

Adresa autorov:

Ing. Imrich Beseda, CSc., Ústav fyziológie hospodárskych zvierat SAV, laboratórium, 960 84 Zvolen

Ing. Adolf Rippel, CSc., Výskumný ústav hygieny, 800 00 Bratislava

Ing. Ján Kováč, ing. Marta Monišová, Štátny veterinárny ústav, 960 86 Zvolen

ULTRAŠTRUKTÚRNE POZOROVANIE HYPOTALAMICKEJ OBLASTI PO APLIKÁCIÍ AUROTHIOGLUKÓZY U MYŠÍ

R. Škarda, J. Marcaník, M. Belák

Venované k 50. narodeninám prof. MVDr. K. Bođu, DrSc.

ŠKARDA, R. — MARCANÍK, J. — BELÁK, M. (Vysoká škola veterinárská, Košice): *Ultraštruktúrne pozorovanie hypotalamickej oblasti po aplikácii aurothioglukózy u myši*. Vet. Med., Praha, 22, 1977 (10) : 621-627.

Pokusným zvieratám — samiciam myši — bola intraperitoneálne aplikovaná aurothioglukóza v dávke 1 mg g^{-1} ž. h. Za 24 hodiny boli zvieratá dekapitované a z oblasti hypotalamického ventromediálneho jadra boli ihneď odobrané vzorky na ultraštruktúrne vyšetrenie. Štúdiom 243 elektronogramov z 8 experimentálnych zierat sa nám podarilo zistiť: 1. denzné okrúhle partikuly v rozsahu 0,034 až $0,016 \mu$, ktoré predstavujú zlato z preparátu aurothioglukóza; 2. parenchymatóznu dystrofiu mitochondrií; 3. odlupovanie jednotlivých vrstiev myelinových pošiev a ich zrnitosť, čo odpovedá rozpadu nervových vlákien.

hypotalamické ventromediálne jadro; myš; aurothioglukóza; ultraštruktúrne pozorovanie

V tejto práci prezentujeme na submikroskopickej úrovni patomorfologické alterácie a dôkaz pôsobenia zlata v preparáte aurothioglukóza (ATG). Vychádzame tu zo základných prác Kurtza (1961), Ivanova a Kovalského (1969), Matthews a Martina (1971). Celkove táto štúdia spadá do komplexu výskumnej úlohy riešenej našou katedrou a ostatnými čiastkovými úsekmi a predstavuje uzavretú oblasť morfológických lézií. Pri tomto štúdiu sme na vyhodnotenie použili 243 elektronogramov z 8 experimentálnych zvierat. Nezahrnujeme tu počet elektronogramov kontrol a pokusných zvierat, ktoré sme robili pre overovanie metodiky.

MATERIÁL A METÓDA

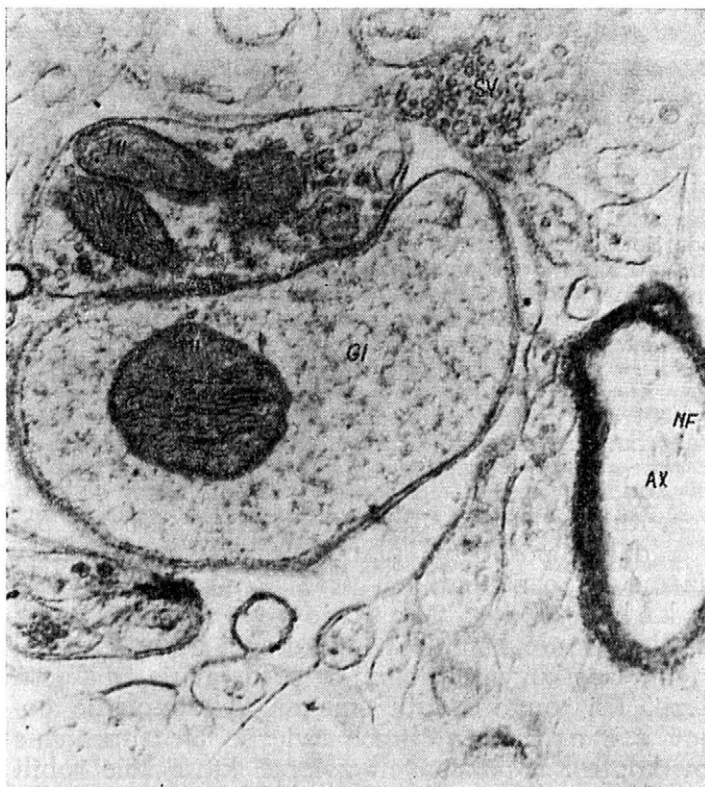
Pre pokus boli použité dospelé biele myši — samičky, ktorým bola aplikovaná ATG v dávke 1 mg g^{-1} ž. h. Po 24hodinovom pôsobení boli zvieratá dekapitáciou pripravené na odber materiálu. Materiál bol odoberaný z oblasti hypotalamického ventromediálneho jadra hneď po dekapitácii. Excízie boli buď prefixované 3% glutaraldehydom po dobu 60 minút a postfixované 1% OsO_4 vo fosfátovom pufrí po dobu 90 minút (Karlson, Schultz, 1965), alebo priamo fixované 1% OsO_4 vo veronalacetátovom pufrí (Palade, 1952). Tkanivo bolo odvodňované v stúpajúcom rade acetónu a zaliate do durcupanu. Po termickej polymerizácii boli pripravené ultratenké rezy na utrotome LKB, kombinované kontrastované uranylacetátom podľa Watsona (1958) a citrátom olova podľa Reynolds a (1963). Elektro-

nogramy boli zhotovené na elektrónovom mikroskope Tesla 242 D a Tesla 513 a fotograficky spracované.

Vychádzajúc z predchádzajúcich skúseností (Marcaník, Gerebtzoff, 1973), rozhodli sme sa získať materiál pre elektrónovú mikroskopiu po 24 hodinách aplikácie aurothioglukózy preto, aby sme sa presvedčili, či nám v tomto časovom úseku získané odbery potvrdia elektrónovú partikulu zlata vo vyšetrovaných vzorkách. Kratší časový úsek bude predmetom ďalších štúdií.

VÝSLEDKY

Vo výsledkoch sme mohli zaznamenať v zhode so svetelnou mikroskopickou rozpád nervových vlákien, ktorý sme mohli zistiť v jeho iniciálnom štádiu tam, kde sa tento proces začína vytvárať na nervových pošvách.



1. Neuropilem ventromediálneho jadra Ammonového rohu myši – The neuropile of the ventromedial nucleus of the cornu ammonis in mice

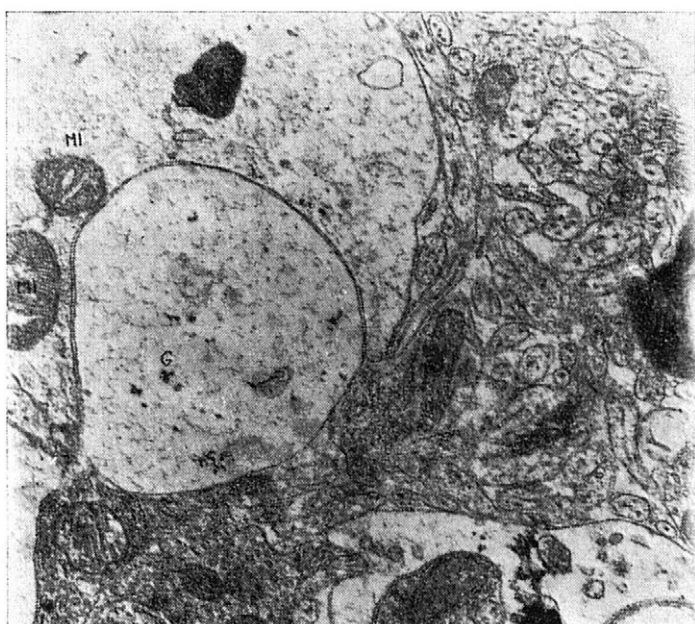
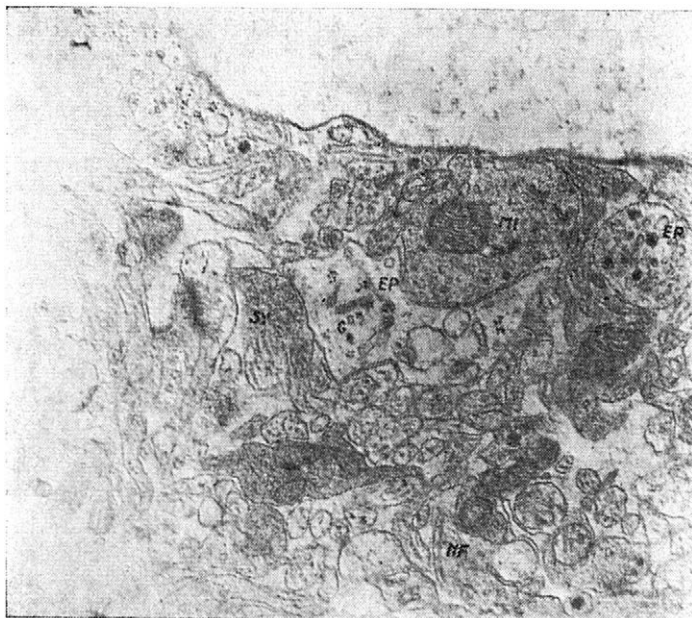
Na nervovom myelínovom vlákne (AX) dochádza k odlupovaniu jednotlivých vrstiev pošvy

NF – neurofilamenty;
SY – synaptické vezikuly;
GI – priečny rez cez výbežky glie; MI – mitochondrie (zväčšenie 99 760x)

Dochádza tu k odlupovaniu jednotlivých vrstiev myelinových pošiev, čím sa zvyšuje zrnitosť týchto membrán (obr. 1). Terminálne eferentné zakončenia obsahujú mitochondrie a početné malé vezikuly, ktorých intenzita nie je všade rovnaká a smerom k membránam gangliových buniek sa zahusťuje. Eferentné neuróny sú miestami mierne edematózne. V niektorých elektrónogramoch (obr. 2) sú v týchto zakončeniach prítomné vo väčšom množstve vezikuly, ktoré obsahujú elektrónodenzný materiál (LV). V niektorých priestoroch, vytvorených v rozsahu našich pozorovaní v hypotalamickom ventromediálnom jadre vznikali nepresne určené cystické útvary v okolí gangliových buniek. Tie predstavovali pravdepodobne vakuolárne útvary a našu pozornosť zaujali preto, že sa v nich nachádzali okrúhle, vysokodenzné, miestami nahlúčené granuló približne rovnakej

2. Detail nemyelínových vláken kortexu mozgu
— Detail of the non-myelin fibres of brain cortex

Väčšina týchto vláken je nemyelínovaná (NF) a obsahuje jemné neurofilamenta a mitochondrie (MI); v zakončeníach pozorovať väčšie vezikuly, v ktorých sú zreteľné elektrón-denzné partikuly obklopené membránou (EP), ako aj menšie tmavé granuló (G); SY — synapticke vezikuly (zväčšené 58 580x)



3. Pričný rez cez výbežok glie, v ktorom vidieť okrúhle, vysokodenzné, miestami nahľúčené granuló (G) rovnakej veľkosti — Cross-section of the protuberance of the glia where round high-density local agglomerations of granules (G) of equal size can be seen

Na mitochondriách (MI) v ľavom hornom kvadrante vidieť parenchymatóznu dystrofiu (zväčšené 58 580x)

veľkosti, ktoré jasne kontrastovali so svojím okolím. Predstavujú partikuly zlata z preparátu ATG (obr. 3). V okolí týchto vakuolárnych útvarov sú lokalizované mitochondrie, ktoré sú edematózne presiaknuté, predstavujú typickú parenchymatóznu dystrofiu mitochondrií (obr. 3). V extracelulárnych nešpecifických trhlínach — vakuolách — sa už nachádzajú popísané početné partikuly, ktoré sú v určitých úsekoch zastúpené zvlášť výrazne. Dosahujú veľkosť 0,034 a, 0,016 μ . Pri bližšom vyšetrení zistu-

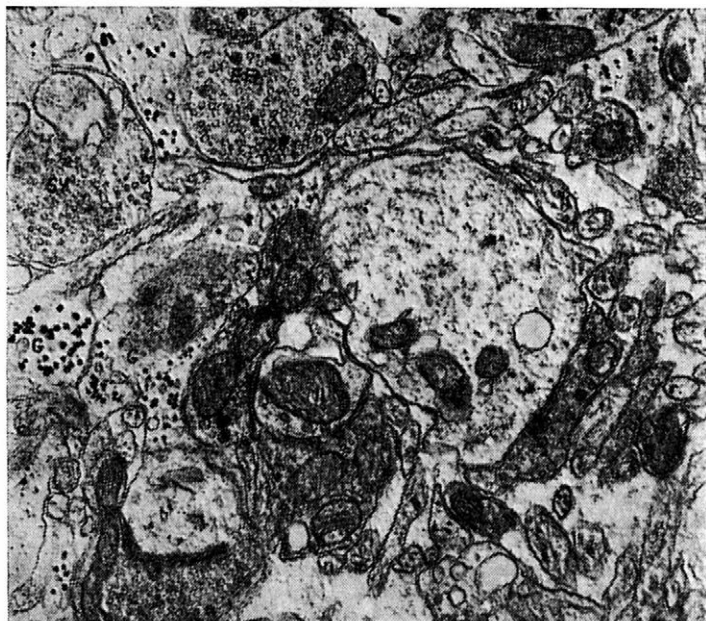


4. Tangenciálny rez cez nervové vlákna experimentálnych myší, ktorým bola aplikovaná ATG — Tangential section of the nerve fibres of experimental mice treated with ATG

V dilatovaných priestoroch zreteľne vidieť množstvo denzných okrúhlych partikúl (G) uložených buď jednotlivovo, alebo v zhlukoch; MI — mitochondrie; SY — synaptické vezikuly (zväčšenie 41 600x)

5. Pričný rez nervovými vláknami myší, ktorým bola aplikovaná ATG — Cross-section of the nerve fibres of mice treated with ATG

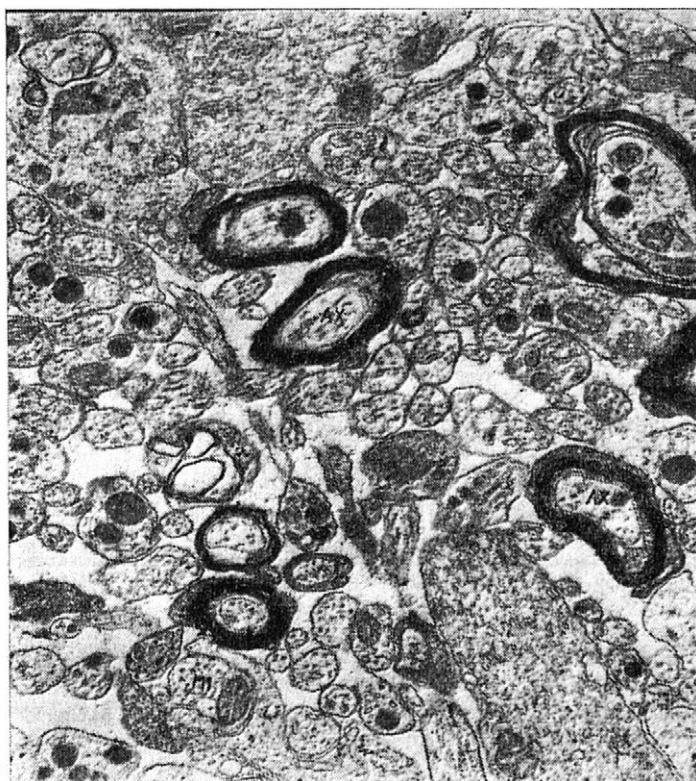
V strede elektronogramu vidieť nahromadené, tmavé denzné granulá (G); v synapsoch sa nachádzajú typické vezikuly (SY), ako aj denzné partikuly ohraničené membránou (EP); MI — mitochondrie (zväčšenie 36 900x)



jeme, že sa nachádzajú aj v extracelulárnych priestoroch, ktoré sú dilatované ich prítomnosťou a tiež sú zastúpené v nervových zakončeníach. Ich prítomnosť v niektorých elektronogramoch bola zastúpená difúzne takmer vo všetkých submikroskopických štruktúrach nami vyšetrovanej oblasti (obr. 4, 5, 6). Popísané elektrónnené partikuly zlata sme naproti tomu v žiadnom prípade nezistili v materiáli, ktorý bol odobratý od kontrolných zvierat (obr. 7).

6. Početné tmavé granulá (G) lokalizované v dilatovaných priestoroch medzi jednotlivými vláknami — Numerous dark granules (G) located in dilated spaces between fibres

Vo vláknach vidieť väčšie vakuolárne útvary (V); MI — mitochondrie; SY — synaptické vezikuly; NF — neurofilamenta (zvážšenie 51 600 X)



7. Priečny rez myelínovými a nemyelínovými nervovými vláknami kontrolných myší — Cross-section of the myelin and non-myelin nerve fibres of control mice

Na uvedenom obrázku sa nevyskútujú denzné granulá ako u pokusných zvierat; MI — mitochondrie; AX — myelínové vlákno (zvážšenie 36 900x)

Touto prácou sa nám podarilo dokázať množstvo denzných okrúhlych partikul, ktoré predstavujú zlato z preparátu aurothioglukóza. Zároveň sa nám podarilo dokázať jeho toxické pôsobenie na nervovú bunku, ako sme na to upozornili v prácach pri popise patohistologických afekcií (Šimková a i., 1967; Škarda, Konrád, 1975). V týchto štúdiách sme zistili dystrofické zmeny nervových buniek a rozpad nervových vlákien. V tejto práci sme dokázali, že naše tvrdenia sú správne a v predložených elektronogramoch vidíme tieto procesy v iniciálnych štádiách. Vidíme teda, že k toxickému poškodeniu nervovej bunky a rozpadu nervových vlákien dochádza pravdepodobne súčasne. Denzné okrúhle partikuly predstavujú tedy elektródenzné zlato. V tomto tvrdení sa môžeme oprieť tiež o prácu Marcaníka a Gerebtzoffa (1973), ktorí v hypotalamickej oblasti prítomnosť zlata po podaní ATG zistili histochemicky. Zistili ho hlavne v okolí hypotalamického ventromediálneho jadra, čiže v miestach, odkiaľ sme odoberali materiál pre zhotovenie ultratenkých rezov. V diskusii je treba zdôrazniť, že elektródenzné partikuly zlata prenikli po 24 hodinách hemoencefalitickými bariérami.

Literatúra

- IVANOV, J. F. — KOVALSKIJ, P. A.: Citologija, embryologija. Moskva, Kolos 1969.
 KARLSON, U. — SCHULTZ, R.: Fixation of the central nervous system for electron microscopy by aldehyde perfusion I. Preservation with aldehyde perfusates versus direct perfusion with osmium tetroxide with special reference to membranes and the extracellular space. J. Ultrastruct. Res., 12, 1965, s. 160-186.
 KURTZ, S. M.: Electron microscopic anatomy. New York - London, Acad. Press. 1961.
 MARCANÍK, J. — GEREBTZOFF, M. A.: Etude histoenzymologique des lésions hypothalamiques aiguës, chez la souris traitée par l'aurothioglucose. Acta neurol. belg., 73, 1973, s. 63-68.
 MATTHEWS, J. L. — MARTIN, J. H.: Atlas of human histology and ultrastructure. Philadelphia, Lea-Febinger 1971.
 PALADE, G. E.: A study of fixation for electron microscopy. J. exp. Med., 95, 1952, s. 285-298.
 REYNOLDS, E. S.: The use of lead citrate at high pH and electron opaque stain in electron microscopy. J. Cell. Biol., 17, 1963, s. 208-212.
 ŠIMKOVÁ, D. — ŠKARDA, R. — BOĐA, K.: Patohistologické afekcie hypotalamického ventromediálneho jadra a širšieho okolia po aplikácii aurothioglukózy u myší. Vet. Med., Praha, 12, 1967, č. 10, s. 557-560.
 ŠKARDA, R. — KONRÁD, V.: Zmeny na nervových vláknach v hypotalame myší alterovanom aurothioglukózou. Folia vet., Košice, 1975 (v tlači).
 WATSON, M. L.: Staining of tissue sections for electron microscopy with heavy metals. J. Biophys. Biochem. Cyt., 4, 1958, s. 475-478.

Došlo dňa 22. 11. 1976

ШКАРДА, Р. — МАРЦАНИК, Й. — БЕЛАК, М. (Ветеринарный институт, Кошице): Ультроструктурное изучение области гипоталамуса после аппликации ауротиоглюкозы у мышей. Vet. Med., Praha, 22, 1977 (10): 621-627.

Подопытным животным — самкам мышей — интраперитонеально подавали ауротиоглюкозу в дозе 1 мг на 1г живого веса. Спустя 24 часа животные были обезглавлены и из области гипоталамусного вентромедиального ядра были немедленно взяты образцы на ультра-

структурное обследование. В результате изучения 243 электронограмм от 8 экспериментальных животных нам удалось установить: 1. густые округлые частицы в диапазоне 0,034–0,016 μ , представляющие золото из препарата ауриотиоглюкозы; 2. паренхиматозную дистрофию митохондрий; 3. отслаивание отдельных слоев миелиновых влагалищ и их зернистость, что отвечает распаду нервных волокон.

гипоталамическое вентромедиальное ядро; мышь; ауриотиоглюкоза; ультраструктурные исследования

ŠKARDA, R. — MARCANÍK, J. — BELÁK, M. (University of Veterinary Medicine, Košice): *Ultrastructural Observation of the Hypothalamic Region after Application of Aurothioglucose to Mice*. Vet. Med., Praha, 22, 1977 (10) : 621-627.

Aurothioglucose dose of 1 mg g⁻¹ l. w. was applied intraperitoneally to experimental female mice. After 24 hours the animals were decapitated and samples for ultrastructural examination were immediately taken from the region of the hypothalamic ventromedial nucleus. The following findings were obtained from the study of 243 electronograms of 8 experimental animals: 1. dense round particles 0.034 to 0.016 μ in size, representing the gold of aurothioglucose; 2. parenchymatous dystrophy of the mitochondria; 3. peeling off of the individual layers of myelin sheath and the granularity of these layers corresponding to the disintegration of nerve fibres. hypothalamic ventromedial nucleus; mouse; aurothioglucose; ultrastructural observation

ŠKARDA, M. — MARCANÍK, J. — BELÁK, M. (Veterinärmedizinische Hochschule, Košice): *Ultrastrukturelle Untersuchung des hypothalamischen Raumes nach Anwendung der Aurothioglucose bei Mäusen*. Vet. Med., Praha, 22, 1977 (10) : 621-627.

Die Versuchstiere — Mäuseweibchen, wurden intraperitoneal mit Aurothioglucose in einer Gabe von 1 mg g⁻¹ Lebendmasse behandelt. Nach 24 Stunden wurden die Tiere dekapitiert und von dem Raum des hypothalamischen ventromedialen Kerns wurden sofort Proben für Ultrastrukturuntersuchung entnommen. Durch Untersuchung von 243 Elektronogrammen von 8 Experimentaltieren konnte folgendes festgestellt werden: 1. dichte rundliche Partikeln im Bereich von 0,034 bis 0,016 μ , die Gold aus dem Präparat Aurothioglucose darstellen; 2. parenchymatöse Dystrophie der Mitochondrien; 3. Ablösen der einzelnen Schichten der Myelinscheiden und deren Körnigkeit, was dem Zerfall der Nervenfasern entspricht.

hypothalamischer ventromedialer Kern; Maus; Aurothioglucose; ultrastrukturelle Untersuchung

Adresa autorov:

Doc. MVDr. Rudolf Škarda, CSc., MVDr. Jozef Marcaník, CSc., MVDr. Milan Belák, DrC., Vysoká škola veterinárska, Komenského 73, 041 81 Košice

Výběr z přírůstků
Ústřední zemědělské a lesnické knihovny ÚVTIZ
z úseku veterinární medicína

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

HANSSEN, J. T.

D 27.550/30

Nitrogenbalanse og proteinbehov hos raner. — Nitrogenbalance and protein requirement of boars.

Oslo, Norges landbrukshøgskole 1975. 9 s. 5 tab. Meldinger vol. 54, nr 30. (Bílkoviny — potřeba — kanci — výzkum — Norsko)

D 63.069/14

Fiziologija i biochimija energetičeskogo pitanja sel'skochozajstvennych životnych. Naučnyje trudy. Tom 14.

Borovsk, Vses. naučno-issled. inst. fiziologii, biochimii i pitanja sel'skochoz. životnych 1975. 400 s. obr. tab. (Energetická přeměna — hospodářská zvířata — fyziologie a biochemie — sborník — SSSR)

GARWACKI, S.

D 57.411/77

Wpływ głodzenia i zawartości białka w dawce pokarmowej na przemiany związków azotowych i energetycznych u bydła. (Souhrn rus., angl.).

Warszawa, Szkoła gl. gosp. wiew. 1976. 87 s. 23 obr. Rozprawy naukowe 77. (Látková přeměna — dusík — skot — krmení — bílkoviny — vliv — výzkum / Energetická přeměna — skot — krmení — bílkoviny — vliv — výzkum — Polsko)

E 38.479

Priloženije na bel'tačnite chidrolizati vāv veterinarnata medicina.

Sofija, Zemizdat 1976. 189 s. 48 obr. 40 tab. (Veterinární léčiva — bílkovinné hydrolyzáty — výzkum — Bulharsko)

D 65.481

Spravočnik preparatov primenajemych v veterinarii i životnovodstve

Kijev, Urožaj 1975. 350 s. (Veterinární léčiva — SSSR — příručka / Hormonální přípravky — příručka / Vitaminové přípravky — příručka / Veterinární léčiva — SSSR — seznamy)

MÜHL, T.

E 37.899/31

Der Einfluss eines Langzeitcorticosteroid Präparates (VOLON A 40) auf Gesamtleukozytenzahl, eosinophile Granulozyten, Differentialblutbild, Blutzucker, Gesamteiweiss, das Enzym Greatinkinase und die Elektrolyte Natrium und Kalium im Blutplasma beim Hund. Inaug.-Diss. d. Fachbereich Veterinärmedizin d. J. Liebig-Univ. Giessen.

Giessen, Medizin. und Gerichtl. Veterinärmedizin I. 1974. 67 s. gr. tab. (Hormonální přípravky — Volon A 40 — psi — krevní plazma — vztahy — výzkum — NSR — disertační práce)

STANOVENÍ REZIDUÍ CHLÓROVANÝCH PESTICIDŮ V POŽIVATINÁCH A LIDSKÝCH TUKOVÝCH TKÁNÍCH

H. Dubský, B. Rittich, H. Sommerová, V. Marek, K. Hána, S. Janoušek

DUBSKÝ, H. — RITTICH, B. — SOMMEROVÁ, H. — MAREK, V. — HÁNA, K. — JANOUŠEK, S. (Lékařská fakulta UJEP, Brno; Výzkumný ústav výživy zvířat, Pohořelice: Krajská hygienická stanice, Brno): *Stanovení reziduí chlórovaných pesticidů v poživatinách a lidských tukových tkáních*. Vet. Med., Praha, 22, 1977 (10) : 629-633.

Metodou plynové chromatografie s použitím detektoru elektronového záchytu byla stanovena rezidua chlórovaných pesticidů v krmivu pro nosnice, ve vejcích, drůbežích orgánech, bramborách, mouce a lidských tukových tkáních. Byla rovněž stanovena množství reziduí chlórovaných uhlovodíků v bramborách pro různé okresy Jihomoravského kraje. Množství HCH nalezená v lidských tukových tkáních jsou vyšší než v některých západoevropských zemích; obsah DDT je na stejné úrovni.

plynová chromatografie; chlórované uhlovodíky; lindan; DDT; potraviny; krmi-
va

S rozvojem intenzifikace zemědělství je spojeno pěstování zemědělských plodin v monokulturách, což je příčinou značného rozšíření škůdců. Tato skutečnost byla důvodem rozsáhlého chemického boje proti nim. Dlouhodobé používání pesticidů však přináší závažné problémy vzhledem k výskytu reziduí těchto látek v potravinách, konzumovaných člověkem. V popředí zájmu jsou rezidua u některých chlórovaných uhlovodíků, které pro svoji poměrnou chemickou stabilitu a schopnost kumulace v organismu představují značné nebezpečí pro lidské zdraví.

Četné práce našich autorů ukázaly, že problém reziduí chlórovaných pesticidů je aktuální i v ČSSR. Rezidua DDT byla nalezena v mléce (Hruška, 1969), DDT, DDE a γ -HCH zjistili Breyl a Krédl (1974) v tukové tkáni z vepřového masa, v sušených vejcích a v sýrech. Kontaminaci potravin chlórovanými pesticidy v SSR se zabývali Maďarič aj. (1975), Cmarko aj. (1975).

Závažnou skutečností je, že rezidua chlórovaných pesticidů byla rovněž nalezena v lidských tukových tkáních (Halačka a Vymětal, 1973; Breyl a Krédl, 1974; Cmarko aj. 1975).

MATERIÁL A METODA

Rezidua chlórovaných pesticidů byla stanovena metodou plynové chromatografie za použití detektoru elektronového záchytu Ni^{63} . Byl použit plynový chromatograf Pye Unicam, model GCV. Teplota detektoru byla 230 °C, teplota kolony 200 °C,

kolona byla skleněná (1,5 m x 4 mm), plněná Chromatonem N — AW DMCS (0,125 — 0,16 mm) s 3% OV — 101 jako zakotvenou fází. Průtok dusíku byl 60 ml min⁻¹. Při analýze bylo nastříkáváno 0,5 až 1,0 µl vzorku. Kvantita dělených látek byla zjišťována z kalibračního grafu. Před vlastní analýzou byly vzorky předčištěny na sloupci deaktivovaného kysličníku hlinitého (Sokolay aj., 1971). K analýze bylo bráno 0,3 g tukové tkáně, popřípadě u ostatních materiálů 1 g vzorku. Sloupec byl promyt 250 ml petroléteru, eluát odpařen na rotačním vakuovém odpařováku při teplotě 40 °C a opětovně rozpuštěn v 10 ml benzénu. Vzorky brambor pocházejí ze sklizně r. 1975, vzorky lidských tukových tkání byly odebírány na katedře soudního lékařství v průběhu let 1975—1976.

VÝSLEDKY

Stanovili jsme obsah reziduí chlórovaných pesticidů v krmivu pro nosnice, v drůbežích orgánech, vejcích, pšeničné mouce a v bramborách (tab. I). Při rozbořech brambor jsme sledovali obsah reziduí HCH a DDT v jednotlivých okresech Jihomoravského kraje, přičemž hlavní zřetel byl brán na nejdůležitější produkční oblasti (tab. II). Stanovili jsme také obsah reziduí chlórovaných pesticidů v lidských tukových tkáních (me-zenteriu) — (tab. III).

I. Stanovení reziduí chlórovaných pesticidů v poživatinách a drůbežích orgánech —
Determination of residues of chlorinated pesticides in food and poultry organs

Druh vzorku	Počet analyzovaných vzorků	Obsah γ -HCH mg na kg vzorku			Obsah DDT _{celk} mg na kg vzorku		
		min.	max.	med.	min.	max.	med.
Krmivo pro nosnice	5	0,017	0,134	0,052	0	0,023	0
Drůbeží břišní tuk	6	0	0,125	0,125	0	3,240	1,270
Vejce (žloutek)	8	0,010	0,150	0,030	0,026	0,088	0,040
Drůbeží játra	6	0	0,018	0	0	0,600	0,060
Drůbeží slezina	6	0	0,042	0	0,060	0,120	0,060
Pšeničná mouka	20	0	0,040	0	0	0	0
Brambory	45	0	0,064*)	0	0,310	0,950	0,530

$DDT_{celk} = 1,108 DDD + 1,114 DDE + DDT$

*) — nalezeno v šesti vzorcích

DISKUSE

Hodnoty námi stanovených reziduí chlórovaných pesticidů jsou uvedeny v tab. I až III. Souhrnné výsledky v tab. I jsou vyjádřeny ve formě minimálních a maximálních hodnot a mediánů. Mediánovým hodnotám jsme dali přednost před aritmetickými průměry vzhledem k různorodosti původu analyzovaných materiálů. Při analýze vajec a drůbežího břišního tuku jsme zjistili pík další látky — hexachlórbenzénu (HCB), který jsme však kvantitativně nevyhodnocovali pro možnou interferenci s α -HCH.

II. Stanovení reziduí chlórovaných pesticidů v bramborách v různých oblastech Jihomoravského kraje — Determination of residues of chlorinated pesticides in potatoes from different parts of the South Moravian Region

Okres	Počet analyzovaných vzorků	mg DDT _{celk} na kg vzorku		mg γ -HCH na kg vzorku	
		min.	max.	min.	max.
Jihlava	8	0,31	0,62		0,410*)
Znojmo	7	0,40	0,61		0
Hodonín	3	0,61	0,62		0
Břeclav	3		0,61		0
Žďár nad Sázavou	8	0,59	0,71	0,044	0,049**)
Třebíč	6	0,40	0,61	0,033	0,063**)
Blansko	4	0,43	0,62		0
Brno-venkov	4	0,59	0,60		0,064*)
Obchodní síť	4	0,64	0,95		0

DDT_{celk} = 1,108 DDD + 1,114 DDE + DDT

*) — nalezeno v jednom vzorku

**) — nalezeno ve dvou vzorcích

III. Obsah reziduí chlórovaných pesticidů v lidských tukových tkáních — Amount of residues of chlorinated pesticides in human fat tissues

Země	Počet analyzovaných vzorků	Obsah β -HCH mg na kg tuku	Obsah DDT _{celk} mg na kg tuku
Švýcarsko	12	0,90	3,785
NSR	20	0,45	3,550
Velká Británie	200	0,27	2,510
Francie	100	—	3,350
Itálie	85	—	13,300
USA	200	0,30	9,920
Japonsko	241	1,28	2,510
Naše výsledky	13	2,55—20,95*)	2,26—3,97

DDT_{celk} = 1,108 DDD + 1,114 DDE + DDT

*) — stanoveno jako suma β -HCH + γ -HCH

V bramborách byla převážně nalezena rezidua DDT a DDE, jen v ojedinělých případech γ -HCH. Obsah reziduí chlórovaných pesticidů je na stejné úrovni jako v Západoslovenském kraji (Uhnáková aj., 1975).

V lidských tukových tkáních — ve srovnání s ostatními uvedenými zeměmi (tab. III) — byl nalezen vyšší obsah celkového HCH. Obsah DDT je přibližně stejný jako ve většině západoevropských států (Zimmerli a Marek, 1973). Stanovené obsahy reziduí souhlasí s hodnotami publikovanými Cmarkem aj. (1975) i Rozsivalem a Szó-

kolayem (1975). Je velmi pozoruhodné, že rezidua DDT v lidských tukových tkáních byla nalezena pouze ve formě metabolitu DDE, což svědčí o delším procesu metabolizace.

Literatura

- ARBETOVÁ, D. — UHNÁK, J. — MAHELOVÁ, H. — SKUPEŇOVÁ, V.: Kontaminácia potravinového reťazca chlórovanými insekticídmí na strednom Slovensku. Čs. Hyg., 20, 1975, č. 8, s. 359-368.
- BREYL, I. — KRÉDL, F.: Chlorované pesticidy v potravinách živočišného pôvodu. Vet. Med., Praha, 19, 1974, č. 2 — 3, s. 121-126.
- CMARKO, V. — ROZSIVAL, L. — SZOKOLAY, A. — UHNÁK, J. — ARBETOVÁ, D.: Expozícia človeka DDT a izomérom BHC v nížinnej a podhorskej oblasti Slovenska. Čs. Hyg., 20, 1975, č. 4, s. 187-193.
- HALÁČKA, K. — VYMĚTAL, F.: Sledování retence DDT a DDE v lidské tukové tkáni v několikaletém odstupu. Čs. Hyg., 18, 1973, č. 8, s. 372-376.
- HRUŠKA, J.: Rezidua DDT v mléce, másle a v loji skotu. Veterinářství, 19, 1969, č. 12, s. 493-498.
- MAĐARIČ, A. — PAJED, I. — HERMELY, V. — DOKTOROVÁ, S.: Kontaminácia potravinového reťazca chlórovanými insekticídmí na východnom Slovensku. Čs. Hyg., 20, 1975, č. 8, s. 369-376.
- ROZSIVAL, L. — SZOKOLAY, A.: Hygienické hodnotenie expozície človeka DDT a HCH. Čs. Hyg., 20, 1975, č. 8, s. 385-394.
- SZOKOLAY, A. — MAĐARIČ, A. — UHNÁK, J. — SACKMAUEROVÁ, M.: Univerzálna metóda identifikácie a semikvantitatívneho stanovenia reziduí chlórovaných uhľovodíkov v potravinách rastlinného a živočišného pôvodu, v krmivách a pod. Čs. Hyg., príloha, 1971, s. 10.
- UHNÁK, J. — SACKMAUEROVÁ-TIBENSKÁ, M. — PALUŠOVÁ, O.: Kontaminácia potravinového reťazca chlórovanými insekticídmí v oblasti Bratislavy. Čs. Hyg., 20, 1975, č. 8, s. 377-384.
- ZIMMERLI, B. — MAREK, B.: Die Belastung der schweizerischen Bevölkerung mit Pesticiden. Torv. Chim. al. Hyg., 64, 1973, č. 4, s. 459-479.

Došlo dne 26. 11. 1976

ДУБСКИ, Г. — РИТТИХ, Б. — СОММЕРОВА, Г. — МАРЕК, В. — ГАНА, К. — ЯНОУШЕК, С. (Медицинский факультет УЯЕП, Брно; Научно-исследовательский институт питания животных, Погоржелице; Областная санитарно-гигиеническая станция, Брно): Установление остатков хлорированных пестицидов в пищевых продуктах и в жировых тканях человека. Vet. Med., Praha, 22, 1977 (10) : 629-633.

Методом газовой хроматографии с применением детектора электронного захвата устанавливалось содержание остатков хлорированных пестицидов в кормах для несушек, в яйцах, птичьих органах, картофеле, муке и в жировых тканях человека. Определялось также количество остатков хлорированных углеводов в картофеле для разных районов Южноморавской области. Количество установленных остатков НСН в человеческих жировых тканях выше, чем указывается в некоторых западноевропейских странах; содержание ДДТ на одинаковом уровне.

газовая хроматография; хлорированные углеводы; линдан; ДДТ; пищевые продукты; корма

DUBSKÝ, H. — RITTICH, B. — SOMMEROVÁ, H. — MAREK, V. — HÁNA, K. — JANOUSEK, S. (Faculty of Medicine of the University of J. E. Purkyně, Brno; Research Institute of Animal Nutrition, Pohorčelice; Regional Hygienic Station, Brno): Determination of Chlorinated Pesticides in Food and Human Fat Tissues. Vet. Med., 22, 1977 (10) : 629-633.

Residues of chlorinated pesticides in feed for laying hens, in eggs, poultry organs, potatoes, flour, and human fat tissues were determined by means of gas chromatography using electron recording detector. Further the amount of chlorinated hydro-

carbon residues in potatoes from various parts of the South Moravian Region was stated. HCH amounts in human fat tissues recorded in Czechoslovakia were higher than in some West European countries, DDT content being, however, on the same level.

gas chromatography; chlorinated hydrocarbons; lindane; DDT; food; feeds

DUBSKÝ, H. — RITTICH, B. — SOMMEROVÁ, H. — MAREK, V. — HÁNA, K. — JANOUŠEK, S. (Universität J. E. Purkyně, Medizinische Fakultät Brno; Forschungsinstitut für Tierernährung, Pohořelice; Hygienische Bezirksstation, Brno): *Die Bestimmung von Residuen der chlorierten Pestizide in den Nahrungsmitteln und in menschlichen Fettgeweben*. Vet. Med., Praha, 22, 1977 (10) : 629-633.

Mittels der Methode der Gaschromatographie unter der Verwendung eines Detektors des Elektroneneinfangs bestimmte man Residuen der chlorierten Pestizide im Futtermittel für Legehennen, in Eiern, Geflügelinnereien, Kartoffeln, im Mehl und in menschlichen Fettgeweben. Man ermittelte auch die Mengen von Residuen der chlorierten Kohlenwasserstoffe in Kartoffeln für verschiedene Kreise des Südmährischen Bezirkes. Die HCH-Mengen der menschlichen Fettgewebe sind höher, als in einigen westeuropäischen Ländern; der DDT-Gehalt steht auf demselben Niveau.

Gaschromatographie; chlorierte Kohlenwasserstoffe; Lindan; DDT; Nahrungsmittel; Futtermittel

Adresy autorů:

RNDr. Hannel Dubský, CSc., ing. Karel Hána, prof. MUDr. Stanislav Janoušek, CSc., lékařská fakulta Univerzity J. E. Purkyně, Tvrdeho 2a, 602 00 Brno
Ing. Bohuslav Rittrich, CSc., RNDr. Hana Sommerová, Výzkumný ústav výživy zvířat, 691 23 Pohořelice
RNDr. Vladimír Marek, Krajská hygienická stanice, Rybářská 45/47, 603 00 Brno

Výběr z přírůstků
Ústřední zemědělské a lesnické knihovny ÚVTIZ
z úseku veterinární medicína

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

ŠAMBEREV, J. N. E 23.614/47

Vlijanije gormonov na obmen veščestv i produktivnosť životnyh.

Moskva, MSCh SSSR — VNIITEISCH 1975. 82 s. 9 tab. Obzornaja informacija 47. (Hormonální přípravky — látková přeměna — hospodářská zvířata — vztahy — studijní zpráva — SSSR)

MERZEREAU, F. A. H.

D 38.168/1976/53

Les antihistaminiques et leurs indications en pathologie des carnivores domestiques. Thèse devant l'Université Paul-Sabatier de Toulouse.

Toulouse, n. vl. 1976. 64 + VI s. École nat. vétér. 1976/53. (Masožravci domácí — nemoci — léčení — antihistaminika — použití — výzkum — Francie — disertační práce)

WILKE, H.

E 38.066/75

Untersuchungen über die Verwendbarkeit und Mischgenauigkeit von hofeigenden Mischern zur Herstellung von Medizinalfuttermitteln. Inaug.-Diss. d. Tierärztl. Hochschule Hannover.

Hannover, Tierärztl. Hochschule 1975. 69 s. obr. tab. (Krmiva — veterinární léčiva — míchání — metody — výzkum — NSR — disertační práce)

E 53.130/114

Lauksaimniecibas dzivnieku slizibu profilakse un arstešana. Profilaktika i leņienje boleznej seļskochozjajstvennyh životnyh.

Jelgava, Latv. seļskochoz. akad. 1977. 66 s. obr. tab. (Veterinární terapie — sborník — SSSR — Lot. SSR / Veterinární profylaktika — sborník / Veterinární prevence — sborník — SSSR — Lot. SSR)

Trichinellez.

D 65.855

Moskva, Kolos 1976. 334 s. obr. tab. Naučnyje trudy VASCHNIL. (Veterinární profylaktika — trichinelóza — sborník / Veterinární terapie — trichinelóza — sborník — SSSR)

BEER, J. — HUBRIG, Th.

D 37.699/14/3

Grundlagen der nadellosen Immunisierung landwirtschaftlicher Nutztiere.

Berlin, DALW 1976. 41 s. Fortschrittsberichte für die Landwirtschaft 14/3. (Vakcinace aerosolová — hospodářská zvířata)

ARAMBARRI, R.

E 37.765

De quelques points d'acupuncture et de l'analgesie acupuncturale chez les animaux domestiques.

Toulouse, École Nationale Veterinaire 1975. 55 s. 9 obr. tab. (Hospodářská zvířata — akupunktura — použití — výzkum — Argentina + Francie)

OLOVO V ORGÁNOCH A TKANIVÁCH JATOČNÉHO HOVÄDZIEHO DOBYTKA AKO DÔSLEDOK ZNEČIŠŤOVANIA PROSTREDIA

P. Kačmár, O. Blochová, A. Šamo

Venované k 50. narodeninám prof. MVDr. K. Bođu, DrSc.

KAČMÁR, P. — BLOCHOVÁ, O. — ŠAMO, A. (Vysoká škola veterinárska, Košice): *Olovo v orgánoch a tkanivách jatočného hovädzieho dobytká ako dôsledok znečisťovania prostredia*. Vet. Med., Praha, 22, 1977 (10) : 635-640.

Boli stanovené normálne hodnoty olova v orgánoch a tkanivách klinicky zdravého jatočného hovädzieho dobytká metódou atómovej absorpčnej spektrofotometrie a polarograficky. Zvieratá rôznych vekových kategórií pochádzali z rôznych hospodárstiev Východoslovenského kraja. Olovo v pečeni mladého hovädzieho dobytká na výkrm nebolo polarograficky stanovené, respektíve jeho koncentrácia bola pod hranicou citlivosti použitej metódy (1,0 ppm). U vekove staršej kategórie zvierat (4–16-ročné dojnice) boli stanovené metódou atómovej absorpčnej spektrofotometrie tieto hodnoty olova: pečeň ($n = 76$) 1,4 ppm, kôra obličiek ($n = 51$) 1,5 ppm, kostné tkanivo ($n = 37$) 3,3 ppm, svalovina ($n = 24$) 1,0 ppm. V analyzovaných tkanivách zvierat pochádzajúcich z rôznych lokalít bol obsah olova rozdielny. Koncentrácia olova ako nebiogénneho prvku v orgánoch a tkanivách jatočného hovädzieho dobytká sa pripisuje predovšetkým znečisťovaniu vonkajšieho prostredia. Stanovené normálne koncentrácie olova sú využiteľné pri chemickej diagnostike otráv a pri posudzovaní hygienickej nezávadnosti potravín živočíšneho pôvodu.

olovo; orgány a tkanivá; intoxikácia; laboratórna diagnostika; znečisťovanie prostredia; hygiena potravín

Olovo sa stanovuje citlivými analytickými metódami vo všetkých zložkách vonkajšieho prostredia: v pôde, vo vode i v ovzduší. Ako nebiogénny prvok je vždy olovo prítomné v rastlinnom a živočíšnom organizme, ako aj v organizme človeka (Stewart, Stollmann, 1960). Toxikologický význam má jednak samotné olovo, ale tiež aj jeho niektoré zlúčeniny, hlavne kysličníky.

Veterinárni lekár, na rozdiel od humánnej toxikológie, prichádza do styku prevažne len s akútnymi intoxikáciami olovom. V našich podmienkach býva príčinou otráv zvierat najčastejšie olizanie čerstvých mŕtvých náterov, prípadne prijatie krmiva a vody, ktoré sú náhodile kontaminované zlúčeninami olova (Knesl, 1963; Denz, Czarnowski, 1970; Beseda, 1971; Čada, 1973; Bohosiewicz a i., 1974; Kačmár, 1974). Nezanedbateľné je aj znečisťovanie biosféry výfukovými splodinami spaľovacích motorov v blízkosti autostrád a ostatných vysokofrekventovaných ciest (Del Bono, 1973; Kopp, 1974), a tým aj následná kontaminácia rastlín (Skaar a i., 1973), zvierat (Buck, 1970) a ľudí (Stegavik a i., 1976).

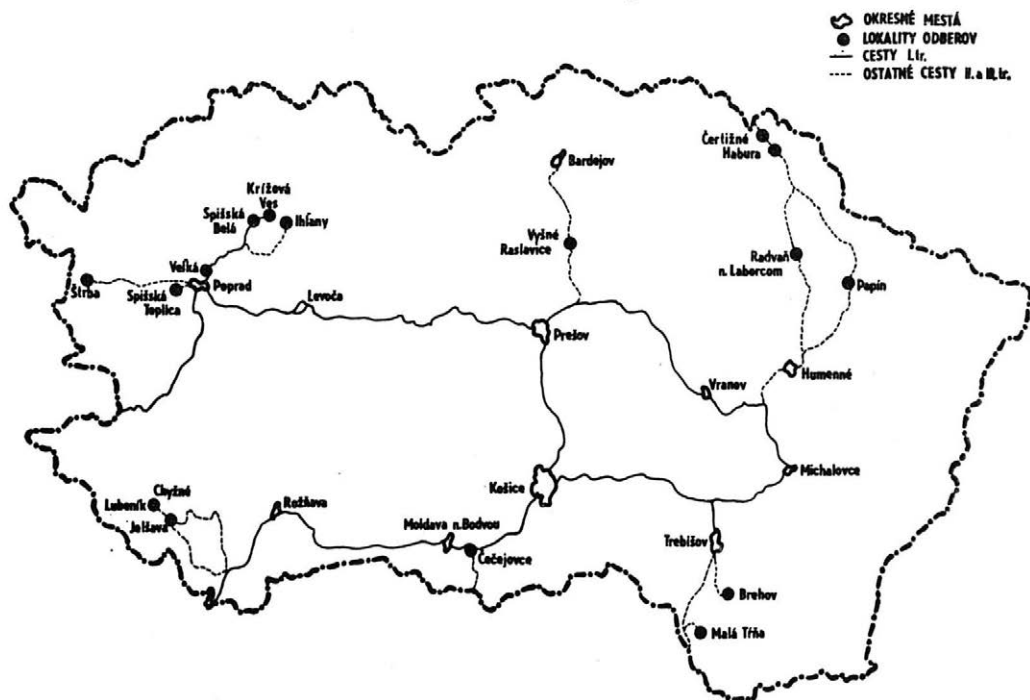
Cieľom našej práce bolo stanoviť normálny obsah olova v orgánoch a tkanivách jatočného hovädzieho dobytká v znečistenom prostredí Východoslovenského kraja.

MATERIÁL A METÓDA

Na chemické vyšetrenie boli použité vzorky pečene, kôry obličiek, kostrovej svaloviny a kostí z práve odporazeneho klinicky zdravého hovädzieho dobytku rôznych vekových kategórií a pochádzajúceho z rôznych hospodárstiev Východoslovenského kraja (obr. 1). Boli volené také lokality, aby sme obsiahli frekventované cestné ťahy a miesta s dopravou lokálneho významu.

Olovo bolo stanovené metódou atómovej absorpčnej spektrofotometrie (AAS) alebo polarograficky po predchádzajúcej mineralizácii vzoriek mokrou cestou (spalovanie v zmesi koncentrovanej $\text{H}_2\text{SO}_4 + \text{HNO}_3$ 1:2,5). Polarografické stanovenie sa robilo v prostredí 0,1 N HCl. Na meranie hodnôt olova metódou AAS bolo použité zariadenie fy Varian Techtron 1200.

VÝCHODOSLOVENSKÝ KRAJ

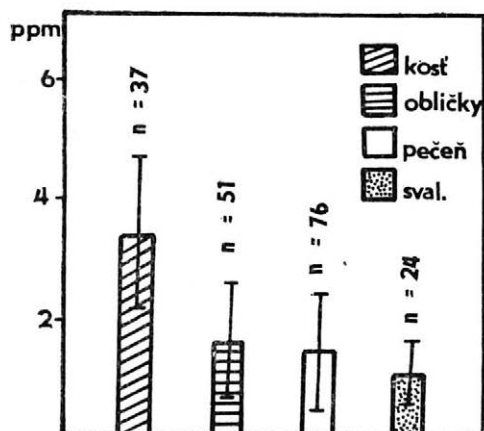


1. Miesta odberu vzoriek — The places of sample collection

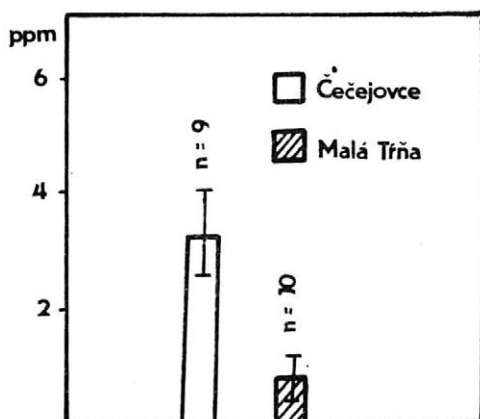
VÝSLEDKY

V pečeni mladého hovädzieho dobytku na výkrm ($n = 30$) boli polarograficky zistené nižšie hodnoty olova, ako je hranica citlivosti použitej polarografickej metódy (1,0 ppm).

U vekove staršej kategórie zvierat (dojnice od 4 do 16 rokov) boli metódou atómovej absorpčnej spektrofotometrie v analyzovaných tkanivách stanovené tieto hodnoty olova: kosti 3,3 ppm, kôra obličiek 1,5 ppm, pečeň 1,4 ppm, svalovina 1,0 ppm (obr. 2).



2. Normálna koncentrácia olova v tkanivách hovädzieho dobytku — Normal lead concentration in the tissues of cattle



3. Obsah olova v závislosti od rozdielnosti lokalít odberu — The content of lead as depending on the place where the sample was collected

DISKUSIA

Z analyzovaných vzoriek malo najvyššiu koncentráciu olova kostné tkanivo. Približne polovičná hodnota bola stanovená v kôre obličiek a v pečeni. Je to v zhode s údajmi Allcrofta (1951), ktorý uvádza, že pri chronickom zafažení organizmu nepatrnými množstvami olova sa ho najviac ukladá v kostiach, menej v pečeni a v obličkách. Relatívne vysoká koncentrácia olova v pečeni a v obličkách je pravdepodobne spojená s ich exkretórnou funkciou.

Nami stanovené hodnoty olova v pečeni, v svalovine a v obličkách

I. Obsah olova (ppm) u hovädzieho dobytku podľa rôznych autorov — The content of lead (ppm) in cattle as determined by different authors

Kategória zvierat	Tkanivo			Autor
	svalovina	pečeň	obličky	
Dospelý hovädzí dobytok	0,060—0,450	—	—	Lehnert (1969)
Teľatá	0,037—0,046	0,046	—	Lehnert (1969)
Dospelý hovädzí dobytok	0,020—0,160	0,29—0,40	0,32	Mirna (1972)
Dospelý hovädzí dobytok	0,070—0,160	—	—	Bergner (1968)
Teľatá	—	0,550	—	Beseda (1971)
Dospelý hovädzí dobytok	0,420	0,230	0,42	Grahrovit (1972)
Dospelý hovädzí dobytok	1,000	1,400	1,50	nami stanovené

klinicky zdravého hovädzieho dobytku sa v značnej miere líšia od údajov iných autorov (tab. I).

Skutočnosť, že v tkanivách (pečeň) zvierat pochádzajúcich z lokality (Čečejevice) v bezprostrednej blízkosti hlavnej cestnej siete boli stanovené až štvornásobne vyššie hodnoty olova oproti jeho obsahu u zvierat z hospodárstiev mimo frekventovanejších cestných ťahov, nasvedčuje tomu, že hlavným zdrojom olova sú tu pravdepodobne výfukové plyny (obr. 3). Nezanedbateľný je však aj výskyt olova v pôde a v rastlinách, priemyselné emisie a pod. Preto pri interpretácii výsledkov musíme mať vždy na zreteli širokú škálu možných zdrojov znečistenia prostredia olovom.

Z hľadiska laboratórnej diagnostiky sú cenné údaje Garnera (1967) a Allcrofta (1951), ktorí uvádzajú, že obsah olova v pečeni nad 10 ppm slúži ako podklad pre usudzovanie na otravu olovom, hodnoty od 10 do 25 ppm svedčia pre vážne podozrenie z otravy a hladina nad 25 ppm je potvrdením intoxikácie olovom. Výsledky iných autorov sa od týchto zistení tiež nelíšia (Beseda, 1971; Williams, 1974; Bohosiewicz a i., 1974). Tieto údaje sa zhodujú aj s našim nálezom pri hromadnej perorálnej otrave mýniom, kedy obsah olova v pečeni uhynutých teliat presahoval hodnotu 28 ppm (Kačmár, 1974).

Z našich výsledkov vyplýva, že ani v jednom z analyzovaných tkanív obsah olova nepresahoval hodnotu 4 ppm, takže vo vyšetrovaných lokalitách Východoslovenského kraja ešte olovo nie je v nepriaznivých koncentráciách.

V práci uvádzané koncentrácie olova v orgánoch a tkanivách jatočného hovädzieho dobytku predstavujú normálne hodnoty, ktoré sú východiskovými údajmi pre chemickú diagnostiku otráv olovom a pri posudzovaní hygienickej nezávadnosti potravín živočíšneho pôvodu.

Literatúra

- ALLCROFT, R.: Lead poisoning in cattle and sheep. *Vet. Rec.*, 63, 1951, č. 37, s. 583-590.
- BESEDA, I.: Príspevok k problematike otráv hospodárskych zvierat olovom a jeho polarografické stanovenie v biologickom materiáli. *Veterinárství*, XXI, 1971, č. 2, s. 81-84.
- BERGNER, K. G. — HALLER, H. E.: Über das natürliche Vorkommen von Arsen, Blei, Cadmium, Selen, Zink und Zinn in Lebensmitteln. *Mitt. Bl. D. GDCh Fachr. Lebensmittelchem. gerichtl. Chem.*, 18, 1968, s. 113-124.
- BOHOSIEWICZ, M. a i.: Zatrúenie bydlia výsledkami — buracznymi zanieczyszczonymi ołowiem. *Medycyna wet.*, XXX, 1974, č. 3, s. 160-161.
- BUCK, W. B.: Lead and organic pesticide poisonings in cattle. *J. Am. vet. med. Ass.*, 156, 1970, č. 10, s. 1468-1472.
- ČADA, F.: Dva prípady otravy norkú olovom z náterových hmot na železo. *Veterinárství*, XXIII, 1973, č. 5, s. 228.
- DEL BONO, G.: Saturnismo del bovino, rilievo epidemiologici ed anatomo — istopatologici. *Atti Soc. ital. Sci. vet.*, XXVII, 1973, s. 27-30; s. 552-556.
- DENZ, Z. — CZARNOWSKI, A.: Zatrúenie krów ołowiem. *Medycyna wet.*, XXVI, 1970, č. 7, s. 412-413.
- GARNER, R. J.: *Veterinary toxicology*. 1967, s. 91-98.
- GRAHRVIT, G.: Untersuchungen über den Gehalt an toxischen Schwermetallen in Organen normal geschlechteter Tiere. *Volräufige Mitteilung: Blei in Rinderorganen*. *Arch. Lebensmittelhyg.*, 23, 1972, č. 10, s. 213-215.
- KAČMÁR, P.: Prípád hromadnej otravy olovom u teliat na JRD Nová Myšľa. 1974 — nepublikované.

- KNESL, M.: Otrava teliat olovom spôsobená náterovou farbou. Veterinárství, 13, 1964, s. 182-183.
- KOPP, CH.: Blei in Pflanzen und Tieren. Tierärztl. Umsch., 29, 1974, č. 5, s. 273-275; č. 6, s. 318-323; č. 7, s. 381-384.
- JEHNERT, G.: Usuelle Bleibelastung durch Nahrungsmittel und Getränke. Arch. Hyg. Bakt., 153, 1969, č. 5, s. 403-412.
- MIRNA, A.: Zum Proben umweltbedingter Rückstände im Fleisch. Fleischwirtschaft, 52, 1972, č. 3, s. 321-325.
- SKAAR, H. a i.: Lead accumulation within nuclei of moss leaf cells. Nature, 241, 1973, s. 215-216.
- STEGAVIK, K. a i.: Determination of lead in human lungs by direct flameless atomic absorption analysis of small tissue samples. Bull. envir. Contam. Toxicol., 15, 1976, č. 6, s. 734-738.
- STEWART, C. P. — STOLMAN, A.: Toxicology: Mechanism and analytical methods I. 1960, s. 215-217.
- WILLIAMS, S. W. — WILLIAMS, B. S.: Lead poisoning in cattle. Southwest. veter., XXV, 1974, č. 4, s. 304-305.

Došlo dňa 22. 11. 1976

KAČMAR, P. — БЛОХОВА, О. — ШАМО, А. (Ветеринарный институт, Кошице): Свинец в органах и тканях убойного крупного рогатого скота как следствие загрязнения окружающей среды. Vet. Med., Praha 22, 1977 (10): 635-640.

Определяли нормальные значения свинца в органах и тканях клинически здорового убойного крупного рогатого скота методом атомной абсорбционной спектрофотометрии, а также полярографическим методом. Животные разных возрастных категорий происходили из разных хозяйств Восточнословацкой области. Свинец в печени откормочного молодняка крупного рогатого скота полярографически не был установлен, вернее его концентрация была ниже границы чувствительности примененного метода (1,0 ppm). У старшей возрастной категории животных (4-16-летние) методом атомной абсорбционной спектрофотометрии были установлены следующие значения свинца: печень ($n = 76$) 1,4 ppm, кора почек ($n = 51$) 1,5 ppm, костная ткань ($n = 37$) 3,3 ppm, мышечная ткань ($n = 24$) 1,0 ppm. В анализированных тканях животных, происходящих из разных местностей, содержание свинца было различное. Концентрация свинца как небактериального элемента в органах убойного крупного рогатого скота приписывается, прежде всего, загрязнению окружающей среды. Установленные нормальные концентрации свинца используются при химической диагностике отравлений и при оценке санитарной безупречности пищевых продуктов животного происхождения.

свинец; органы и ткани; интоксикация; лабораторная диагностика; загрязнение окружающей среды; гигиена пищевых продуктов

KAČMÁR, P. — BLOCHOVÁ, O. — ŠAMO, A. (University of Veterinary Medicine, Košice): Lead in the Organs and Tissues of Slaughter Cattle as a Result of Environment Pollution. Vet. Med., Praha, 22, 1977 (10): 635-640.

The normal values of lead in the organs and tissues of clinically healthy slaughter cattle were determined by the method of atomic absorption spectrophotometry and by the polarographic method. Animals of various age categories came from several farms of the East-Slovakian region. The lead found in the liver of young fattened cattle was not determined polarographically, since its concentration was under the threshold of sensitivity of the method (1.0 ppm). In the older category of animals (4-16 years old dairy cows) the following lead levels were revealed by the method of atomic absorption spectrophotometry: liver: ($n = 76$) 1.4 ppm, kidney cortex ($n = 51$) 1.5 ppm, bone tissue ($n = 37$) 3.3 ppm, muscle ($n = 24$) 1.0 ppm. The animals coming from different places had diverse amounts of lead in their tissues. The fact that the organs and tissues of slaughter cattle contained lead as a non-biogenic element is attributed mainly to environment pollution. The normal concentrations of lead, as determined in our study, can be used in chemical diagnosis of poisoning and in the evaluation of the hygienic safety of foodstuffs of animal origin.

lead; organs and tissues; intoxication; laboratory diagnosis; environment pollution; hygiene of foodstuffs

KAČMÁR, P. — BLOCHOVÁ, O. — ŠAMO, A. (Veterinärmedizinische Hochschule, Košice): *Blei in Organen und Geweben von Schlachtrind als Folge der Umweltverunreinigung*. Vet. Med., Praha, 22, 1977 (10) : 635-640.

Mit der Methode der Atomabsorptionsspektrophotometrie und polarographisch wurden in Organen und Geweben bei klinisch gesundem Schlachtrind normale Werte für Blei bestimmt. Tiere verschiedener Alterskategorien stammten aus verschiedenen Betrieben des Ostslowakischen Bezirks. Blei in der Leber aus jungem Mast-rind konnte polarographisch nicht bestimmt werden, bzw. seine Konzentration lag unter der Empfindlichkeitsgrenze der angewandten Methode (1,0 ppm). Bei der höheren Alterskategorie der Tiere (4–16-jährige Milchkühe) konnten mit der Methode der Atomabsorptionsspektrophotometrie die folgenden Werte für Blei bestimmt werden: Leber ($n = 76$) 1,4 ppm, Nierenrinde ($n = 51$) 1,5 ppm, Knochengewebe ($n = 37$) 3,5 ppm, Muskulatur ($n = 24$) 1,0 ppm. In den analysierten Geweben der aus verschiedenen Lokalitäten stammenden Tiere war der Bleigehalt unterschiedlich. Konzentration von Blei als eines nicht biogenen Elements in Organen und Geweben bei Schlachtrind wird von allem der Umweltverunreinigung zugeschrieben. Die bestimmten normalen Bleikonzentrationen sind bei chemischer Diagnostik der Vergiftungen und bei Beurteilung der hygienischen Einwandfreiheit der Lebensmittel tierischer Abstammung ausnutzbar.

Blei; Organe und Gewebe; Intoxikation; Labordiagnostik; Umweltverunreinigung; Lebensmittelhygiene

Adresa autorů:

Doc. MVDr. Peter Kačmár, CSc., MVDr. Olga Blochová, MVDr. Alexander Šamo, Vysoká škola veterinárská, Komenského 71, 040 01 Košice

Rukopis odevzdán k tisku 9. 8. 1977 — Podepsáno k tisku 9. 12. 1977

OBSAH

Zuffa A., Chumchal R., Menšík J.: Imunofluorescencia s vírusom PI-3 — príprava a vyhodnotenie konjugátov z imúnnych sér viacerých druhov zvierat	577
Izák Š., Hrušovská K.: Forssmanov heterogénny antigén a jeho dôkaz v svalovine oviec	589
Chyla M., Vrzgula L.: Acidobázické ukazovatele krvi mozgomiešneho kvorku oviec	593
Mesároš P., Gamčík P., Schvarc F.: Prežiteľnosť spermií barana pri použití rôznych druhov riedidiel po hlbokom zmrazení v tekutom dusíku	599
Dušek J.: Hladina fibrinogenu u klinicky zdravých koní	605
Beseda I., Rippel A., Kováč J., Monišová M.: Mikroelementy v pečeni a obličke nosníc v súčasných podmienkach veľkochovov pri ich normálnom, ako aj zvýšenom prúde do organizmu	613
Škarda R., Marčaník J., Belák M.: Ultraštruktúrne pozorovanie hypotalamickej oblasti po aplikácii aurothioglukózy u myši	621
Dubský H., Rittich B., Sommerová H., Marek V., Hána K., Janoušek S.: Stanovení reziduí chlórovaných pesticidů v požívatínách a lidských tukových tkáních	629
Kačmár P., Blochová O., Šamo A.: Olovo v orgánech a tkanivách jatového hovädzieho dobytku ako dôsledok znečisťovania prostredia	635

СОДЕРЖАНИЕ

Жуффа А., Хумчал Р., Меншик Й.: Иммунофлуоресценция с вирусом PI-3 — приготовление и оценка конъюгатов из иммунных сывороток некоторых видов животных	577
Изак Ш., Грушовска К.: Гетерогенный антиген Форссмана и его доказательство в мышечной ткани овец	589
Хила М., Врзгула Л.: Кислотощелочные показатели крови и спинномозговой жидкости овец	593
Месарош П., Гамчик П., Шварц Ф.: Выживаемость сперматозоидов барана при применении разных видов разбавителей после глубокого замораживания в жидком азоте	599
Душек Я.: Уровень фибриногена у клинически здоровых лошадей	605
Бесед И., Риппел А., Ковач Й., Моношова М.: Микроэлементы в печени и почке кур в современных условиях промышленного птицеводства при их нормальном и повышенном введении в организм	613
Шкарда Р., Марцаник Й., Белак М.: Ультроструктурное изучение области гипоталамуса после аппликации аурутиоглюкозы у мышей	621
Дубский Г., Риттих Б., Соммерова Г., Марек В., Гана К., Яноушек С.: Установление остатков хлорированных пестицидов в пищевых продуктах и в жировых тканях человека	629
Качмар П., Блохова О., Шамо А.: Свинец в органах и тканях убойного крупного рогатого скота как следствие загрязнения окружающей среды	635

CONTENTS

Zuffa A., Chumchal R., Menšík J.: Immunofluorescence with PI-3 Virus-Preparation and Evaluation of Conjugates from Immune Sera of Different Animal Species	577
Izák Š., Hrušovská K.: The Forssman's Heterogenous Antigen and its Demonstration in Sheep Muscle Tissue	589
Chyla M., Vrzgula L.: Acid-Base Indices in Sheep Blood and Cerebrospinal Fluid	593
Mesároš P., Gamčík P., Schvarc F.: Ram Sperm Survival with the Use of Various Diluents after Deep-Freezing in Liquid Nitrogen	599
Dušek J.: Fibrinogen Level in Clinically Healthy Horses	605
Beseda I., Rippel A., Kováč J., Monišová M.: Microelements in the Liver and Kidney of Laying Hens Kept on Large-Capacity Poultry Farms: Normal and Increased Microelement Supply to the Organism	613
Škarda R., Marčaník J., Belák M.: Ultrastructural Observation of the Hypothalamic Region after Application of Aurothiogluucose to Mice	621
Dubský H., Rittich B., Sommerová H., Marek V., Hána K., Janoušek S.: Determination of Chlorinated Pesticides in Food and Human Fat Tissues	629
Kačmár P., Blochová O., Šamo A.: Lead in the Organs and Tissues of Slaughter Cattle as a Result of Environment Pollution	635

INHALT

Žuffa A., Chumchal R., Menšík J.: Die Immunofluoreszenz mit dem Virus PI-3 – die Herstellung und Auswertung von Konjugaten aus immunen Seren mehrerer Tierarten	577
Izák Š., Hrušovská K.: Das heterogene Antigen von Forssman und dessen Nachweis im Muskelfleisch der Schafe	589
Chyla M., Vrzgula L.: Die azidobasischen Kennwerte des Blutes und des Hirn-Rückenmark-Liquors bei Schafen	593
Mesároš P., Gamčík P., Schvarc F.: Die Fähigkeit des Überlebens von Schafbockspermien unter Verwendung verschiedener Lösungsmittelarten, bei Tiefgefrierung in flüssigen Stickstoff	599
Dušek J.: Das Fibrinogen-Niveau bei klinisch gesunden Pferden	605
Beseda I., Rippel A., Kováč J., Monišová M.: Mikroelemente in der Leber und den Nieren der Legehennen unter gegenwärtigen Großzuchtbedingungen bei deren normaler sowohl erhöhter Zufuhr in den Organismus	613
Škarda R., Marčaník J., Belák M.: Ultrastrukturelle Untersuchung des hypothalamischen Raumes nach Anwendung der Aurothioglukose bei Mäusen	621
Dubský H., Rittich B., Sommerová H., Marek V., Hána K., Janoušek S.: Die Bestimmung von Residuen der chlorierten Pestizide in den Nahrungsmitteln und in menschlichen Fettgeweben	629
Kačmár P., Blochová O., Šamo A.: Blei in Organen und Geweben von Schlachtrind als Folge der Umweltverunreinigung	635