

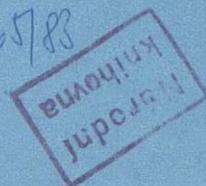
VĚDECKÝ ČASOPIS



VETERINÁRNÍ MEDICÍNA



1565/83



D II

4

11. května 1984

1

ROČNÍK 27 (LV)
PRAHA
LEDEN 1982
CENA 10 Kčs
CS ISSN 0590-5214

ČESKOSLOVENSKÁ AKADEMIE ZEMĚDĚLSKÁ
ÚSTAV VĚDECKOTECHNICKÝCH INFORMACÍ
PRO ZEMĚDĚLSTVÍ

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, doc. MVDr. Ladislav Polák, CSc., MVDr. Josef Raszyk, CSc., MVDr. Antonín Tesař, CSc., akademik Jaroslav Vrtiak, DrSc.

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

Redaktorka ing. Jovanka Václavíčková

© Ustav vědeckotechnických informací pro zemědělství, Praha 1982

■

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 решенных задачах по научному исследованию в области ветеринарии. Издаёт 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.

NÁRODNÍ KNIHOVNA



1000931336

DIAGNOSTIKA BOVINNÍHO CORONAVIRU POMOCÍ SUSPENZÍ MYŠÍCH ERYTHROCYTŮ STABILIZOVANÝCH FORMALINEM

J. Štěpánek, P. Menšík, J. Menšík, J. Franz, B. Šmíd, L. Valíček

ŠTĚPÁNEK, J. — MENŠÍK, P. — MENŠÍK, J. — FRANZ, J. — ŠMÍD, B. — VALÍČEK, L. (Výzkumný ústav veterinárního lékařství, Brno): *Diagnostika bovinního koronaviru pomocí suspenzí myších erythrocytů stabilizovaných formalinem*. Vet. Med., Praha, 27, 1982 (1) : 1-10.

Coronavirus skotu izolovaný z trusu telat nemocných gastroenteritidou a pasáží na bezkolostrálních telatech aglutinoval myši a krysy erythrocyty. Aglutinační reakce byla závislá na teplotě a probíhala pouze při 4 °C. Při teplotě 37 °C se aglutinát rozpadal již za 15 minut. Hemaglutinačním testem byl coronavirus detekovatelný v obsazích tenkého a tlustého střeva i v trusu experimentálně a přirozeně infikovaných telat. Setrná fixace myších erythrocytů formalinem ani následná lyofilizace neovlivnila jejich aglutinabilitu, která se neměnila ani po 52 týdnech skladování při teplotě 4 °C. Srovnávacím vyšetřením 182 vzorků trusu telat s průměrem bylo prokázáno, že hemaglutinační test je stejně citlivý jako elektronová mikroskopie.

telata; gastroenteritida; coronavirus; diagnostika; hemaglutinační test

V posledních letech bylo prokázáno, že zástupci virové čeledi *Coronaviridae* mohou způsobovat gastroenterální onemocnění mláďat hospodářských zvířat — selat (Tajima, 1970), jehňat (Tzipori aj., 1978), štěňat (Schnagl a Holmes, 1978) i novorozenců (Caul a Egglestone, 1977).

Klinicky se tyto infekce manifestují jednotným obrazem; průjemem, slabostí, rozvojem příznaků dehydratace a kachexie a v některých případech, především u selat, i vysokou mortalitou postižených zvířat.

Mebus aj. (1973) a Stair aj. (1972) identifikovali v trusu telat nemocných enteritidou virové částice morfologicky totožné s koronavirem a prokázali, že tento virus je patogenní pro gnotobiotická telata, u kterých způsobuje ostrou, často i letálně probíhající gastroenteritidu. Charakterizovali jeho základní růstové, morfologické a fyzikálně chemické vlastnosti, na jejichž základě byl virus začleněn do čeledi *Coronaviridae*. Incidence tohoto viru a jeho role v etiologii gastroenteritid byla dále potvrzena i v Anglii a Dánsku (Bridger aj., 1978), Belgii (Wellemans aj., 1977), Holandsku (Van Balken aj., 1978), Kanadě (Dea aj., 1979), Bulharsku (Charlambiev aj., 1978) a v dalších zemích.

Salajka aj. (1979) prokázali, že bovinní coronavirus se vyskytuje i v našich velkochovech. Z celkového počtu 156 vyšetřovaných telat nemocných enteritidou byl prokázán v trusu 17 zvířat buď samostatně, nebo v kombinaci s rotavirem.

Diagnostika coronavirových infekcí skotu zůstávala dlouhou dobu omezena pouze na elektronově mikroskopický průkaz virových částic charakteristického, nepravidelně sférického tvaru s četnými periferními výběžky (Stair aj., 1972; Mebus aj., 1973; Sharpee aj., 1976; Bridger aj., 1978; Valíček aj., 1981) v trusu telat nemocných enteritidou.

Pro běžnou laboratorní diagnostiku etiologie gastroenteritid je však tento způsob detekce koronaviru prakticky nepoužitelný vzhledem k tomu, že potřebné přístrojové vybavení je k dispozici jen v omezeném počtu laboratoří. Ani imunofluorescenční průkaz viru v kryostatových řezech trávicího traktu utracených telat (Mebus aj., 1975; Wellmanns aj., 1977) nebo přímo v trusu telat protisměrovou imunoelektroforézou (Dea aj., 1979) a imunoprecipací (Hajer a Storz, 1978) nebo imunofluorescencí (Peterson aj., 1976) se v praktické diagnostice neosvědčil vzhledem k nedostatečné citlivosti a specifitě a značné pracnosti.

Také uplatnění klasických virologických diagnostických metod založených na využití buněčných kultur nepřichází v případě bovinního koronaviru v úvahu. Virus se sice podařilo izolovat *in vitro*, ale k jeho zachytu bylo nutné udělat několik slepých pasáží, speciálně upravit kultivační podmínky a používat buněčné (Mebus aj., 1973; Dea aj., 1980) nebo orgánové (Stott aj., 1976; Bridger aj., 1978; Charlambev aj., 1978) kultury.

Z toho důvodu jsme se zaměřili na vývoj jednoduchého, snadno proveditelného testu umožňujícího rychlou diagnostiku koronaviru skotu. Vycházeli jsme ze zjištění, že bovinní coronavirus pomnožený *in vitro* v orgánových nebo buněčných kulturách (Sharpee aj., 1976; Stott aj., 1976; Sato aj., 1977; Bridger aj., 1978; Charlambev aj., 1978), nebo přítomný v trusu telat nemocných enteritidou (Van Balcken aj., 1978; Hajer a Storz, 1978) aglutinuje myši, krysy a křeččí erythrocyty.

MATERIÁL A METODY

PŘÍPRAVA NATIVNÍCH ERYTHROCYTÁRNÍCH SUSPENZÍ

Krev odebraná v poměru 1:1 do 3,8% roztoku citrátu sodného byla pomocí nízkoobrátkové centrifugace (2000 ot/min 5 minut) alespoň šestkrát propláchnuta pufovaným fyziologickým roztokem pH 7,2 (PFR, 25,5 g NaCl, 8,1 g Na₂HPO₄ · 12 H₂O, 1,2 g NaH₂PO₄ · H₂O do 3000 ml redestilované vody). Po posledním propláchnutí byly erythrocyty naředěny na 50% zásobní suspenzi a uloženy při teplotě 4 °C. Před vlastním použitím v testu byly dále ředěny na 1% pracovní koncentraci.

FIXACE MYŠÍCH KRVINEK FORMALINEM

K sedimentu získanému odstředěním nativních myších krvinek, tj. ke koncentrované, téměř 100% suspenzi erythrocytů, bylo za stálého míchání přidáno stejné množství 5% formalinu naředěného v PFR. Získaná směs byla za občasného protřepávání ponechána při laboratorní teplotě po dobu 96 hodin. Potom byly formalinované erythrocyty důkladně propláchnuty desetkrát opakovanou nízkoobrátkovou centrifugací, naředěny v PFR obsahujícím 0,1 % formalinu na 50% zásobní suspenzi

a uloženy při teplotě 4 °C nebo rozplněny do ampulí po 2 ml a lyofilizovány. Před použitím v testech byly formalinované i formalinované a lyofilizované myši erytrocyty naředěny v PFR na 2% pracovní koncentraci.

SKLADOVATELNOST FORMALINOVANÝCH A LYOFILIZOVANÝCH MYŠÍCH ERYTROCYTŮ

Zásobní suspenze a ampule s lyofilizovanými a formalinovanými myšimi erytrocyty byly uloženy v lednici při teplotě 4 °C. Jejich aglutinabilita byla pravidelně kontrolována a srovnávána s aglutinabilitou nativních, čerstvě připravených myších erytrocytů. V jednotlivých časových intervalech byly vyšetřovány čtyři rozdílné elektronově mikroskopicky ověřené vzorky trusu, získané buď z telat experimentálně infikovaných, nebo z telat, která onemocněla po přirozené infekci.

ODBĚR A ZPRACOVÁNÍ VZORKŮ TRUSU

Trus od telat do 21 dne věku, klinicky nemocných akutní gastroenteritidou, byl odebírán do vychlazeného PFR v poměru 1 : 1 a okamžitě zmrazen. Po rozmrazení byl trus homogenizován v pětinasobném množství PFR a odstředěn při 6000 ot/min 30 minut při teplotě 4 °C. Supernatant byl až do vyšetření uložen při teplotě -60 °C. Celkem byly odebrány 182 vzorky trusu od telat z osmi chovů, ve kterých byla předchozím vyšetřením prokázána incidence koronaviru.

VIROVÉ KMENY

Kmen TM-92 bovinního koronaviru byl izolován z trusu telete nemocného gastroenteritidou a udržován pasážováním na vnímavých bezkolostrálních telatech. Obsah střev experimentálně perorálně infikovaných bezkolostrálních telat utracených bezprostředně po prvních příznacích průjmu, tj. za 24 až 36 hodin po infekci, byl zpracován a uložen stejně jako vzorky trusu odebrané od nemocných telat.

HEMAGLUTINAČNÍ TEST

Při orientačním vyšetření byly vzorky trusu nebo kontrolní suspenze virových kmenů, předředené v procesu zpracování již na poměr 1 : 10, v množství 0,5 ml přeneseny na hodinová skla, smíseny se stejným množstvím 1% nativních nebo 2% formalinovaných erytrocytů a uloženy v lednici při teplotě 4 °C. Test byl odečítán poprvé po 30 minutách a definitivně po 90 až 120 minutách. Rozpad aglutinátu byl hodnocen po přemístění hodinových skel do termostatu a inkubaci při teplotě 37 °C.

Vzorky pozitivní při orientačním vyšetření byly naředěny v PFR v poměru 1 : 2 až 1 : 2048. Ke každému ředění bylo přidáno stejné množství 1% nativních nebo 2% formalinových a lyofilizovaných myších erytrocytů. Test byl hodnocen po 120 minutách inkubace při teplotě 4 °C. Za titr viru bylo považováno to ředění testovaného vzorku, ve kterém byla ještě zaznamenána pozitivní hemaglutinace.

ELEKTRONOVĚ MIKROSKOPICKÉ VYŠETŘENÍ

Přítomnost a orientačně i koncentrace koronaviru ve vyšetřovaných vzorcích trusu i ve střevním obsahu experimentálně infikovaných telat byly stanoveny elektronově mikroskopickým vyšetřením (Valíček aj., 1981).

VÝSLEDKY

HEMAGLUTINAČNÍ VLASTNOSTI BOVINNÍHO CORONAVIRU

Coronavirus izolovaný na vnímavých bezkolostrálních telatech (kmen TM-92) aglutinoval pouze myší a krysí erythrocyty. Při použití jiných zvířecích erythrocytárních suspenzí, a sice morčecích, prasečích, bovinních, beraních, kuřecích a slepičích, nebyla hemaglutinační aktivita prokázána.

První náznaky hemaglutinace se v 0,5% suspenzích myších erythrocytů začaly objevovat za 30 minut po smísení s bovinním koronavirem. Byly charakteristické utvářením drobných shluků erythrocytů, které se postupně zvětšovaly a během dalších 30 až 45 minut sedimentovaly plošně na celém povrchu dna testních zkumavek, jamek nebo hodinových skel.

Vlastní aglutinační reakce probíhala pouze při teplotě 4 °C. Při pokojové teplotě ani při teplotě 37 °C k formování aglutinátu nedocházelo. Naopak aglutináty vytvořené při teplotě 4 °C se po zahřátí na teplotu 37 °C velmi rychle, již během 7 až 15 minut, rozpadaly. Tento proces byl doprovázen i postupným uvolňováním viru s povrchu erythrocytů, které bylo úplné za 15 až 20 minut.

I. Vliv formalinu a lyofilizace na aglutinabilitu myších erythrocytů bovinním koronavirem — The effect of formalin and lyophilization on the liability of mouse erythrocytes to agglutination by the bovine coronavirus

Číslo vzorku trusu	Titr koronaviru prokázaný hemaglutinačním testem s využitím erythrocytů		
	nativních	formalinovaných	formalinovaných a lyofilizovaných
TM-92/1*	2048	1024	1024
TM-92/2	1024	1024	512
1**	256	128	256
2	256	256	256
3	neg.	neg.	neg.
4	neg.	neg.	neg.
5	128	64	128
6	lýza	32	16
7	1024	512	512
8	256	256	256
9	lýza	64	64
10	256	128	128
11	8	8	4
12	lýza	16	8
13	lýza	32	32

* — první a druhá pasáž koronaviru TM-92 na bezkolostrálních telatech

** — vzorky trusu odebrané od telat nemocných gastroenteritidou

Z tab. I je zřejmé, že citlivost myších erythrocytů k aglutinační aktivitě koronaviru nebyla vůbec ovlivněna procesem jejich fixace formalinem ani následnou lyofilizací. Formalinovanými i formalinovanými a lyofilizovanými erythrocytárními suspenzemi byl koronavirus prokázán pouze ve vzorcích, které byly pozitivní i při použití nativních myších krvinek. Také koncentrace koronaviru, prokazovaná nativními, fixovanými i lyofilizovanými erythrocytárními suspenzemi, byla téměř identická.

Zjištěné odchylky se pohybovaly v rámci běžné laboratorní chyby a nepřesáhly rozsah jednoho ředění.

Suspenzemi erythrocytů, které byly fixovány formalinem, byl koronavirus prokazatelný i v těch vzorcích, které byly pro nativní erythrocyty toxické, způsobovaly jejich hemolýzu, a tak znemožňovaly hodnocení aglutinátu.

Vlastní aglutinace formalinovaných erythrocytů probíhala pomaleji a byla, na rozdíl od erythrocytů nativních, hodnotitelná až za 120 minut. Jasně, zřetelně zformované aglutináty se tvořily pouze při použití dvojnásobného množství, tj. 2% suspenzí formalinovaných erythrocytů. Stabílní aglutinace byla zaznamenána pouze při teplotě 4 °C. Při vyšších teplotách docházelo k rozpadu aglutinátu, uvolnění koronavirů s povrchu erythrocytů a k jejich následné sedimentaci stejně rychle, jako při použití erythrocytů nativních.

Charakter aglutinační reakce formalinovaných erythrocytů nebyl narušen ani lyofilizací. Ani dlouhodobé uložení formalinovaných a lyofilizovaných erythrocytů při teplotě 4 °C neovlivnilo jejich aglutinabilitu. Ve čtyřech standardních vzorcích byly pomocí formalinovaných i formalinovaných a lyofilizovaných erythrocytů uložených v lednici prokázány téměř stejné titry koronaviru jako při použití erythrocytů nativních (tab. II).

PRŮKAZ CORONAVIRU V TRUSU TELAT NEMOCNÝCH GASTROENTERITIDOU

Přímým elektronově mikroskopickým vyšetřením byly coronavirové částice prokázány ve 127 vzorcích trusu z celkového počtu 182. Převážná většina pozitivních vzorků pocházela od telat, která onemocněla průjmem ve věku 5 až 21 den. V trusu mladších telat byl koronavirus prokazován jen ojediněle.

Téměř ve všech vzorcích pozitivních elektronově mikroskopickým vyšetřením byl koronavirus prokázán i hemaglutinačním testem. Titry zjištěné pomocí nativních i formalinovaných erythrocytárních suspenzí byly téměř stejné a kolísaly od 1 : 8 do 1 : 1024. V trusu, ve kterém byl elektronově mikroskopicky prokázán velký počet coronavirových částic nahloučených často v komplexech, byly hemaglutinačním testem zjištěny vyšší koncentrace koronaviru než v těch vzorcích, ve kterých byly coronavirové částice nacházeny jen ojediněle nebo v menším počtu (tab. III).

Pomocí suspenzí připravených z formalinovaných a lyofilizovaných erythrocytů, resuspendovaných v PFR, bylo vyšetřeno jen 48 vzorků. V pozitivních vzorcích byl koronavirus zjištěn i ostatními metodami, a to v titrech odpovídajících koncentraci detekované pomocí nativních a formalinovaných erythrocytů.

II. Vliv dlouhodobého skladování při teplotě 4 °C na aglutinabilitu formalinovaných a lyofilizovaných myších erytrocytů boviním koronavirem — The effect of long-continued storage at 4 °C upon the liability of formalin-treated and lyophilized mouse erythrocytes to agglutination by bovine coronavirus

Označení vzorku viru	Způsob opracování erytrocytů	Hemaglutinační titr doba skladování erytrocytárních suspenzí (týdny)												
		0	3	6	9	12	15	18	21	24	30	35	42	52
1	NAT	1024	256	128	128	128	16	128	64	256	0	256	128	256
	F	1024	256	64	128	64	8	128	32	128	0	128	64	256
	FL	1024	128	32	64	128	16	128	32	64	0	256	64	128
2	NAT	512	0	0	256	512	128	32	0	0	128	32	512	128
	F	256	0	0	256	256	64	16	0	0	64	16	256	128
	FL	256	0	0	256	256	128	16	0	0	128	16	256	128
3	NAT	128	512	32	256	128	512	128	512	256	512	512	64	0
	F	64	512	32	128	128	256	128	256	256	256	256	64	0
	FL	32	256	32	64	64	256	128	256	256	128	128	32	0
4	NAT	16	32	32	128	512	64	64	128	128	32	0	256	64
	F	16	16	16	64	256	64	32	128	64	16	0	128	32
	FL	16	32	16	64	256	32	64	256	64	64	0	256	64

NAT — suspenze nativních erytrocytů

F — suspenze formalinovaných erytrocytů

FL — suspenze formalinovaných a lyofilizovaných erytrocytů

III. Vyšetření trusu selat nemocných gastroenteritidou na přítomnost koronaviru; srovnání výsledků elektronové mikroskopie a hemaglutinačního testu — Examination of the faeces of calves suffering from diarrhoea for the coronavirus; comparison of the results of electron microscopy and the haemagglutination test

Elektronově mikroskopické vyšetření	Počet vzorků trusu Titry koronaviru stanovené hemaglutinačním testem						
	negativní	1:8	1:16— 1:32	1:64— 1:128	1:256— 1:512	1:512	Celkem
Negativní	47	8	—	—	—	—	55
Ojedinelé částice podobné koronaviru	5	7	6	3	1	—	22
Ojedinelé částice koronaviru	—	3	1	21	29	7	61
Četné koronavirové částice	—	—	2	11	17	6	36
Četné koronavirové částice ve shlucích	—	—	—	1	—	7	8
Celkem	52	18	9	36	47	20	182

DISKUSE

Bovinní coronavirus izolovaný po vzplanutí gastroenteritid telat v ČSSR a pomnožený na bezkolostrálních telatech má stejný hemaglutinační vlastnosti jako jiné dosud izolované a prověřené koronavirové kmeny. V souladu s údaji jiných autorů (Sharpee aj., 1976; Sato aj., 1977; Hajer a Storz, 1978) jsme prokázali, že aglutinuje myši a krysy, nikoliv však králíci, morčecí, telecí, prasečí, beraní, kuřecí a slepičí erytrocyty. Aglutinabilitu křeččích erytrocytů, o které se zmiňují Sharpee aj. (1976) a Charlambiev aj. (1978), jsme neověřovali.

Stejně jako Van Balken aj. (1978) a Hajer a Storz (1978) jsme pozitivní aglutinaci myších erytrocytů zaznamenali pouze při teplotě 4 °C, kdy se kompletní aglutinát formoval již za 45 až 60 minut. Zahřátí na teplotu 37 °C bylo doprovázeno rozpadem vazby mezi virem a povrchovými receptory erytrocytů a rychlým rozpadem vytvořeného aglutinátu. Van Balken aj. (1978) využívali reverzibility hemaglutinační reakce k přípravě čistých preparátů bovinního koronaviru. Sharpee aj. (1976) a Sato aj. (1977), kteří použili coronavirus dlouhodobě adaptovaný na buněčných kulturách a pomnožený *in vitro*, zaznamenali pozitivní aglutinační reakci nejen při teplotě 4 °C, ale i při teplotách 25 °C a 37 °C. Stott aj. (1976) a Bridger aj. (1978) uvádějí, že krysí erytrocyty jsou bovinním koronavirem pomnoženým v orgánových kulturách aglutinovány při teplotě 25 °C a 37 °C. Ze vzájemné

konfrontace těchto výsledků se zdá, že hemaglutinační aktivita koronaviru přestává být po jeho adaptaci na buněčné nebo orgánové kultury na teplotě závislá.

Průkazu hemaglutinačních vlastností koronaviru využili k jeho detekci v trusu dvou experimentálně infikovaných telat Van Balken aj. [1978]. Již v trusu odebraném za 24 hodiny po infekci prokázali vysoké titry koronaviru. Stott aj. (1976) a Bridger aj. (1978) kontrolovali hemaglutinačním testem proces růstu koronaviru v orgánových kulturách.

V našich pokusech jsme pomocí suspenzí nativních myších erytrocytů vyšetřili 182 vzorky trusu odebrané od telat nemocných gastroenteritidou. Pozitivní hemaglutinační aktivitu v titrech vyšších než 1 : 8 jsme zaznamenali pouze ve vzorcích, ve kterých byl coronavirus prokázán i elektronovou mikroskopií. Vyšší hemaglutinační titry odpovídaly i vyšší koncentraci virových částic v jednotlivých vzorcích při jejich elektronově mikroskopickém hodnocení. Tyto výsledky dokazují, že hemaglutinační test je stejně citlivý jako elektronové mikroskopie a umožňuje spolehlivou a specifickou diagnostiku koronavirových gastroenteritid telat.

Jistá hemaglutinační aktivita byla někdy zjišťována i v nízkých ředěních vzorků trusu elektronově mikroskopicky negativních. Většinou se jednalo o aglutináty, které byly stabilní nejen při teplotě 4 °C, ale i při teplotě 37 °C. Z toho důvodu jsme považovali za pozitivní pouze vzorky, které aglutinovaly i v ředěních vyšších než 1 : 8.

Skutečnost, že vyšetřovaná telata pocházela z osmi různých lokalit, současně naznačuje, že schopnost aglutinovat myší erytrocyty je stabilní vlastností bovinního koronaviru, nikoli jen jeho některých kmenů.

Průkaz koronaviru hemaglutinačním testem komplikuje toxicita některých vzorků trusu, která způsobuje lýzu erytrocytů a narušuje průběh aglutinace i ve vzorcích elektronově mikroskopicky pozitivních. Také zdlouhavost a pracnost přípravy nativních erytrocytárních suspenzí a jejich velmi krátká údržnost, která nepřesahuje tři až čtyři dny, limitují uplatnění hemaglutinačního testu v praktické diagnostice.

Oba tyto nedostatky lze odstranit použitím formalinovaných erytrocytů. Srovnávacím vyšetřením bylo jednoznačně prokázáno, že působení 5% formalinu 96 hodin nenarušuje strukturu specifických membránových receptorů myších erytrocytů, které jsou i po tomto opracování aglutinovány koronavirem ve stejném rozsahu jako erytrocyty nativní. K podobným závěrům došel i Czismas [1960], Butler [1963], Gupta a Harley [1970] a Ito a Iwasa [1976], kteří ověřovali hemaglutinační vlastnosti formalinovaných savčích a drůbežích erytrocytů a možnost jejich využití v diagnostice různých savčích a drůbežích virů.

Formalinované myší erytrocyty mohou být bez ztráty citlivosti k působení virových hemaglutininů nejméně rok uloženy při teplotě 4 °C, nebo lyofilizovány. Nejsou citlivé ani k lytickému působení střevních suspenzí, takže jejich prostřednictvím může být bovinní coronavirus prokazován i ve vzorcích, které byly nativními erytrocyty nehodnotitelné.

Tyto skutečnosti a prokázaná citlivost a spolehlivost hemaglutinačního testu preferují jeho využití v praktické diagnostice gastroenteritid telat způsobených bovinním koronavirem a jejich diferenciaci od gastroenteritid jiné virové a bakteriální etiologie.

Literatura

- BRIDGER, J. C. — WOODE, G. N. — MEYLING, A.: Isolation of coronavirus from neonatal calf diarrhoea in Great Britain and Denmark. *Vet. Microbiol.*, 3, 1978, s. 101-113.
- BUTLER, W. T.: Hemagglutination studies with formalinized erythrocytes. *J. Immun.*, 90, 1963, s. 663-671.
- CAUL, E. O. — EGGLESTONE, S.: Further studies of human enteric coronavirus. *Archs Virol.*, 54, 1977, s. 107-117.
- CSIZMAS, L.: Preparation of formalinized erythrocytes. *Proc. Soc. exp. Biol. Med.*, 103, 1960, s. 157-160.
- DEA, S. — ROY, R. S. — BEGIN, M. E.: Counterimmunoelectrophoresis for detection of calf diarrhea coronavirus: Methodology and comparison with electron microscopy. *J. clin. Microbiol.*, 10, 1979, s. 240-244.
- DEA, S. — ROY, R. S. — BEGIN, M. E.: Bovine coronavirus isolation and cultivation in continuous cell lines. *Am. J. vet. Res.*, 41, 1980, s. 30-38.
- GUPTA, J. D. — HARLEY, I. D.: Use of formalinized sheep erythrocytes in the rubella hemagglutination inhibition tests. *Appl. Microbiol.*, 20, 1970, s. 843-844.
- HAJER, I. — STORZ, J.: Antigens of bovine coronavirus strain LY-138 and their diagnostic properties. *Am. J. vet. Res.*, 39, 1978, s. 441-444.
- CHARALAMBIEV, CH. — IGNATOV, G. — MITOV, B.: Proučvanija vrchu korona — i rota — vorusnite enterity po novorodenite teleta u nas. *VetMed. Nauki, Sofia*, 15, 1978, s. 102-113.
- ITO, H. — IWASA, S.: Application of freeze-dried, one day-old chick erythrocytes to viral hemagglutination and hemagglutination-inhibition tests. *J. clin. Microbiol.*, 4, 1976, s. 188-189.
- MEBUS, C. A. — STAIR, E. L. — RHODES, M. B. — TWIEHAUS, M. J.: Neonatal calf diarrhea: propagation attenuation and characteristics of a coronavirus-like agent. *Am. J. vet. Res.*, 34, 1973, s. 145-150.
- MEBUS, C. A. — NEUMANN, L. E. — STAIR, E. L.: Scanning electron, light and immunofluorescent microscopy of intestine of gnotobiotic calf infected with calf diarrhea coronavirus. *Am. J. vet. Res.*, 36, 1975, s. 1719-1725.
- PETERSON, M. V. — SPENDLOVE, R. S. — SMART, R. A.: Detection of neonatal calf diarrhea virus, infant reovirus-like diarrhea virus, and a coronavirus using the fluorescent virus precipitin test. *J. clin. Microbiol.*, 3, 1976, s. 376-377.
- SALAJKA, E. — ŠTĚPÁNEK, J. — BÄRTL, M. — FRANZ, J. — MENŠÍK, J. — MENŠÍK, P. — SALAJKOVÁ, Z. — SVOBODA, I. — ŠMÍD, B. — TOMAN, M. — VALÍČEK, L.: Diagnostika a prevence infekčních průmů telat. [Výzkumná zpráva.] Brno. Výzkumný ústav veterinárního lékařství 1979, 50 s.
- SATO, K. — INADA, Y. — KUROGI, H. — TAKAHASHI, E. — SATODA, K. — OMORI, T. — MATUMOTO, H.: Hemagglutination by calf diarrhea coronavirus. *Vet. Microbiol.*, 2, 1977, s. 83-87.
- SHARPEE, R. L. — MEBUS, C. A. — BASS, E. P.: Characterization of calf diarrheal coronavirus. *Am. J. vet. Res.*, 37, 1976, s. 1031-1041.
- SCHNAGL, R. D. — HOLMES, I. H.: Coronavirus-like particles in stools from dogs from some country areas of Australia. *Vet. Rec.*, 102, 1978, s. 528-529.
- STAIR, E. L. — RHODES, M. B. — WHITE, R. G. — MEBUS, C. A.: Neonatal calf diarrhea: purification and electron microscopy of a coronavirus-like agent. *Am. J. vet. Res.*, 33, 1972, s. 1147-1156.
- STOTT, E. J. — THOMAS, L. M. — BRIDGER, J. C. — JEBBETT, N. J.: Replication of a bovine coronavirus in organ cultures of foetal trachea. *Vet. Microbiol.*, 1, 1976, s. 65-69.
- TAJIMA, M.: Morphology of transmissible gastroenteritis virus of pigs. *Arch. ges. Virusforsch.*, 29, 1970, s. 105-108.
- TZIPORI, S. — SMITH, M. — MAKIN, T. — McCAUGHAN, C.: Enteric coronavirus-like particles in sheep. *Aust. vet. J.*, 54, 1978, s. 321.
- VALÍČEK, L. — ŠMÍD, B. — ŠTĚPÁNEK, J. — MENŠÍK, J.: Elektronově mikroskopický průkaz koronaviru u telat s průmem. *Vet. Med., Praha*, 26, 1981, s. 691-694.
- VAN BALKEN, J. A. M. — DE LEEUW, P. W. — ELLENS, D. J. — STRAVER, P. J.: Detection of coronavirus in calf faeces with haemadsorption-elution-haemagglutination assay (HEHA). *Vet. Microbiol.*, 3, 1978, s. 205-211.
- WELLEMANS, G. — ANTOINE, M. — ROTTON, Y. — VAN OPDENBOSCH, E.: La fréquence du virus corona dans les troubles digestifs du jeune veau en Belgique. *Annls Méd. vét.*, 121, 1977, s. 411-420.

Došlo dne 4. 9. 1981

ШТЕПАНЕК, Я. — МЕНШИК, П. — МЕНШИК, Я. — ФРАНЦ, Й. — ШМИД, Б. — ВАЛИЧЕК, Л. (Научно-исследовательский институт ветеринарии, Брно): Диагностика бовинного коронавируса с помощью суспензии мышиных эритроцитов, стабилизированных формалином. Vet. Med., Praha, 27, 1982 (1) : 1-10.

Коронавирус крупного рогатого скота был изолирован из поноса телят, больных гастроэнтеритом, и был пассажирован на немолочивных телятах, после чего им агглютинировали мышиные и крысиные эритроциты. Агглютинационная реакция зависит от температуры: она протекает только при 4°C, а при 37°C агглютинат распадается уже через 15 минут. С помощью гемагглютинационного теста коронавируса можно было детектировать в содержимом тонкой и толстой кишок, а также в поносе телят, зараженных экспериментальным и естественным путем. Осторожная фиксация мышиных эритроцитов формалином, и последующая лиофилизация не повлияли на их агглютинабельность, которая не менялась даже спустя 52-недельного хранения при 4°C. Путем сравнительного исследования 182 образцов поноса больных гастроэнтеритом телят доказано, что гемагглютинационный тест так же чувствителен, как электронмикроскопия.

телята; гастроэнтерит; коронавирус; диагностика; гемагглютинационный тест

ŠTĚPÁNEK, J. — MENŠÍK, P. — MENŠÍK, J. — FRANZ, J. — ŠMÍD, B. — VALÍČEK, L. (Veterinary Research Institute, Brno): *Diagnostics of Bovine Coronavirus by means of Mouse Erythrocyte Suspensions Stabilized with Formalin*. Vet. Med., Praha, 27, 1982 (1) : 1-10.

Bovine coronavirus isolated from calf faeces diseased with gastroenteritis and passaged to colostrum-free calves agglutinated mouse and rat erythrocytes. The agglutination reaction depended on temperature and took place only at a temperature of 4°C. At a temperature of 37°C the agglutinate broke down within 15 minutes. The coronavirus could be detected by the haemagglutination test in the contents of the small and large intestines and in the faeces of experimentally and naturally infected calves. The agglutination capacity of mouse erythrocytes was not affected by careful fixation of these erythrocytes with formalin and subsequent lyophilization and remained unchanged for as long as 52 weeks of storage at a temperature of 4°C. It was demonstrated by a comparative examination of 182 samples of the faeces of calves suffering from diarrhoea that haemagglutination test was as sensitive as electron microscopy.

calves; gastroenteritis; coronavirus; diagnostics; haemagglutination test

ŠTĚPÁNEK, J. — MENŠÍK, P. — MENŠÍK, J. — FRANZ, J. — ŠMÍD, B. — VALÍČEK, L. (Forschungsinstitut für Veterinärmedizin, Brno): *Diagnostik des bovinen Koronavirus durch die Suspension von Mäuseerythrozyten, die durch Formalin stabilisiert werden*. Vet. Med., Praha, 27, 1982 (1) : 1-10.

Das Koronavirus von Rindvieh, das aus dem Mist von an Gastroenteritis kranken Kälbern isoliert und auf Kälbern, denen kein Kolostrum verabreicht wurde, passagiert wurde, agglutinierte die Mäuse- und Rattenerythrozyten. Die Agglutinationsreaktion war von der Temperatur abhängig und verlief nur bei der Temperatur von 4°C. Bei der Temperatur von 37°C zerfiel das Agglutinin bereits in 15 Minuten. Durch den Hemagglutinationstest war das Koronavirus in den Gehalten des Dünn- und Dickdarmes und auch im Mist von experimentell und natürlich infizierten Kälbern nachweisbar. Weder eine schonende Fixation von Mäuseerythrozyten durch Formalin noch eine folgende Lyophilisation beeinflussten ihre Agglutinabilität, die sich sogar nach 52 Wochen der Lagerung bei der Temperatur von 4°C nicht änderte. Durch eine Vergleichsuntersuchung von 182 Proben des Mistes von an Durchfall leidenden Kälbern wurde nachgewiesen, daß der Hemagglutinationstest gleich empfindlich wie die Elektronenmikroskopie ist.

Kälber; Gastroenteritis; Koronavirus; Diagnostik; Hemagglutinationstest

Adresa autorů:

MVDr. Jan Štěpánek, CSc., MVDr. Pavel Menšík, doc. MVDr. Jaromír Menšík, CSc., MVDr. Josef Franz, MVDr. Bedřich Šmíd, CSc., MVDr. Lubomír Valíček, CSc., Výzkumný ústav veterinárního lékařství, Hudcova 70, 621 32 Brno

SEKRECE IMUNOGLOBULINŮ V ORGÁNECH PRASEČÍCH FĚTŮ V SYSTÉMU *IN VITRO*

J. Franz, J. Hampl, J. Štěpánek, A. Holub, J. Menšík, M. Sedláček

FRANZ, J. — HAMPL, J. — ŠTĚPÁNEK, J. — HOLUB, A. — MENŠÍK, J. — SEDLÁČEK, M. (Výzkumný ústav veterinárního lékařství, Brno): *Sekrece imunoglobulinů v orgánech prasečích fětů v systému in vitro*. Vet. Med., Praha, 27, 1982 (1) : 11-18.

Kultivací fragmentů sleziny, thymu, trachey, plic, jater, ilea, jejunu a mezenterální mízní uzliny a následnou afinitní chromatografií byla prokázána syntéza IgG, IgM a IgA v prasečích fětech starých 58, 75 a 95 dnů. Podíl IgG, IgA a IgM v syntetizované bílkovině uvolňované do kultivačního média se od 58. do 95. dne stáří fětů zvyšoval ve všech testovaných orgánech s výjimkou orgánových kultur jater, ve kterých se snížila sekrece IgG a IgA, a orgánových kultur sleziny, ve kterých poklesla jen syntéza IgG.

prasečí fétus; imunoglobuliny IgG, IgM, IgA; celková bílkovina

Otázka existence imunoglobulinů v organismu novorozených bezkolostráních selat i prasečích fětů byla až donedávna předmětem mnoha diskusí a vědeckých prací (Šterzl aj., 1960; Franěk aj., 1961; Wellmann a Engel, 1963; Kim aj., 1966, 1966a, 1967). Citlivými imunochemickými metodami bylo dokázáno, že fetální sérum obsahuje imunoglobuliny všech tří typů (Prokešová aj., 1969, 1970; Prokešová a Rejnek, 1971, 1973; Porter, 1969; Franz aj., 1971; Bourne aj., 1974). Poněvadž se však prasečí fétus vyvíjí *in utero* bez významných antigenních stimulů a mateřské protilátky do něj přes placentu neprocházejí (Šterzl a Silverstein, 1967), je jeho aktivní syntéza protilátek nepatrná a koncentrace imunoglobulinů detekované v jejich sérech jsou ve srovnání s dospělými zvířaty o několik řádů nižší.

V orgánech novorozených bezkolostráních selat i fětů byla potvrzena přítomnost lymfoidních buněk, které syntetizují imunoglobuliny, s tím poznatkem, že zatímco se počty lymfocytů odpovědných za syntézu jednotlivých tříd imunoglobulinů od sebe významně neliší (Prokešová aj., 1977), je koncentrace IgG v sérech novorozených selat a fětů až desetkrát vyšší než koncentrace IgA a IgM. Nezdá se tedy, že by existoval přímý vztah mezi množstvím lymfocytů sekretujících jednotlivé typy imunoglobulinů a koncentracemi IgG, IgM a IgA, které cirkulují v krvi fětů a novorozených selat.

V souvislosti s těmito fakty jsme v našich pokusech chtěli ověřit, jak se jednotlivé orgány prasečích fětů podílejí na proteosyntéze imunoglobulinů, zejména pak v jakých vzájemných poměrech sekretují IgG, IgM a IgA během druhé poloviny gestace. K těmto účelům byla použita

technika kultivace orgánových fragmentů v médiu obohaceném o ^{14}C značené aminokyseliny jako prekurzory proteosyntézy v kombinaci s afinitní chromatografií.

MATERIÁL A METODY

POKUSNÁ ZVÍŘATA

V pokusech, ve kterých jsme sledovali sekreci imunoglobulinů, jsme použili tři skupiny prasečích fétů odebraných hysterektomií od prasnic ušlechtilého bílého plemene v 58. dnu (9 kusů), 75. dnu (5 kusů) a 95. dnu (3 kusy) jejich březosti.

Od fétů byly odebrány tyto orgány: thymus, trachea, plíce, játra, slezina, ileum, jejunum a mezenterální mízní uzlina.

KULTIVACE ORGÁNOVÝCH FRAGMENTŮ

Orgány byly rozřezány na 1–2 mm fragmenty, které byly několikrát opláchnuty v Trowelově médiu, nasazeny v počtu 25 na mřížku z umělé hmoty umístěnou v 3 ml Petriho miskách obsahujících 1,2 ml kultivačního média. Ke kultivaci bylo použito Trowelovo médium doplněné inaktivovaným fetálním telecím sérem (1%), penicilinem a streptomycinem a obsahující 185 kBq (5 μCi) [^{14}C] lyzinu a [^{14}C] izoleucinu v 1 ml, přičemž koncentrace neznačených aminokyselin lyzinu a izoleucinu byla 10× snížena. Takto připravené orgánové kultury byly inkubovány v atmosféře s 95 % kyslíku a 5 % kyslíčniku uhličitého 24 hodiny při teplotě 37 °C.

PŘÍPRAVA ANTISÉR

Antiséra proti prasečím γ , μ a α řetězcům byla získána imunizací králíků izolovanými řetězci ve Freundově adjuvans. Těžké řetězce byly izolovány oxidativní sulfitolýzou příslušného Ig a gelovou chromatografií v 0,05 mol/l kyselině mravenčí v 6 mol/l močovíně na Sephadexu G-100. Antiséra byla vysycena insolubilizovanými Ig (Avrameas a Ternynck, 1969). Všechna antiséra reagovala pouze s odpovídajícími imunoglobuliny a nedávala reakci s lehkými řetězci.

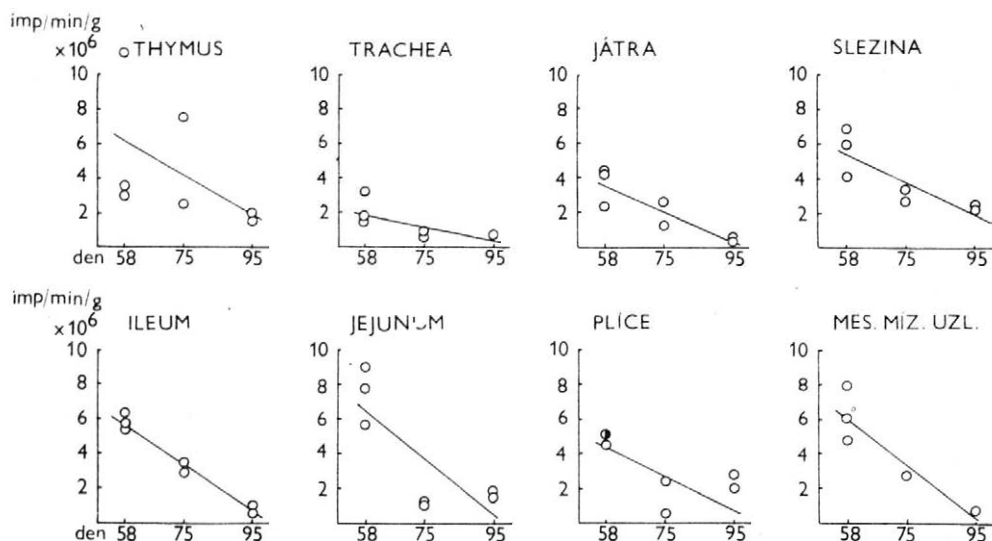
SYNTÉZA CELKOVÝCH BÍLKOVIN

Po ukončení kultivace byly tkáňové fragmenty odděleny od kultivačního média centrifugací při 2700 G po dobu 15 minut. Značené neinkorporované aminokyseliny byly odstraněny dialýzou kultivačního média proti PBS po dobu 48 hodin. Objem média byl upraven zahuštěním na 1,5 ml.

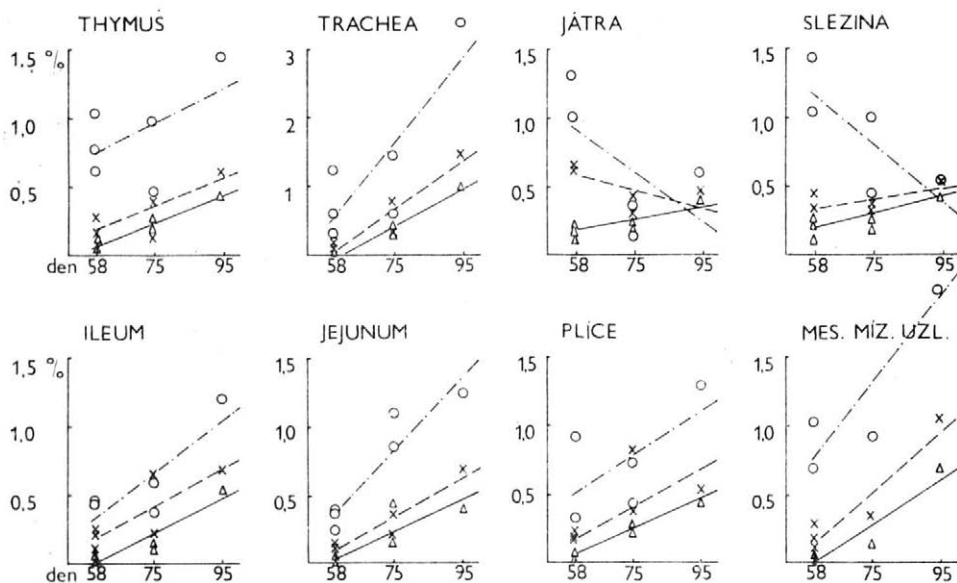
Množství nově syntetizovaného proteinu bylo určeno v části objemu kultivačního média sražením 10% trichlóroctovou kyselinou. Sraženina byla rozpouštěna 24 hodiny v solubilizačním činidle (NCS — Nuclear Chicago) a její radioaktivita byla změřena metodou kapalně scintilace a vztažena na 1 g tkáně.

STANOVENÍ SEKRECE IgG, IgM A IgA

Sekrece nově syntetizovaných imunoglobulinů v orgánových kulturách byla stanovena afinitní chromatografií (Axen aj., 1967). Specifické imunosorbenty pro izolaci prasečích IgG, IgM a IgA byly připraveny navázáním monovalentních antisér na CNBr-Sepharosu 4B (Pharmacia Uppsala). 4 ml antiséra byly vysráženy síranem amonným a po dialýze navázány na 5 g zvlhčeného gelu CNBr-Sepharosu 4B. Přebývající reaktivní skupiny byly blokovány 1 mol/l etanolaminem. Takto získaný gel byl přenesen od malých kolon a před použitím ještě ověřen na specifitu.



1. Syntéza celkové bílkoviny v orgánech prasečích fétů ve stáří 58, 75 a 95 dní —
Synthesis of total protein in the organs of foetal pigs aged 58, 75 and 95 days



2. Syntéza IgG, IgM a IgA v orgánech prasečích fétů ve stáří 58, 75 a 95 dní —
Synthesis of IgG, IgM and IgA in the organs of foetal pigs aged 58, 75 and 95 days

○——○ IgG
△——△ IgM
x——x IgA

Přes kolonky byly chromatografovány vzorky médií z jednotlivých orgánových kultur (Svennerholm a Holmgren, 1977). Nespecifické bílkoviny byly promyty PBS, specificky vázaný materiál byl eluován glycinovým pufrům pH = 2,8. Podíl z frakcí eluovaných Ig byl smíchán se solubilizačním činidlem a po dvouhodinové solubilizaci byla měřena radioaktivita metodou kapalně scintilace. Množství nově syntetizovaných imunoglobulinů třídy IgG, IgM a IgA bylo vyjádřeno radioaktivitou vztahenou na 1 g tkáně. Kromě toho byla syntéza jednotlivých imunoglobulinů ve druhé polovině gestace vyjádřena dynamicky pomocí regrese jako podíl IgG, IgM a IgA z nově syntetizované celkové bílkoviny.

VÝSLEDKY

Ve všech orgánech byl v průběhu sledovaného období, tj. od 58. do 95. dne stáří prasečích plodů, pozorován pokles syntézy celkové bílkoviny v přepočtu na 1 g tkáně (obr. 1). S výjimkou orgánové kultury thymu a trachey byl pokles syntézy statisticky významný (tab. I). V testovaných orgánových kulturách byla prokázána sekrece všech tří typů prasečích imunoglobulinů. V největším množství byl detekován IgG, který tvořil přibližně 0,5 až 3,0 % celkového množství syntetizované bílkoviny. Naproti tomu IgM se secernoval v porovnání s IgG s třikrát menší intenzitou. Podíl IgG, IgA a IgM v syntetizované bílkovině uvolňované do kultivačního média se od 58. do 95. dne stáří fetů zvyšoval ve všech testovaných orgánech s výjimkou orgánových kultur jater, ve kterých se snížila sekrece IgG a IgA, a orgánových kultur sleziny, ve kterých poklesla jen syntéza IgG (obr. 2). Statisticky významný nárůst byl prokázán zejména pro hodnoty IgM, a to téměř ve všech sledovaných orgánech s výjimkou sleziny. Významný nárůst syntézy IgG byl pouze v trachee a jejunu a IgA v trachee, ileu, jejunu a mezenterální uzlině (tab. II).

I. Přesnost určení celkové bílkoviny ve vyšetřovaných orgánech — Accuracy of determination of total protein in the organs under study

Orgán	<i>n</i>	<i>r</i>	<i>t</i>	<i>P</i>
Thymus	7	-0,521	1,154	>0,20
Trachea	7	-0,701	1,735	>0,05
Játra	7	-0,881	2,752	<0,01
Slezina	7	-0,834	2,406	<0,02
Ileum	7	-0,986	4,956	<0,001
Jejunum	7	-0,797	2,180	<0,05
Plíce	7	-0,838	2,430	<0,02
Mezenterální mizní uzlina	5	-0,908	2,144	<0,05

Legenda: *n* — počet měření
r — korelační koeficient
t — významnost korelace
P — hladina významnosti

II. Přesnost určení imunoglobulinů ve vyšetřovaných orgánech — Accuracy of determination of immunoglobulins in the organs under study

IgG				
Orgán	<i>n</i>	<i>r</i>	<i>t</i>	<i>P</i>
Thymus	6	0,586	1,160	> 0,20
Trachea	6	0,837	2,096	< 0,05
Játra	5	-0,606	-0,994	> 0,30
Slezina	5	-0,763	-1,421	> 0,10
Ileum	5	0,854	1,800	> 0,05
Jejunum	6	0,939	2,991	< 0,01
Plíce	5	0,623	1,035	> 0,30
Mezenterální mizní uzlina	4	0,888	1,413	> 0,10
IgA				
Thymus	5	0,827	1,680	> 0,05
Trachea	5	0,962	2,752	< 0,01
Játra	6	-0,657	-1,385	> 0,10
Slezina	5	0,594	0,967	> 0,30
Ileum	6	0,817	1,992	< 0,05
Jejunum	6	0,952	3,218	< 0,01
Plíce	6	0,661	1,377	> 0,10
Mezenterální mizní uzlina	5	0,948	2,562	< 0,02
IgM				
Thymus	6	0,988	4,585	< 0,001
Trachea	5	0,993	3,997	< 0,001
Játra	6	0,871	2,309	< 0,05
Slezina	6	0,657	1,363	> 0,10
Ileum	6	0,969	3,599	< 0,001
Jejunum	6	0,865	2,252	< 0,05
Plíce	6	0,993	4,883	< 0,001
Mezenterální mizní uzlina	5	0,942	2,483	< 0,02

DISKUSE

K detekci imunoglobulinů byla použita citlivá metoda afinitní chromatografie, která s použitím anti- μ , anti- γ a anti- α protilátek umožnila specifické rozlišení IgG, IgM a IgA sekretovaných do média orgánových kultur. Tato metoda již byla použita při jiných studiích [Lai aj., 1976; Lee a Cantey, 1974; Svennerholm a Holmgren, 1977].

Podobně jako u novorozených bezkolostrálních selat [Hampel aj., 1980] jsme prokázali i u prasečích fétů v druhé polovině jejich intra-

uterinního života, že nejsilněji uvolňovaným imunoglobulinem do média kultur orgánových fragmentů je IgG. Sekreci IgM jsme prokázali také, ale ve srovnání s IgG v podstatně menším množství. Tento nálezní potvrzuje již dříve popsání výsledky, že prasečí fetální lymfocyty produkují všechny typy imunoglobulinů, ale do cirkulace je především uvolňován IgG, zatímco IgM zůstává uzavřen v buňkách, resp. fixován na jejich povrchu (Chapman aj., 1974; Jarošková, 1977; Prokešová aj., 1979) a uvolňuje se až po významnějším antigenním stimulu. Tato fakta vysvětlují také výsledky těch autorů, kteří v krevním oběhu prasečích fétů detekovali jako převažující imunoglobulin IgG, zatímco IgM nalézali jen ve stopových množstvích nebo vůbec ne (Prokešová aj., 1970; Prokešová a Rejnek, 1971). Velké množství IgM včetně specifických protilátek bylo nalezeno jedině v sérech těch prasečích fétů, které byly antigenně stimulovány již během intrauterinního života (Bourne aj., 1974). Brown a Bourne (1976) se také pokoušeli detekovat ve střevech, slezině a mezenterálních mízních uzlinách bezkolostrálních novorozenců selat buňky syntetizující Ig pomocí imunoperoxidázové techniky, ale s negativním výsledkem. Je tedy zřejmé, že možnost detekce je dána citlivostí použité metody.

Koncentrace sérových imunoglobulinů dospělých zvířat několikanásobně převyšuje koncentraci imunoglobulinů v sérech fétů a novorozenců bezkolostrálních selat. Z tohoto pohledu je do jisté míry překvapující výsledek, který uvádějí Prokešová aj. (1979), že počty lymfocytů secernující Ig jsou u dospělých zvířat a novorozenců bezkolostrálních selat řádově stejné. Tento rozpor může být vysvětlen jedině intenzivnější sekrecí Ig a ne tedy zvětšenou proliferací lymfoidní tkáně dospělých zvířat. V našich pokusech jsme se pokusili vyhodnotit, zda dochází k statisticky významnému nárůstu sekrece imunoglobulinů fetálními orgány během druhé poloviny intrauterinního života. Významný nárůst jsme prokázali zejména v syntéze IgM, a to u všech orgánů s výjimkou sleziny. I když hodnoty IgG a IgA se v průběhu sledovaného období zvyšují, nejsou změny ve všech případech statisticky významné v důsledku značných individuálních rozdílů i mezi fety jednoho vřhu.

Množství celkové bílkoviny syntetizované v 1 g orgánu prasečích fétů se od 58. do 95. dne gestace významně snižovalo s výjimkou trachey a tlumy. Je však nutno brát v úvahu, že se ve sledovaném období hmotnost prasečích plodů zvýší asi 6–7násobně, takže absolutní množství celkové bílkoviny, která se v organismu vytvoří, se zvyšuje.

Literatura

- AVRAMEAS, S. — TERNYNCK, T.: The cross-linking of proteins with glutaraldehyde and its use for the preparation of immunoadsorbents. *Immunochemistry*, 6, 1969, s. 53–66.
- AXEN, R. — PORATH, J. — ERNBACK, S.: Chemical coupling of peptides and proteins to polysaccharides by means of cyanogen halides. *Nature*, 214, 1967, s. 1302–1304.
- BOURNE, F. J. — CURTIS, J. — JOHNSON, R. H. — COLLINES, D. F.: Antibody formation in porcine fetuses. *Res. vet. Sci.*, 16, 1974, s. 223–227.
- BROWN, P. J. — BOURNE, F. J.: Distribution of immunoglobulin containing cells in alimentary tract, spleen and mesenteric lymph node of the young pigs as demonstrated by peroxidase-conjugated antiserum. *Am. J. vet. Res.*, 37, 1976, s. 1309–1314.

- CHAPMAN, H. A. — JOHNSON, J. S. — COOPER, M. D.: Ontogeny of Peyer's patches and immunoglobulin-containing cells in pigs. *J. Immunol.*, 112, 1974, s. 555-563.
- FRANZ, J. — MENŠÍK, J. — POKORNÝ, J.: Detection of antibodies and characterization of immunoglobulins in precolostral piglet sera. *Acta vet.*, Brno, 40, 1971, s. 75-80.
- FRANĚK, F. — ŘÍHA, I. — ŠTERZL, J.: Characteristics of gamma-globulin lacking antibody properties in newborn pigs. *Nature*, 189, 1961, s. 1020-1022.
- HAMPL, J. — FRANZ, J. — ŠTĚPÁNEK, J. — HOLUB, A. — MENŠÍK, J.: Immunoglobulin proteosynthesis in organ cultures from newborn piglets. *Acta vet.*, Brno, 49, 1980, s. 67-74.
- JAROŠKOVÁ, L.: Membrane receptors on lymphocytes. Ontogenic studies in the foetal pig. *Acta vet.*, Brno, 46, 1977, s. 55-82.
- KIM, Y. B. — BRADLEY, S. G. — WATSON, D. W.: Ontogeny of the immune response. I. Development of immunoglobulins in germfree and conventional colostrum-deprived piglets. *J. Immunol.*, 97, 1966, s. 52-53.
- KIM, Y. B. — BRADLEY, S. G. — WATSON, D. W.: Ontogeny of the immune response. II. Characterization of 19S gamma G immunoglobulins in the time of primary and secondary responses in piglets. *J. Immunol.*, 97, 1966a, s. 189-196.
- KIM, Y. B. — BRADLEY, S. G. — WATSON, D. W.: Ontogeny of the immune response. III. Characterization of X-component in germfree and conventional colostrum-deprived piglets. *J. Immunol.*, 98, 1967, s. 868-873.
- LAI, R. — McCLELLAND, D. — VAN FURTH, R.: *In vitro* synthesis of immunoglobulins secretory component, complement and lysozyme by human gastrointestinal tissues. *Clin. exp. Immunol.*, 23, 1976, s. 9-19.
- LEE HAND, W. — CANTEY, J. R.: Antibacterial mechanisms of the lower respiratory tract. I. Immunoglobulin synthesis and secretion. *J. Clin. Invest.*, 53, 1974, s. 354-362.
- PORTER, P.: Transfer of immunoglobulins IgG, IgA and IgM to lacteal secretions in the parturient sows and absorption by the neonatal piglets. *Biochem. Biophys. Acta*, 181, 1969, s. 381-392.
- PROKEŠOVÁ, L. — REJNEK, J. — ŠTERZL, J. — TRÁVNÍČEK, J.: Isolation and characterization of immunoglobulins in the serum of precolostral piglets. *Folia microbiol.*, 14, 1969, s. 372-376.
- PROKEŠOVÁ, L. — REJNEK, J. — KOSTKA, J. — TRÁVNÍČEK, J.: Further evidence of active synthesis of immunoglobulins in precolostral germfree piglets. *Folia microbiol.*, 15, 1970, s. 337-340.
- PROKEŠOVÁ, L. — REJNEK, J.: Active synthesis of IgA in newborn precolostral piglets. *Folia microbiol.*, 16, 1971, s. 476-478.
- PROKEŠOVÁ, L. — REJNEK, J.: Molecular heterogeneity of newborn piglets IgG. *Immunochimistry*, 10, 1973, s. 607-609.
- PROKEŠOVÁ, L. — REJNEK, J. — ŠTERZL, J.: The immunoglobulins and antibody activity in sera of pig fetuses and colostrum-deprived newborns. *Acta vet.*, Brno, 46, 1977, suppl. 4, s. 83-118.
- PROKEŠOVÁ, L. — KOVÁŘŮ, F. — JAROŠKOVÁ, L. — KOSTKA, J. — HAVRÁNEK, T. — REJNEK, J.: Ontogeny of immunoglobulin synthesis. Production of IgM, IgG and IgA in newborn piglets. *Develop. Comp. Immunol.*, 3, 1979, s. 127-138.
- SVENNERHOLM, A. M. — HOLMGREN, I.: Immunoglobulin and specific-antibody synthesis *in vitro* by enteral and nonenteral lymphoid tissue after subcutaneous cholera immunization. *Infect. Immunol.*, 15, 1977, s. 360-369.
- ŠTERZL, J. — KOSTKA, J. — ŘÍHA, I. — MANDEL, L.: Attempts to determine the formation and character of gamma-globulin and of natural and immune antibodies in young pigs reared without colostrum. *Folia microbiol.*, Praha, 5, 1960, s. 29-45.
- ŠTERZL, J. — SILVERSTEIN, A. M.: Developmental aspects of immunity. *Adv. Immunol.*, 6, 1967, s. 337-495.
- WELLMANN, G. — ENGEL, H.: Immunologische Untersuchungen an künstlich aufgezogenen Ferkeln. I. Mitteilung: Über das Serumweißbild bei steril geborenen, ohne Kolostralmilch aufgezogenen Ferkeln in den ersten Lebensmonaten. II. Mitteilung: Vergleich der Antikörper mit der Gamma-Globulin-Bildung bei steril geborenen, kolostralmilchfrei aufgezogenen Ferkeln. *Zentbl. Bakt. ParasitKde.*, 190, 1963, s. 243-261, 262-276.

ФРАНЗ, Я. — ГАМПЛ, Я. — ШТЕПАНЕК, Я. — ГОЛУБ, А. — МЕНШИК, Я. — СЕДЛАЧЕК, М. (Научно-исследовательский институт ветеринарии, Брно): Секреция иммуноглобулинов в органах свиных фетов в системе *in vitro*. Vet. Med., Praha, 27, 1982 (1): 11-18.

С помощью культивирования фрагментов селезенки, зубной железы, трахеи, легких, печени, подвздошной железы, тощей кишки и мезентеральной лимфатической железы, а также посредством последующей аффинитетной хроматографии был доказан синтез IgG, IgM и IgA в свиных фетах в возрасте 58, 75 и 95 дней. Доля IgG, IgM и IgA в синтезированном белке, высвобождаемом в культивационную среду, начиная с 58-95-го дней возраста фетов увеличивалась во всех тестируемых органах, за исключением культур из печени, в которых секреция IgG и IgA была понижена, и из селезенки, в которых был понижен лишь синтез IgG.

свиной фет; иммуноглобулины IgG, IgM, IgA; общий протеин

FRANZ, J. — HAMPL, J. — ŠTĚPÁNEK, J. — HOLUB, A. — MENŠÍK, J. — SEDLÁČEK, M. (Veterinary Research Institute, Brno): *Immunoglobulin Secretion in Pig Foetus Organs Cultivated in vitro*. Vet. Med., Praha, 27, 1982 (1): 11-18.

By cultivation of the spleen, thymus, trachea, lung, liver, ileum, jejunum and mesenterial lymphatic node fragments and by subsequent affinity chromatography IgG, IgM and IgA synthesis was proved in 58-day, 75-day and 95-day old pig foetuses. In 58-day to 95-day old foetuses, the IgG, IgA and IgM proportion in synthesised protein released into the culture medium increased in all tested organs, except of the liver organ cultures where the IgG and IgA secretion decreased and spleen organ cultures where only IgG synthesis decreased.

pig foetus; IgG, IgM and IgA immunoglobulins; total protein content

FRANZ, J. — HAMPL, J. — ŠTĚPÁNEK, J. — HOLUB, A. — MENŠÍK, J. — SEDLÁČEK, M. (Forschungsinstitut für Veterinärmedizin, Brno): *Sekretion von Immunoglobulinen in Organen von Schweinefetussen im System in vitro*. Vet. Med., Praha, 27, 1982 (1): 11-18.

Durch die Kultivation der Fragmente von Milz, Thymus, Tracheen, Lungen, Leber, Ileum, Jejun und lymphatischem Mesentriumganglion und durch die darauf folgende Affinitätschromatographie wurde die Synthese von IgG, IgM und IgA in Schweinefetussen nachgewiesen, die 58, 75 und 95 Tage alt sind. Es erhöhte sich der Anteil an IgG, IgA und IgM im synthetisierten Eiweißstoff, der ins Kultivationsmedium gelangte, (Alter von Fetussen — 58 bis 95 Tage) in allen getesteten Organen mit Ausnahme von Organkulturen der Leber, in denen die Sekretion von IgG und IgA sank, und in Organkulturen von Milz, in denen nur die Synthese von IgG sank.

Schweinefetus; Immunoglobuline IgG, IgM, IgA; Gesamteiweißstoff

Adresa autorů:

RNDr. Jaroslav Franz, RNDr. Jaroslav Hampl, MVDr. Jan Štěpánek, CSc., prof. MVDr. Antonín Holub, DrSc., doc. MVDr. Jaromír Menšík, CSc., ing. Miroslav Sedláček, Výzkumný ústav veterinárního lékařství, Hudcova 70, 621 32 Brno

VLIV PŘÍDAVKU RUMENSINU V DIETĚ BÝČKŮ NA KVALITU JEJICH MASA

A. Mikulík, R. Dvořák, L. Knesel, M. Vávrová, I. Žoldošová

MIKULÍK, A. — DVOŘÁK, R. — KNESEL, L. — VÁVROVÁ, M. — ŽOLDOŠOVÁ, I. (Vysoká škola veterinární, Brno): *Vliv přídatku Rumensinu v dietě býčků na kvalitu jejich masa*. Vet. Med., Praha, 27, 1982 (1) : 19-24.

V poloprovozním pokuse byl býčkům přidáván do krmné dávky monensinát sodný v preparátu Rumensin v dávce 125 mg na kus a den po dobu 14 měsíců. U pokusných býčků se zvětšil denní přírůstek hmotnosti o 3,85 % a snížila spotřeba krmiva o 7,12 %. V mase deseti vyšetřených pokusných býčků (*m. longissimus dorsi*) nebyly zjištěny statisticky významné rozdíly v základním chemickém složení proti deseti býčkům kontrolním. U pokusné skupiny poklesl v mase obsah hydroxyprolinu o 35,14 % (z hodnoty 0,12 na 0,08 g na 100 g syrové tkáně — $P < 0,05$), glycinu o 8,82 % (z hodnoty 3,63 na 3,31 g na 100 g sušiny — $P < 0,01$) a alaninu o 5,86 % (z hodnoty 5,12 na 4,82 g na 100 g sušiny — $P < 0,05$). Z esenciálních aminokyselin vzrostl obsah valinu v mase pokusné skupiny býčků o 4,76 % (z hodnoty 3,99 na 4,18 g na 100 g sušiny — $P < 0,05$). Monensinát sodný příznivě ovlivnil přírůstek hmotnosti a konverzi živin u býčků, neměl vliv na základní chemické složení, ani výrazný vliv na obsah aminokyselin, s výjimkou hydroxyprolinu a zejména esenciálních aminokyselin v jejich mase. Pokles obsahu hydroxyprolinu signalizuje plnohodnotnější bílkoviny.

spotřeba krmiva; základní složení masa; aminokyseliny v mase; monensinát sodný (Rumensin); výkrm býčků

V souladu s požadavky racionální výživy obyvatelstva je vyvíjen tlak na zemědělskou velkovýrobu, aby dodávala jatečná zvířata nejen v plánovaném a stále se zvyšujícím množství, ale také v určité jakosti. Živočišná výroba proto hledá nové cesty, jak zvýšit užitkovost zvířat při současném využití tradičních zdrojů krmiv. Jednou z možností je zvýšit konverzi živin biologicky účinnými krmnými aditivy. Takovou látkou je např. monensinát sodný (preparát Rumensin), který se již běžně používá.

Podle údajů Dvořáka aj. (1977) se monensin řadí mezi fermentační produkt plísně, který působí pozitivně na konverzi živin. Aktivní substancí preparátu Rumensin je monensin, který má vlastnosti slabé kyseliny. Patří do skupiny látek, které se získávají fermentačními procesy plísně kmene *Streptomyces cinamonensis*. Monensinát sodný je ve vodě slabě rozpustný, dobře rozpustný je v organických rozpouštědlech. Empirický vzorec monensinátu sodného $C_{38}H_{61}O_{12}Na$, molekulavá hmotnost je 692, bod tání 267—269 °C. Z práce, kterou publikovali Jagoš aj. (1977), je zřejmé, že monensinát sodný obsažený v krmných dávkách má specifický vliv na tvorbu těkavých mastných kyselin v bachorové

tekutině. Celkové množství kyselin se nemění, ale ke změnám dochází v zastoupení jednotlivých kyselin. Výrazně klesá množství kyseliny octové a n-máselné, na druhé straně se až o 70 % zvyšuje obsah kyseliny propionové; obsah kyseliny izomáselné se nemění. Tyto změny poměrů těkavých mastných kyselin v bachorové tekutině snižují energetické ztráty, protože využití kyseliny propionové je efektivnější než využití kyseliny octové a máselné.

Pro praxi je důležité, že po aplikaci Rumensinu se zvyšují hmotnostní přírůstky zvířat až o 18 % a využití krmiva se zvyšuje při dávce 200 mg na kus a den asi o 14 %.

Podle údajů Diniuse aj. (1976) nemělo podávání 33 mg monensinu na kus a den volkům vliv na celkové množství těkavých mastných kyselin v bachorové tekutině, ale snížil se obsah kyseliny octové (z 66,7 na 61,3 %) a zvýšil se obsah kyseliny propionové (z 20,1 na 26,1 %). V bachorové tekutině nebyly pozorovány změny v počtu protozoí, mikroorganismů celkem a proteolytických mikroorganismů. Perry aj. (1976) uvádějí, že po aplikaci monensinu se dosáhlo úspory krmiva o 10 %, ale přírůstky pokusné i kontrolní skupiny byly stejné.

Potter aj. (1976) u volků a jalovic prokázali, že dávka 200 mg na kus a den zvýšila přírůstek o 17 %. Při jatečném hodnocení pokusných a kontrolních zvířat nepozorovali tyto autoři statisticky významné rozdíly ve výtěžnosti, v jakosti masa, ploše *musc. longissimus dorsi*, tloušťce loje na nízkém roštenci, ve výtěžnosti ledvinového, pánevního a osrdečnickového loje. Nezjistili ani větší výskyt jaterních lézí u pokusných zvířat.

Ve většině prací nebyly popsány negativní účinky preparátu na zdravotní stav zvířat a jejich jatečnou jakost. Pouze jednou byl u pokusných zvířat pozorován výrazně větší výskyt nekrotických ložisek, popřípadě abscesů na játrech, a to v práci Perryho aj. (1976).

MATERIÁL A METODY

Pokus s aplikací Rumensinu do krmné dávky skotu probíhal od 20. 12. 1976 v JZD Tisová, okres Ústí nad Orlicí, ve spolupráci s katedrou diagnostiky, terapie a prevence VŠV Brno. Do pokusu bylo zařazeno 251 kontrolních a 252 pokusných býčků s počáteční průměrnou hmotností 200 kg. Jednalo se o býčky plemene české strakaté. Pokusné skupině byl podáván monensinát sodný v preparátu Rumensin v dávce 125 mg na kus a den. Po dosažení živé hmotnosti 550 až 600 kg bylo 26. 2. 1978 poraženo na jatkách ve Vysokém Mýtě deset kontrolních a deset pokusných býčků.

Tento příspěvek navazuje na dříve publikované práce (Dvořák aj., 1980, 1980a, b).

Pro laboratorní vyšetření byly do 30 minut po porážce odebrány vzorky masa (*m. longissimus dorsi*) a jater. Ve vzorcích masa byly stanoveny sušina, popel, tuk, celkový dusík, byl vypočten obsah celkových bílkovin, spektrum aminokyselin a hydroxyprolin. V játrech byl stanoven obsah tuku.

Sušina byla stanovena vázkovou metodou při teplotě 105 °C po dobu 48 hodin. Popel byl stanoven spalováním při teplotě 550 °C po dobu 48 hodin. Tuk ze svaloviny a jater byl extrahován na Soxhletově přístroji směsí chloroform : metanol (2 : 1).

Celkový dusík byl stanoven mikrokjeldahlizací podle Joslyna (1970) v Markhamově destilačním přístroji.

Aminokyseliny po kyselé hydrolyze byly stanoveny na automatickém analyzátoru aminokyselin AAA 881 (Mikrotechna Praha).

Pro stanovení hydroxyprolinu byl použit stejný hydrolyzátor jako pro stanovení aminokyselin. K vlastnímu stanovení bylo použito metody podle Arnetha a Hamma (1971).

Výsledky byly statisticky vyhodnoceny metodou podle Reisenauera (1970). V tabulkách jsou uvedeny aritmetické průměry, směrodatné odchylky a statistická významnost podle Studentova *t*-testu $P < 0,05^+$, $P < 0,01^{++}$, $P < 0,001^{+++}$.

VÝSLEDKY A DISKUSE

Výsledky uvedené v tab. I a II dokumentují pokus, v němž býčci o počáteční hmotnosti 200 kg dostávali zhruba 14 měsíců 125 mg monensinátu sodného na kus a den. V průběhu pokusu na katedře diagnostiky, terapie a prevence VŠV zjištěno, že se denní přírůstek hmotnosti u pokusných býčků zvýšil proti býčkům kontrolním o 3,85 % a že spotřeba krmiva se snížila o 7,12 % (Dvořák aj., 1980b). Přestože v tomto pokuse nebylo provedeno jatečné a bourárenské hodnocení, lze považovat výsledky dosažené při výkrmu u pokusné skupiny býčků za velmi příznivé.

Jak je zřejmé z tab. I, nebyly zjištěny statisticky významné rozdíly v základním složení masa. Pouze pokles hydroxyprolinu u pokusné skupiny o 35,1 % byl statisticky významný ($P < 0,05$).

Jak vyplývá z tab. II, v zastoupení aminokyselin se projevil pouze ojedinělé statisticky významné rozdíly. Vzhledem k tomu, že se jedná u pokusné skupiny v absolutních číslech o mírný pokles glycinu ($P < 0,01$) a alaninu ($P < 0,05$), tj. aminokyselin neesenciálních, a o mírný vzestup valinu ($P < 0,05$), což je aminokyselina esenciální, lze říci, že zkrmování monensinu mělo nepatrný vliv na kvantitativní vztahy ve spektru aminokyselin v mase.

K obdobným výsledkům z hlediska základního chemického složení masa býčků dospěl i Vrchla bs k ý (1980), který hodnotil pokus, v němž byl monensinát sodný zkrmován býčkům v dávce 200 mg na kus a den po dobu 6 až 11 měsíců.

Souhrnně lze říci, že zkrmování monensinátu sodného v dávce 125 mg na kus a den mělo příznivý vliv na přírůstek, snížilo spotřebu krmiva, nemělo výrazný vliv ani na základní složení masa, ani na kvan-

I. Základní složení masa býčků při aplikaci monensinátu sodného v dávce 125 mg na kus *pro die* — The basic composition of the meat of bullocks fed a ration with 125 mg sodium monensinate per head/day

Název	Kontrolní skupina <i>n</i> = 10		Pokusná skupina <i>n</i> = 10	
	$\bar{x}$	<i>s</i>	$\bar{x}$	<i>s</i>
Sušina %	24,21	0,73	23,62	1,43
Popel %	1,40	0,94	1,03	0,27
Bílkoviny (N $\times$ 6,25) %	21,12	0,66	20,71	1,31
Tuk v mase %	4,06	0,46	4,24	1,17
Hydroxyprolin %	0,12	0,05	0,08 ⁺	0,03
Tuk v játrech %	7,19	0,52	7,23	0,65

$P < 0,05^+$ $P < 0,01^{++}$ $P < 0,001^{+++}$

II. Obsah aminokyselin v mase býčků (procent v sušině) při aplikaci monensinátu sodného v dávce 125 mg na kus *pro die* — Amino acid content (percentage in dry matter) in the meat of bullocks fed a ration with 125 mg sodium monensinate per head/day

Název	Kontrolní skupina <i>n</i> = 10		Pokusná skupina <i>n</i> = 10	
	$\bar{x}$	<i>s</i>	$\bar{x}$	<i>s</i>
Lysin x	9,54	0,60	9,36	0,38
Histidin	4,85	0,33	4,75	0,30
Arginin	4,73	0,36	5,22	0,68
Kyselina asparagová	7,66	0,42	7,82	0,14
Threonin x	3,78	0,23	3,78	0,10
Serin	3,19	0,22	3,20	0,13
Kyselina glutamová	13,06	1,21	12,52	0,67
Prolin	2,75	0,46	2,70	0,43
Glycin	3,63	0,23	3,31 ⁺⁺	0,17
Alanin	5,12	0,34	4,82 ⁺	0,14
Valin x	3,99	0,21	4,18 ⁺	0,18
Methionin x	2,09	0,13	3,22	2,33
Izoleucin x	3,40	0,45	3,61	0,14
Leucin x	6,71	0,30	6,62	0,54
Thyrosin	3,10	0,60	3,33	0,68
Fenylalanin x	2,87	0,23	2,87	0,17

$P < 0,05^+$ $P < 0,01^{++}$ $P < 0,001^{+++}$ x — esenciální aminokyseliny

titativní obsah aminokyselin v mase, vyjma hydroxyprolinu. Výrazný pokles hydroxyprolinu v mase pokusné skupiny býčků svědčí pro nižší obsah pojivové tkáně a pro plnohodnotnější bílkoviny v jejich mase.

Literatura

- ARNETH, W. — HAMM, R.: Untersuchungen zur Methodik der Hydroxyprolin-Bestimmung in Fleisch und Fleischwaren. *Fleischwirtschaft*, 51, 1971, č. 10, s. 1523-1526.
- DINIUS, D. A. — SIMPSON, M. E. — MARSH, P. B.: Effect of monensin fed with forage on digestion and the ruminal ecosystem of steers. *J. anim. Sci.*, 42, 1976, č. 1, s. 229-234.
- DVOŘÁK, R. — JAGOŠ, P. — VRBA, Z.: Některé vlastnosti Rumensinu a jeho využití u přežvýkavců. *Veterinářství*, 27, 1977, č. 7, s. 303.
- DVOŘÁK, R. — DVOŘÁK, J. — VRBA, Z. — HRADILOVÁ, M. — ONDROVÁ, J.: Vliv Rumensinu na metabolický profil bacherové tekutiny u žirného skotu. *Vet. Med.*, Praha, 25, 1980, č. 10, s. 585-600.
- DVOŘÁK, R. — DVOŘÁK, J. — VRBA, Z. — BOUDA, J.: Vliv Rumensinu na zdravotní stav a energetický metabolismus u žirného skotu. *Vet. Med.*, Praha, 25, 1980a, č. 10, s. 601-614.
- DVOŘÁK, R. — DVOŘÁK, J. — VRBA, Z. — ILLEK, J.: Vliv Rumensinu na mi-

nerální metabolismus a konverzi živin u žírného skotu. Vet. Med., Praha, 25, 1980b, č. 11, s. 641-652.

JAGOS, P. — DVOŘÁK, R. — VRBA, Z.: Vliv Rumensinu na metabolismus těkavých mastných kyselin v bachorové tekutině. Veterinářství, 27, 1977, č. 8, s. 342-343.

JOSLYN, M. A.: Methods of food analysis. Physical, chemical and instrumental methods of analysis. II. edit. New York and London, Acad. Press 1970.

Materiály fy Elanco: Rumensin — a feed additive for beef cattle (Summary of research data.) 1978, 87 s.

PERRY, T. W. — BEESON, W. M. — MOHLER, M. T.: Effect of monensin on beef cattle performance. J. anim. Sci., 42, 1976, č. 3, s. 761-765.

POTTER, E. L. aj.: Effect of monensin on performance of cattle fed forage. J. anim. Sci., 43, 1976, č. 3, s. 665-669.

REISENAUER, R.: Metody matematické statistiky a jejich aplikace v technice. Red. I. Bergerová, II. vyd. Praha, SNTL 1970. 239 s.

VRCHLABSKÝ, J.: Einfluß des Natriummonensinats auf die Qualität von Rindfleisch. Fleischwirtschaft, 60, 1980, č. 9, s. 1732-1735.

Došlo dne 6. 7. 1981

МИКУЛИК, А. — ДВОРЖАК, Р. — КНЕСЕЛ, Л. — ВАВРОВА, М. — ЖОЛДОШОВА, И. (Институт ветеринарии, Брно): Влияние добавки Руменсина в диете бычков на качество их мяса. Vet. Med., Praha, 27, 1982 (1): 19-24.

В ходе полупроизводственного опыта бычкам добавляли в рацион натриевый моненсинат в препарате Руменсин в дозе 125 мг на голову в сутки в течение 12 месяцев. Их суточные привесы были увеличены на 3,85 %, а расход корма был сокращен на 7,12 %. В мясе 10 подопытных бычков (*m. longissimus dorsi*) не установлено статистически значимых различий в основном химическом составе по сравнению с 10 контрольными бычками. В подопытной группе содержание гидроксипролина в мясе было сокращено на 35,14 % (с величины 0,12 до 0,08 г на 100 г сырой ткани — $P < 0,05$), глицина — на 8,82 % (с величины 3,63 до 3,31 г на 100 г сухого вещества — $P < 0,01$) и аланина — на 5,86 % (с величины 5,12 до 4,82 г на 100 г сухого вещества — $P < 0,05$). Из эссенциальных аминокислот содержание валина в мясе подопытных бычков возросло на 4,76 % (с величины 3,99 до 4,18 г на 100 г сухого вещества — $P < 0,05$). Натриевый моненсинат стимулирует привесы и превращение кормов, не оказывая влияние ни на основной химический состав, ни на содержание аминокислот (за исключением гидроксипролина и, главное, эссенциальных аминокислот) в их мясе. Убыль гидроксипролина свидетельствует об улучшении качества белка.

кормопотребление; основной состав мяса; аминокислоты в мясе; моненсинат натрия (Руменсин); откорм бычков

MIKULÍK, A. — DVOŘÁK, R. — KNESEL, L. — VÁVROVÁ, M. — ŽOLDOŠOVÁ, I. (University of Veterinary Medicine, Brno): The Effect of Rumensin Supplement to Bullock Diet on the Meat Quality. Vet. Med., Praha, 27, 1982 (1): 19-24.

In a pilot experiment, bullocks were given diet with a sodium monensinate supplement as the Rumensin preparation. The dose of the supplement was 125 mg per head/day and the medicated feed was given to the bullocks for 14 months. The daily weight gain of the tested bullocks increased by 3.85 % and feed consumption decreased by 7.12 %. The meat of the ten bullocks examined (*m. longissimus dorsi*) showed no statistically significant changes in the basic chemical composition as compared with the meat of ten control bullocks. In the tested group the content of hydroxyproline in meat decreased by 35.14 % (from 0.12 to 0.08 g per 100 g of fresh tissue — $P < 0.05$). The content of glycine decreased by 8.82 % (from 3.63 to 3.31 g per 100 g of dry matter — $P < 0.01$). The content of alanine decreased by 5.86 % (from 5.12 to 4.82 g per 100 g of dry matter — $P < 0.05$). As to essential amino acids, the content of valine in the meat of the tested bullocks increased by 4.76 % (from 3.99 to 4.18 g per 100 g of dry matter — $P < 0.05$). Sodium monensinate exerted a favourable influence on weight gains and nutrient conversion in the bullocks. It had no effect on the basic chemical composition and no marked influence on the content of amino acids, except hydroxyproline and, particularly, essential

amino acids in the meat of the tested bullocks. A reduction in the content of hydroxyproline signalizes higher-value proteins.

feed consumption; basic meat composition; amino acids in meat; sodium monensinate (Rumensin); bullock fattening

MIKULÍK, A. — DVOŘÁK, R. — KNESEL, L. — VÁVROVÁ, M. — ŽOLDOŠOVÁ, I. (Veterinärmedizinische Hochschule, Brno): *Einfluß der Zugabe von Rumensin in der Diät von Jungbullen auf die Güte ihres Fleisches*. Vet. Med., Praha, 27, 1982 (1) : 19-24.

In einem halbtechnischen Versuch wurde den Jungbullen in die Futtergabe Natriummonensinat im Präparat Rumensin in der Gabe von 125 mg je Stück und Tag im Laufe von 14 Monaten zugegeben. Bei den Versuchsjungbullen erhöhte sich die Tagesmassenzunahme um 3,85 % und sank der Futtermittelverbrauch um 7,12 %. Im Fleisch von zehn untersuchten Versuchsjungbullen (*m. longissimus dorsi*) wurden keine statistisch signifikanten Unterschiede in der grundlegenden chemischen Zusammensetzung gegenüber zehn Kontrolljungbullen festgestellt. Bei der Versuchsgruppe sank im Fleisch der Gehalt an Hydroxyprolin um 35,14 % (vom Wert 0,12 auf 0,08 g auf 100 g Rohgewebe — $P < 0,05$), an Glyzin um 8,82 % (vom Wert 3,63 auf 3,31 g auf 100 g Trockenmasse — $P < 0,01$) und an Alanin um 5,86 % (vom Wert 5,12 auf 4,82 g auf 100 g Trockenmasse — $P < 0,05$). Von den essentiellen Aminosäuren erhöhte sich der Gehalt an Valin im Fleisch der Versuchsgruppe von Jungbullen um 4,76 % (vom Wert 3,99 auf 4,18 g auf 100 g Trockenmasse — $P < 0,05$). Das Natriummonensinat beeinflusste günstig die Massenzunahmen und die Konversion von Nährstoffen bei Jungbullen, hatte keinen Einfluß auf die grundlegende chemische Zusammensetzung und keinen deutlichen Einfluß auf den Gehalt an Aminosäuren und vor allem an essentiellen Aminosäuren in ihrem Fleisch (Ausnahme — Hydroxyprolin). Die Senkung des Gehaltes an Hydroxyprolin signalisiert vollwertigere Eiweißstoffe.

Verbrauch an Futtermitteln; grundlegende Fleischzusammensetzung; Aminosäuren im Fleisch; Natriummonensinat (Rumensin); Mast von Jungbullen

Adresa autora:

Doc. MVDr. Antonín Mikulík, CSc., doc. MVDr. Rudolf Dvořák, CSc., RNDr. Lubomír Knesel, RNDr. Milada Vávrová, MVDr. Iva Žoldošová, Vysoká škola veterinární, Palackého 1-3, 612 42 Brno

J. Lukášová, L. Němcová, M. Schánělová

LUKÁSOVÁ, J. — NĚMCOVÁ, L. — SCHÁNĚLOVÁ, M. (Vysoká škola veterinární, Brno): *Lipolytické mikroorganismy v játrových výrobcích*. Vet. Med., Praha, 27, 1982 (1) : 25-29.

Sledovali jsme obsah lipolytických mikroorganismů v játrových výrobcích po dobu výroby a skladování. Lipolytické mikroorganismy jsme zjistili ve všech vzorcích suroviny v rozsahu 10^4 až 10^7 na g. U hotových výrobků a u výrobků skladovaných při chladničkové teplotě byly jejich počty podstatně nižší (10 – 10^4 na g), v některých vzorcích nebyly vůbec zjištěny. Izolované kolonie lipolytických mikroorganismů byly zařazeny do rodů *Bacillus*, *Staphylococcus*, *Pseudomonas*, *Achromobacter*. Číslo kyselosti bylo v korelaci s počtem lipolytů u výrobků před tepelným opracováním a u výrobků skladovaných.

játrové výrobky; lipolytické organismy; celkový počet mikrobů; číslo kyselosti

Mikrobiální lipázy představují vedle proteáz nejdůležitější enzymy, které snižují kvalitu potravin. Lipolytické bakterie štěpí tuky na glycerol a mastné kyseliny. Ty procházejí dalšími změnami vlivem bakteriální a nebakteriální oxidace, redukce a polymerizace (Scheibner, 1970), čímž dochází ke žluknutí a lojovatění tuků.

Silnou lipolýzu vykazují tyto mikroorganismy: *Pseudomonas*, *Micrococcus*, *Staphylococcus*, *Bacillus*, *Achromobacter*, *Proteus*, *Serratia*, *Clostridium*, plísně a kvasinky.

Lipolytická aktivita mikroorganismů je výsledkem složité interakce různých pochodů. Jsou to např. mikrobiální růst, produkce a vylučování lipázy, vliv teploty, pH a složení prostředí (Johnson a Snygg, 1974).

Studiem lipolytické aktivity mikroorganismů a jejich výskytem v potravinách se zabývali Allford a Elliott (1969), Fehlhaber a Scheibner (1974), Rapp (1978), Mourey (1979) a jiní.

Cílem práce bylo sledovat výskyt lipolytických mikroorganismů v játrových výrobcích při jejich výrobě a skladování.

MATERIÁL A METODA

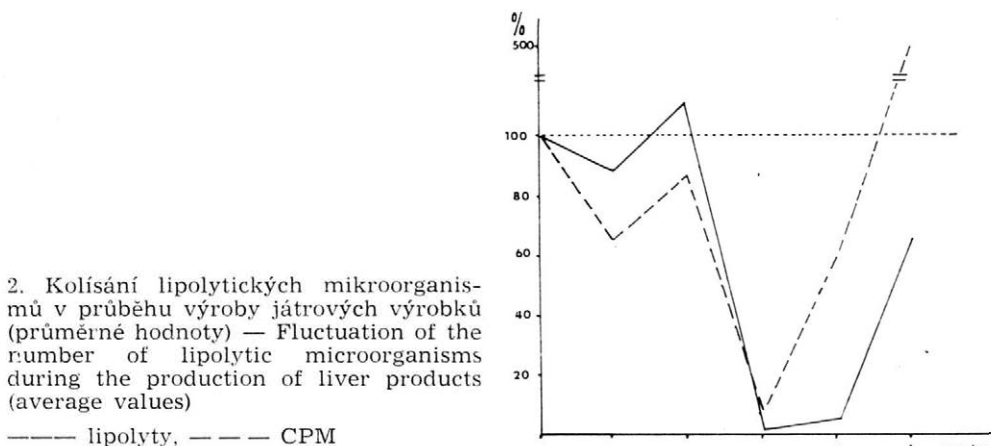
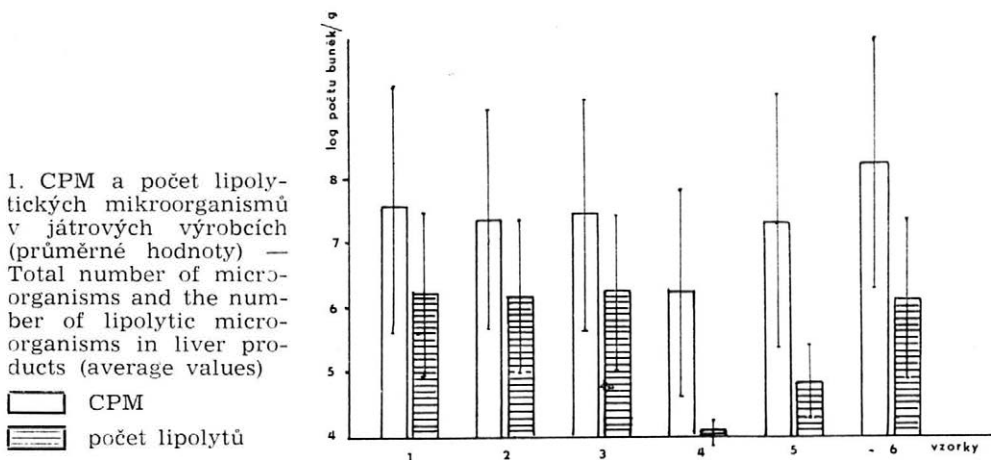
Vyšetřovaly jsme lahůdkové játrovky a játrové sýry. Odebíraly jsme tyto vzorky:

1. surovina v míchače,
2. surovina po rozmělnění v dezintegrátoru,
3. výrobek před tepelným opracováním,
4. výrobek po tepelném opracování (75°C 30 min),
5. výrobek skladovaný při chladničkové teplotě (4°C) sedm dní,
6. výrobek skladovaný při pokojové teplotě sedm dní.

10 g každého vzorku bylo zhomogenizováno a byla připravena ředění 10^{-1} až 10^{-7} . Celkový počet mikrobů byl stanoven na masopeptonovém agaru metodou roz-
těru (ČSN 56 0100). Pro stanovení lipolytických mikroorganismů byly použity tyto
půdy: agar s nilskou modří a emulgovaným tukem (ČSN 56 0100), masopeptonový
agar s Tweenem 20, 40, 60 (Pazdiora a Serbus, 1970) a modifikovaná půda
Frazierova s želatinou a Tweenem 80. Všechny misky byly inkubovány při teplo-
tě 30°C 48 až 72 hodiny. Kolonie vykazující lipolýzu byly izolovány a zařazeny do
rodů (Arpai a Bartl, 1977). Současně bylo sledováno číslo kyselosti u izolova-
ného tuku titrací 0,1N KOH (Vet. lab. vyšetř. metodiky, 1975). Výsledky byly hod-
noceny statisticky (Reisenauer, 1965).

VÝSLEDKY

Vyšetřovaly jsme celkem 198 vzorků játrových sýrů a játrovek ve
33 výrobních šaržích. Lipolytické mikroorganismy jsme zjistily ve všech
vzorcích surovin v rozsahu 10^4 až 10^7 g $^{-1}$. U hotových výrobků a výrob-



1 — surovina v míchačce, 2 — surovina po rozmělnění v dezintegrátoru, 3 — hotový výrobek před tepelným opracováním, 4 — hotový výrobek po tepelném opracování, 5 — výrobek skladovaný při chladničkové teplotě, 6 — výrobek skladovaný při pokojové teplotě

ků skladovaných při chladničkové teplotě byly jejich počty podstatně nižší ($10-10^4 \cdot g^{-1}$), v mnoha vzorcích nebyly zjištěny vůbec. Skladování při pokojové teplotě se jejich množství zvýšilo na průměrnou hodnotu $1,7 \cdot 10^6 \cdot g^{-1}$. Nálezy lipolytických mikroorganismů jsme hodnotili souběžně s celkovým počtem mikrobů (obr. 1). U suroviny tvořily průměrně 4 až 6 % z celkového počtu mikrobů, u hotových výrobků pouze 0,33 %. Závislost počtu lipolytů na celkovém počtu mikrobů nebyla statisticky prokázána. Kolísání lipolytů v průběhu technologického zpracování játrových výrobků je zaznamenáno v obr. 2. Kolonie vykazující lipolýzu jsme zařadily do těchto rodů: *Bacillus*, *Staphylococcus*, *Pseudomonas*, *Achromobacter*. Izolované kvasinky jsme blíže neurčovaly.

Číslo kyselosti bylo v korelaci s počtem lipolytů u výrobků před tepelným opracováním a u výrobků skladovaných (tab. I).

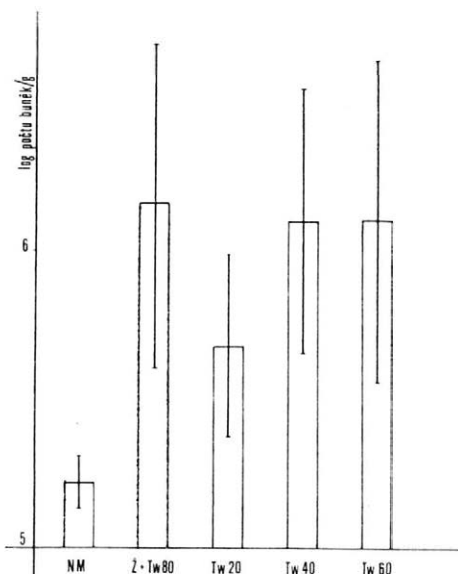
Největší záchyt lipolytických mikroorganismů z pěti použitých selektivních médií jsme zjistily na modifikované půdě s Tweenem 80, nejmenší pak na agaru s nilskou modří a emulgovaným tukem (obr. 3).

I. Počet lipolytů a číslo kyselosti u játrových výrobků (průměrné hodnoty) — The number of lipolytes and the acidity number in liver products (average values)

Vzorek		Počet lipolytů na g	č. k. mg KOH na g	r
Játrové výrobky	před tepelným zpracováním	$3,27 \cdot 10^6$	3,94	0,55 ⁺
	po tepelném zpracování	$2,9 \cdot 10^4$	4,1	1,19
	po uskladnění při chladničkové teplotě	$1,1 \cdot 10^5$	4,3	0,60 ⁺⁺
	po uskladnění při pokojové teplotě	$2,7 \cdot 10^7$	9,82	0,68 ⁺⁺

⁺ $P < 0,1$

⁺⁺ $P < 0,05$



3. Záchytnost lipolytických mikroorganismů na testovaných médiích — The catch rate of lipolytic microorganisms on the tested media

NM = agar se síranem nilské modři a emulgovaným tukem

Ž+Tw 80 = modifikovaná Frazierova půda s Tweenem 80

Tw 20, Tw 40, Tw 60 = masopectonový agar s Tweenem 20, 40, 60

Lipolytické mikroorganismy se výrazně podílejí na mikrobiální kvalitě potravin. Svojí enzymatickou činností mohou způsobovat chemické i smyslové změny potravin.

V našich pokusech jsme zaznamenaly vysoký počet lipolytických mikroorganismů v surovině a ve fázových vzorcích a jejich značný pokles po tepelném zpracování suroviny. Ve srovnání s proteolytickými mikroorganismy (Lukášová, 1981) se ani po sedmidenním skladování při chladničkové teplotě jejich počet zvlášť nezvýšil. Tato skutečnost je s největší pravděpodobností ovlivněna druhy přítomných mikroorganismů.

Číslo kyselosti bylo v korelaci s počtem lipolytů u suroviny a skladovaných výrobků. U vzorků po tepelném zpracování bylo vyšší než odpovídající zjištěný počet lipolytů. Jonsson a Snygg (1974) na základě sledování lipolytické aktivity u řady mikroorganismů na substrátech z jádrové paštiky a majonézy prokázali, že produkce lipázy není monotonní funkcí buněčného růstu. Lipolytická aktivita stoupá o měřitelná množství tehdy, dosáhne-li růst kultury stacionární fáze. Vztah mezi počtem lipolytických mikroorganismů a mezi hydrolyzační schopností autoři nezjistili.

Z uvedených poznatků vyplývá, že lipázy, které jsou v řadě případů termorezistentní, přetrvávají (na rozdíl od mikrobů) po tepelném zpracování ve výrobcích a podílejí se na zvyšování čísla kyselosti při jejich skladování. Termostabilitu extracelulárních lipáz prokázali ve svých pokusech Driessen a Stadhouders (1974). Podle Hrubého a Marešové (1973) je rezistence lipolytických enzymů vůči teplotě velmi variabilní a většina těchto enzymů je termolabilní.

Naše pokusy a práce mnoha dalších autorů potvrzují nutnost studia lipolytických mikroorganismů v surovinách i potravinách a potřebu získat znalosti o účinku lipolytických mikrobiálních enzymů za různých podmínek vnějšího prostředí.

Literatura

- ALFORD, J. A. — ELLIOTT, I. E.: Lipolytic activity of microorganisms at low and intermediate temperatures. *Fd Res.*, 25, 1960, s. 296-303.
- ARPAI, J. — BARTL, V.: *Potravinářska mikrobiologie*. Praha, SNTL 1977.
- ČSN 56 0100: Mikrobiologické zkoušení poživatin, předmětů běžného užívání a prostředí potravinářských provozoven.
- DRIESSEN, F. M. — STADHOUDERS, S.: Thermal activation and inactivation of extracellular lipases of some Gram-negative bacteria common in milk. *Neth. Milk Dairy J.*, 28, 1974, s. 10-22.
- FEHLHABER, K. — SCHEIBNER, G.: Mikrobielle Enzyme aus der Sicht der veterinärmedizinischen Lebensmittelhygiene. *Mh. VetMed.*, 29, 1974, s. 307-313.
- HRUBÝ, S. — MAREŠOVÁ, P.: Zdravotní rizika ze saprofytických mikroorganismů v poživatinách. *Čs. Hyg.*, 18, 1973, s. 287-291.
- JONSSON, V. — SNYGG, B. G.: Lipolytic microorganisms in cold stored foods. *Chem. Mikrobiol. Technol. Lebensm.*, 3, 1974, s. 113-118.
- LUKÁŠOVÁ, J.: Proteolytické mikroorganismy v jádrových výrobcích. *Vet. Med.*, Praha, 26, 1982 (v tisku).
- MOUREY, A.: Données sur la quantité et la qualité des bactéries lipolytiques dans des produits à base de viande. *Ann. Nutr. Aliment.*, 32, 1978, s. 843-856.
- PAZDIORA, A. — SERBUS, C.: Příspěvek k lipolytické aktivitě stafylokoků. *Čs. Epidem. Mikrobiol. Imunol.*, 19, 1970, s. 94-98.

RAPP, M.: Elektive Nährmedien zum Nachweis von Lipolyten. *Milchwissenschaft*, 33, 1978, s. 493-496.
REISENAUER, R.: *Metody matematické statistiky*. Praha, SNTL 1965.
SCHEIBNER, G.: Die Abhängigkeit der lipolytischen Aktivität verschiedener Bakterienarten vom Kochsalzgehalt, Zuckergehalt, und pH Wert der Nährsubstrate. *Mh. VetMed.*, 25, 1970, s. 916-918.
Veterinární laboratorní vyšetřovací metodiky. Praha, 1975.

Došlo dne 31. 7. 1981

ЛУКАШОВА, Й. — НЕМЦОВА, Л. — СГАНЕЛОВА, М. (Институт ветеринарии, Брно): Липолитические микроорганизмы в продуктах из печени. *Vet. Med.*, Praha, 27, 1982 (1) : 25-29.

Определяли содержание липолитических микроорганизмов в продуктах из печени в течение производства и хранения. Липолитические микроорганизмы обнаружены во всех образцах сыра в объеме 10^4 — 10^7 на г. В готовых и хранимых в холодильнике продуктах их численность существенно меньше: от 10 до 10^4 на г, а в некоторых образцах они вообще не обнаружены. Изолированные колонии этих микроорганизмов включили в сем. *Bacillus*, *Staphylococcus*, *Pseudomonas*, *Achromobacter*. Кислотное число коррелирует с численностью липолитов в продуктах до термической обработки и в хранимых продуктах.

продукты из печени; липолитические микроорганизмы; общая численность микробов; кислотное число

LUKÁŠOVÁ, J. — NĚMCOVÁ, L. — SCHÁNĚLOVÁ, M. (University of Veterinary Medicine, Brno): *Lipolytic Microorganisms in Liver Products*. *Vet. Med.*, Praha, 27, 1982 (1) : 25-29.

Products from liver were studied for the content of lipolytic microorganisms during production and storage. Lipolytic microorganisms were found in all samples of the products. Their occurrence ranged from 10^4 to 10^7 organisms per g. In finished products and in products stored at a refrigerator temperature their numbers were much lower (10 — 10^4 per g). Some samples were free from them. The isolated colonies of lipolytic microorganisms were included in the genera *Bacillus*, *Staphylococcus*, *Pseudomonas*, *Achromobacter*. The acidity number was in correlation with the number of lipolytes in products before thermal processing and in stored products.

liver products; lipolytic microorganisms; total number of microbes; acidity number

LUKÁŠOVÁ, J. — NĚMCOVÁ, L. — SCHÁNĚLOVÁ, M. (Veterinärmedizinische Hochschule, Brno): *Lipolytische Mikroorganismen in Leberprodukten*. *Vet. Med.*, Praha, 27, 1982 (1) : 25-29.

Es wurde der Gehalt an lipolytischen Mikroorganismen in den Leberprodukten während der Herstellung und der Lagerung verfolgt. Die lipolytischen Mikroorganismen wurden in allen Proben des Rohstoffes im Umfang von 10^4 bis 10^7 je g festgestellt. Bei den fertigen Produkten und bei den Produkten, die bei der Kühlschranktemperatur gelagert wurden, war ihre Anzahl wesentlich niedriger (10 — 10^4 je g), in einigen Proben wurden sie überhaupt nicht festgestellt. Die isolierten Kolonien der lipolytischen Mikroorganismen wurden in die Gattungen *Bacillus*, *Staphylococcus*, *Pseudomonas*, *Achromobacter* eingereiht. Die Gehalt an freie Fettsäuren befand sich in der Korrelation mit der Anzahl von Lipolyten bei Produkten vor der Wärmeverarbeitung und bei gelagerten Produkten.

Leberprodukte; lipolytische Mikroorganismen; Gesamtzahl von Mikroben; Gehalt an freie Fettsäuren

Adresa autorů:

MVDr. Jindra Lukášová, MVC. Libuše Němcová, MVC. Marta Schánělová, Vysoká škola veterinární, Palackého 1-3, 612 42 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.

War on warbles.

C 23.512/42/1979

Toronto (Ontario), Min. of agric. and food 1979, obr., tab. Factsheet 42/1979. (*Hypoderma lineatum* — cizopasníci — skot — hubení)

HOMAN, H. W. — STOLTZ, R. L.

C 17.554/538

Lice on beef cattle.

Moscow, University of Idaho 1980. 2 s., tab. Idaho current inform. series no 538. (Vši — cizopasníci — skot — hubení)

Fly control for the dairy herd.

E 19.689/656

Edinburgh, Min. of agric. fisheries and food 1980. Nestr., obr. Leaflet 656. (Mouchy — cizopasníci — dojnice — hubení — metody)

Fly and louse control on dairy cattle.

C 23.512/51/1978

Toronto (Ontario), Min. of agric. and food 1978. 4 s., tab. Factsheet no 78-051. (Cizopasníci vnější — mouchy a vši — dojnice — hubení — pesticidy)

Fly and louse control on beef cattle.

C 23.512

Toronto (Ontario), Min. of agric. and food. 1978. 4 s. Factsheet 44/78; 1979. 4 s. Factsheet 39/79; 1980. Nestr. Factsheet 58/80. (Mouchy a vši — cizopasníci — skot jatečný — hubení — insekticidy)

KNAUS, E.

C 26.264/29/14

Andrologisch-spermatologische Befunde beim Rüden und deren Bezug auf die Fruchtbarkeit.

Wien, Universitätsklinik f. Geburtshilfe, Gynäkologie u. Andrologie d. Veterinärmediz. Univ. 1980. 4 s. Fachtagung Wels 1980. (Sperma — hospodářská zvířata — jakost — plodnost — vztahy — výzkum — metody — Rakousko)

L. Němeček, P. Hron, S. Roth

NĚMEČEK, L. — HRON, P. — ROTH, S. (Vysoká škola veterinární, Brno): *Narkóza psa a kočky Althesinem*. Vet. Med., Praha, 27, 1982 (1) : 31-36.

V předložené práci je popsáno ověřování nového steroidního anestetika alfadion ve specialitě Althesin. Pokusy probíhaly ve třech pokusných skupinách. Nitro-svalové podání Althesinu psům v dávce 5 až 15 mg.kg⁻¹ nevyvolává vyhovující anestézii. Po nitrožilním podání Althesinu u psů v dávce 2 mg.kg⁻¹ po premedikaci diazepamem v dávce 0,25 mg.kg⁻¹ i. m. nastupovala narkóza bez excitací bezprostředně po dokončení aplikace. Anestézie trvala průměrně 10 minut a v době probouzení se objevily excitace a vedlejší účinky. U koček byl po nitrožilním podání Althesinu v dávce 6 mg.kg⁻¹ a premedikaci diazepamu 0,25 mg.kg⁻¹ i. m. průběh narkózy obdobný jako u psů, pouze trvání se prodloužilo v průměru na 29 minut.

celkové znecitlivění; alfadion; diazepam; tep; dech; teplota; pes; kočka

Nejnovější zprávy poukazují na možnost, jak využít nově vyvinuté steroidní celkové anestetikum Althesin, určené pro humánní medicínu, i ve veterinární anesteziologii, speciálně v anestézii kočky. Dosud publikované údaje o jeho účinku však nejsou jednoznačné.

Od roku 1970 se s objevením Althesinu opět obnovuje zájem o steroidní narkózu. Výrobce tohoto anestetika je firma Glaxo Laboratories Ltd — Anglie. Althesin je čirý bezbarvý roztok s obsahem 9 mg alfaxalonu a 3 mg alfadolonu v 1 ml. V humánní anesteziologii je Althesin určen pro i. v. aplikaci a jeho hlavní indikací jsou krátkodobé výkony, při kterých se užívá jako monoanestetikum. Je vhodný i pro úvod do inhalační narkózy, přičemž přechod na inhalační anestézii je bez komplikací (H a i s o v á, 1975).

Ve veterinární anesteziologii byl Althesin použit zatím v anestézii kočky. E v a n s a j. (1972) jej podávali subkutánně, intramuskulárně a intravenózně. Zjistili, že při s. c. aplikaci neúčinkoval pro malou absorpci a rychlou inaktivaci látky. Intramuskulární dávky Althesinu 9 až 18 mg.kg⁻¹ vyvolávaly sedací až povrchní narkózu. Jako nejvýhodnější se jevila intravenózní aplikace, která zajišťovala vyhovující stadium chirurgické narkózy při dávce 7,5 mg.kg⁻¹. Anestézie nastupovala za 20 až 30 sekund a trvala 10 až 12 minut. Vedlejší účinky při nástupu narkózy ani při probouzení nepozorovali.

Podrobnější studii o použití Althesinu u koček publikoval K o m a r (1976), který aplikoval přídatek nitrosvalově. Jeho výsledky jsou však odlišné od údajů zveřejněných E v a n s e m a j. (1972). Při dávce 18 mg.kg⁻¹ i. m. nedosahoval vyhovující anestézie, a proto zvyšoval

dávku až do 30 mg . kg⁻¹. Plný účinek pozoroval po deseti minutách, anestézie trvala kolem 60 minut. Stejnou dobu trval i postnarkotický spánek. Při těchto vyšších dávkách pozoroval bolestivost v místě aplikace. Aby se mohla snížit dávka Althesinu, doporučuje autor premedikovat diazepam v dávce 0,25 mg . kg⁻¹ *i. m.* U všech zvířat současně premedikoval atropin v dávce 0,05 mg . kg⁻¹.

Rovněž Arndt (1980) doporučuje nitrosvalově aplikovat 25 až 30 mg . kg⁻¹ Althesinu. Při *i. v.* podání jsou postačující dávky 9 až 12 mg . kg⁻¹. Anestézie se vyznačuje dobrou myorelaxací, dostačující analgezií a útlumem většiny reflexů. Úvod do narkózy je klidný, rovněž probouzení je bez excitací. Činnost srdeční a dechová nejsou výrazně ovlivněny.

Z domácích autorů ověřoval přípravek v anestézii kočky Svobodník (1980). Althesin aplikoval nitrosvalově v dávkách 5 až 20 mg . kg⁻¹. Autor referuje o výskytu konvulzí a k jejich redukci doporučuje premedikaci libovolným ataraktikem. Sám používal Combelen v dávce 1 mg . kg⁻¹.

MATERIÁL A METODA

K pokusům byli použiti pokusní psi, kříženci, ve věku od jednoho do deseti roků, obojího pohlaví, o hmotnosti 9 až 38 kg, v dobrém výživném stavu, bez klinických příznaků onemocnění. Pokusné kočky obojího pohlaví byly osm měsíců až pět roků staré, o hmotnosti 2,0 až 3,5 kg, rovněž bez známek onemocnění.

Anestetický účinek Althesinu jsme ověřovali ve třech pokusných skupinách: V první pokusné skupině byl u jednoho psa Althesin aplikován nitrosvalově v dávce 5 mg . kg⁻¹, u dalších čtyř psů byla dávka postupně zvyšována o 2,5 mg . kg⁻¹ až na 15,0 mg . kg⁻¹. Objem aplikovaného roztoku byl 6,5 až 20,0 ml.

Ve druhé pokusné skupině byl u pěti psů premedikován diazepam (DIAZEPAM Spofa) v dávce 0,25 mg . kg⁻¹ nitrosvalově. Za 20 minut byl pomalu nitrožilně injikován Althesin v dávce 2 mg . kg⁻¹.

Ve třetí pokusné skupině byl u pěti koček aplikován nitrosvalově diazepam 0,25 mg . kg⁻¹; po 20 minutách byl pomalu injikován *i. v.* Althesin do *v. femoralis* v dávce 6 mg . kg⁻¹.

Ve všech pokusech jsme sledovali reakci zvířete na aplikaci látky, dobu nástupu a trvání účinku, probouzení zvířat z anestezie, citlivost kůže vpichy injekční jehlou na čenichu, ušním boltci a v meziprstí, víčkový a rohovkový reflex a výskyt vedlejších účinků. Ve druhé a třetí pokusné skupině byl měřen trias těsně před aplikací, po aplikaci anestetika a dále za 15, 30, 60 a 180 minut od podání Althesinu. Během pokusů jsme nedělali operační zákroky.

Hodnoty triasu byly statisticky vyhodnoceny Studentovým *t*-testem a koeficientem korelace (Dufek aj., 1968).

VÝSLEDKY

V první skupině se po *i. m.* aplikaci Althesinu v dávce 4,0 a 7,5 mg . kg⁻¹ anestetické účinky neprojevíly. Dávky 10,0 a 12,5 mg . kg⁻¹ zvířata zklidňovaly, což se projevilo tím, že uléhala, měla zmenšenou reakci na podněty z okolí a zmenšené obranné reakce při manipulaci. Analgetický účinek byl nevýrazný. U dávky 15 mg . kg⁻¹ byla dobře vyjádřena sedace a částečně i analgezie, projevující se sníženou citlivostí na vpichy injekční jehlou. Při aplikaci roztoku do svalové tkáně jsme u zvířat nepozorovali bolestivé reakce a za 24 hodiny od aplikace nebyly zjišťovány klinické příznaky zánětu.

Ve druhé skupině nevyvolával samotný diazepam v dávce 0,25 mg . kg⁻¹ *i. m.* příznaky zklidnění. Toleranční stadium chirurgické anestezie nastupovalo bezprostředně po *i. v.* aplikaci Althesinu. Narkóza trvala průměrně deset minut. Úvod do narkózy byl klidný, bez vedlejších účinků. Při probouzení se vyskytly plovací pohyby končetin a třes svalstva. U čtyř psů jsme pozorovali defekaci, u dvou mikci.

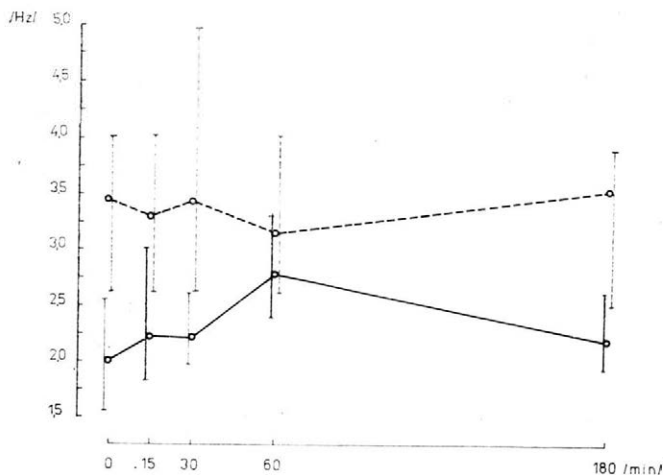
Z triasu vykazovala největší změny dechová frekvence, jejíž hodnoty se zvýšily za 15 minut po aplikaci Althesinu průměrně o 0,4 Hz. Rovněž tepová frekvence se v tomto časovém úseku zvýšila o 0,2 Hz a v měření za 60 minut o 0,8 Hz. Toto zvýšení je statisticky významné. Postupně se hodnoty vracely do výchozího stavu. Tělesná teplota se výrazněji neměnila. Hodnoty tepové a dechové frekvence a tělesné teploty jsou znázorněny na obr. 1 až 3.

Ve třetí skupině, ve které byl pěti pokusným kočkám podáván Althesin *i. v.* po předchozí premedikaci diazepamem, byl průběh narkózy obdobný jako ve druhé pokusné skupině u psů. Samotný diazepam v dávce 0,25 mg . kg⁻¹ *i. m.* neovlivňoval chování zvířat. Po pomalé nitrožilní aplikaci Althesinu nastupovala narkóza již během aplikace přípravku a trvala 17 až 40 minut, průměrně 29 minut. Úvod do narkózy byl klidný, vedlejší účinky se nevyskytly. Po nástupu narkózy vymizela citlivost v krajině čenichu, v ušním boltci i v meziprstí a byl rovněž potlačen víčkový reflex. Rohovkový reflex zůstal během narkózy zachován. U všech zvířat bylo probouzení z narkózy spojeno s excitacemi, které se projevovaly plovacími pohyby, krátkými křečovitými záškuby svalů a opistotonem. Navíc u jednoho zvířete došlo k vomitu, u čtyř zvířat k defekaci a u dvou k mikci. Excitace a vedlejší účinky byly krátkodobé, opakované a po nich nastalo zklidnění — nastupoval postnarkotický spánek, trvající v průměru 60 minut. Zvířata byla schopna se postavit v průměru za 100 minut od začátku narkózy. Z triasu vykazovala výraznější pokles dechová frekvence v měření za 15 a 30 minut od aplikace a tělesná teplota v téže době. Rozdíly však nebyly statisticky významné. V měření za 180 minut od začátku narkózy se hodnoty obou ukazatelů vracely k výchozímu stavu před aplikací Althesinu.

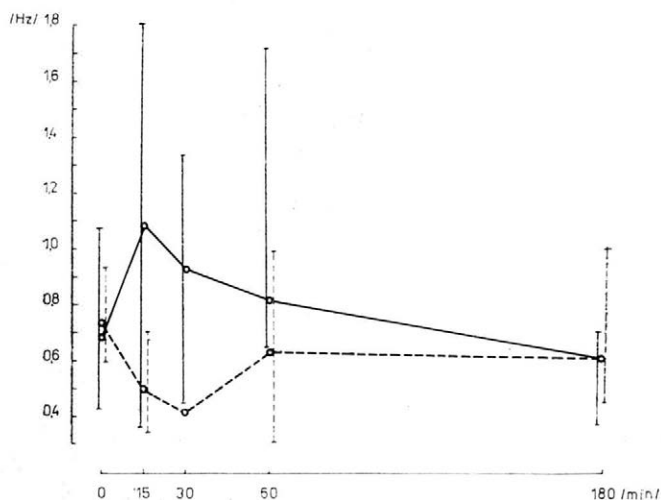
DISKUSE

Při anestézii kočky jsme zvolili dávkování, které je doporučováno v literárních údajích (Evans aj., 1972; Komar, 1976; Arndt, 1980). Souhlasně s údaji těchto autorů byl úvod do anestezie klidný. Ve všech případech jsme však v protikladu s výsledky těchto autorů zjišťovali v době probouzení excitace a vedlejší účinky. V tomto směru korespondují naše nálezy s výsledky uváděnými Svobodníkem (1980), který pozoroval pravidelný výskyt křečí po nitrosvalovém podání Althesinu.

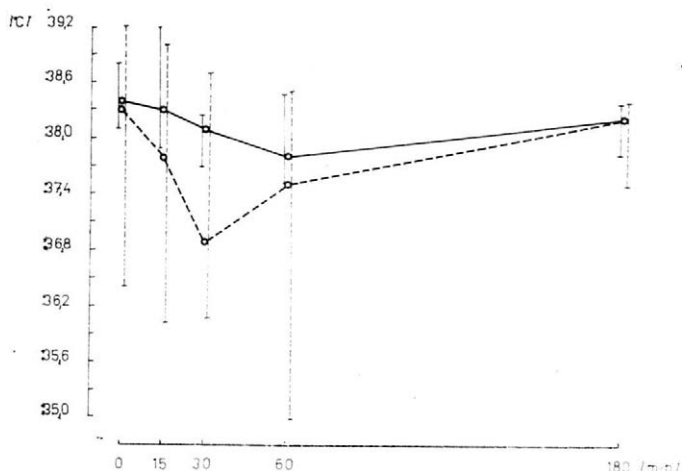
Zatímco Gyermek a Soyka (1975) a Haisová (1975) při použití Althesinu u lidí a Arndt (1980) při anestézii Althesinem u koček referují o minimálním ovlivnění činnosti srdeční a dechové, zaznamenali jsme v našich pokusech zvýšení tepové a dechové frekvence u psů. U koček naopak oba ukazatele proti výchozímu stavu poklesly. Rovněž u tělesné teploty byl zaznamenán pokles, který byl výraznější při narkóze koček.



1. Hodnoty tepové frekvence před pokusem, v průběhu narkózy Althesinem a po ní u pokusné skupiny č. 2 (—) a č. 3 (---)
— Values of pulse rate before the experiment, during and after Althesin anaesthesia in experimental group No. 2 (—) and No. 3 (---)



2. Hodnoty dechové frekvence před pokusem, v průběhu narkózy Althesinem a po ní u pokusné skupiny č. 2 (—) a č. 3 (---)
— Values of breathing rate before the experiment, during and after Althesin anaesthesia in experimental group No. 2 (—) and No. 3 (---)



3. Hodnoty vnitřní tělesné teploty před pokusem, v průběhu narkózy Althesinem a po ní u pokusné skupiny č. 2 (—) a č. 3 (---)
— Values of inner body temperature before the experiment, during and after Althesin anaesthesia in experimental group No. 2 (—) and No. 3 (---)

Jako určitá nevýhoda této narkózy se nám jeví nutnost nitrožilní aplikace Althesinu, zejména u koček, a výskyt křečí s různými vedlejšími účinky při probouzení z narkózy. V našich pokusech tyto vedlejší projevy diazepam neodstraňoval.

Literatura

ARNDT, J.: Erfahrungen mit der Steroid-Narkose bei Katzen. Kleintierpraxis, 25, 1980, č. 1, s. 19-22.

DUFÉK, J. — KRÁL, F. — KŘIVÁ, R. — MÁCA, E.: Statistika. Statistické metody v zemědělství — příklady. 2. vyd. Praha, Stát. pedagog. nakl. 1968. 222 s.

EVANS, J. M. — ASPINALL, R. W. — HENDY, P. G.: Clinical evaluation in cats of a new anesthetic CT 1341. J. small Anim. Pract., 13, 1972, č. 5, s. 479-486.

GYERMEK, L. — SOYKA, F.: Steroid anesthesia. Ref. výběr Anesteziologie a resuscitace, 24, 1977, č. 2, s. 135-150.

HAISOVÁ, L.: Althesin — nové steroidní intravenózní anestetikum. Čs. Stomat., 75, 1975, č. 3, s. 214-216.

KOMAR, E.: Altesyna — nowy preparat steroidowy w zastosowaniu do znieczulania kotów. Medycyna wet., 32, 1976, č. 9, s. 542.

SVOBODNÍK, J.: Neinhalační způsoby vedení anestézie se zaměřením na velké kočkovité šelmy. [Atestační práce.] Brno, Vysoká škola veterinární 1980. 44 s.

Došlo dne 11. 5. 1981

НЕМЕЧЕК, Л. — ГРОН, П. — ПОТ, С. (Институт ветеринарии, Брно): Наркоз собаки и кошки Алтхесином. Vet. Med., Praha, 27, 1982 (1) : 31-36.

В работе описывается проверка действия нового стероидного анестезирующего средства альфадион в форме Алтхесина. Эксперименты проходили в подопытных группах. Внутримышечное введение Алтхесина собакам в дозе 5—15 мг. кг⁻¹ не вызывает требуемой анестезии, а внутривенное в дозе 2 мг. кг⁻¹ после премедикации диазепамом в дозе 0,25 мг. кг⁻¹ внутримышечно вызывает наркоз без экситации непосредственно после введения. Анестезия продолжается в среднем 10 минут, во время пробуждения проявляются экситация и побочные реакции. Наркоз кошек протекает при внутривенной даче Алтхесина в дозе 6 мг. кг⁻¹ с премедикацией диазепамом 0,25 мг. кг⁻¹ внутримышечно аналогичным образом, но дольше — в среднем 29 минут.

общая анестезия; альфадион; диазепам; пульс; дыхание; температура

NĚMEČEK, L. — HRON, P. — ROTH, S. (University of Veterinary Medicine, Brno): Althesin Anaesthesia in Dog and Cat. Vet. Med., Praha, 27, 1982 (1) : 31-36.

Tests of the effect of the new steroid anaesthetic alfadion in the drug Althesin are described. Experiments were carried out in three experimental groups. Intramuscular administration of Althesin to dogs at doses 5 to 15 mg. kg⁻¹ does not induce required anaesthesia. After intravenous administration of Althesin to dogs at a dose of 2 mg. kg⁻¹ after diazepam pre-medication at a dose of 0.25 mg. kg⁻¹ i. m., anaesthesia started without excitations immediately after completed application. Anaesthesia lasted on the average 10 minutes and at the time of recovery excitations and side effects occurred. After intravenous administration of Althesin at a dose of 6 mg. kg⁻¹ with diazepam pre-medication 0.25 mg. kg⁻¹ i. m., the course of narcosis in cats was similar to that in dogs, only its duration was on the average 29 minutes. general anaesthesia; alfadion; diazepam; pulse; breathing; temperature

NĚMEČEK, L. — HRON, P. — ROTH, S. (Veterinärmedizinische Hochschule, Brno): *Narkose von Hund und Katze durch Althesin*. Vet. Med., Praha, 27, 1982 (1) : 31-36.

In der vorgelegten Arbeit wird die Untersuchung der Wirkung eines neuen Anästhetikums Alfadion in der Spezialität Althesin beschrieben. Versuche wurden in drei Versuchsgruppen durchgeführt. Die Intramuskulanwendung von Althesin in der Gabe von 5 bis 15 mg.kg⁻¹ ruft bei Hunden keine zusagende Anästhesie hervor. Nach der intravenösen Anwendung von Althesin in der Gabe von 2 mg.kg⁻¹ nach der Prämedikation durch Diazepam in der Gabe von 0,25 mg.kg⁻¹ i. m. entstand bei Hunden Narkose ohne Exzitationen unmittelbar nach der Beendigung der Anwendung. Die Anästhesie dauerte durchschnittlich 10 Minuten und in der Zeit des Erwachens erschienen Exzitationen und Nebenwirkungen. Bei Katzen war nach der intravenösen Anwendung von Althesin in der Gabe von 6 mg.kg⁻¹ mit der Prämedikation durch Diazepam in der Gabe von 0,25 mg.kg⁻¹ i. m. der Verlauf der Narkose ähnlich wie bei Hunden. Es verlängerte sich nur die Dauer im Durchschnitt auf 29 Minuten.

gesamte Empfindungslosigkeit; Alfadion; Diazepam; Puls; Atem; Temperatur

Adresa autorů:

Doc. MVDr. Ladislav Němeček, CSc., MVDr. Pavel Hron, MVDr. Stanislav Roth, Vysoká škola veterinární, Palackého 1-3, 612 42

M. Otčenášek, J. Mátl, J. Vítovec, P. Vladík, J. Wohlman

OTČENÁŠEK, M. — MÁTL, J. — VÍTOVEC, J. — VLADÍK, P. — WOHLMAN, J. (Parazitologický ústav ČSAV, Praha; Státní veterinární ústav, České Budějovice): *Maduromykotický mycetom koně*. Vet. Med., Praha, 27, 1982 (1) : 37-43.

Je popsán případ maduromykotického mycetomu (eumycetomu) u sedmiletého tažného koně. Onemocnění bylo lokalizováno v anální krajině a zhojeno po chirurgickém ošetření. Autoři upozornili na nutnost rozlišovat tři typy mykóz koní, charakterizovaných vznikem tumorovitých lézí — mycetom, hyfomykózu a entomoftoromykózu — a soustředili informace o jejich etiologii a geografickém výskytu. Na základě morfologie houbových elementů zastižených v zánetlivě změněné tkáni a s přihlédnutím k dosavadním nálezům původců eumycetomu u zvířat usoudili, že popisované onemocnění bylo pravděpodobně vyvoláno houbou *Allescheria boydii* Shear. Přesné určení původce bylo bez mykologické kultivace nemožné.

Allescheria boydii Shear; mycetom; hyfomykóza; entomoftoromykóza

Mycetomy, pseudotumorózní onemocnění postihující podkoží, svaly a kosti, jsou charakterizovány místním zduřením tkáně, vznikem píštělí a především tvorbou typických drúz. Drúzy jsou tvořeny mikrokoloniiemi původce a jsou prokazatelné přímou mikroskopií hnisu nebo histologicky. Podle systematického zařazení původců se rozlišují mycetomy dvou typů: maduromykotický mycetom (eumycetom) působený houbami a aktinomycetární mycetom vyvolávaný aktinomycetami, tj. organismy řazenými k bakteriím. Zatímco maduromykotický mycetom je pravou mykózou, aktinomycetární mycetom je uváděn mezi pseudomykózami (např. Van Breuseghem, 1967).

Mycetomy obou typů patří ve veterinární medicíně k vzácným onemocněním. O eumycetomech zvířat bylo do sedmdesátých let publikováno jen asi dvacet zpráv, aktinomycetární mycetomy nebyly do té doby hlášeny vůbec (Ainsworth a Austwick, 1973). Předložené kazuistické sdělení podává informace o zcela ojedinělém pozorování maduromykotického mycetomu u koně.

MATERIÁL A METODY

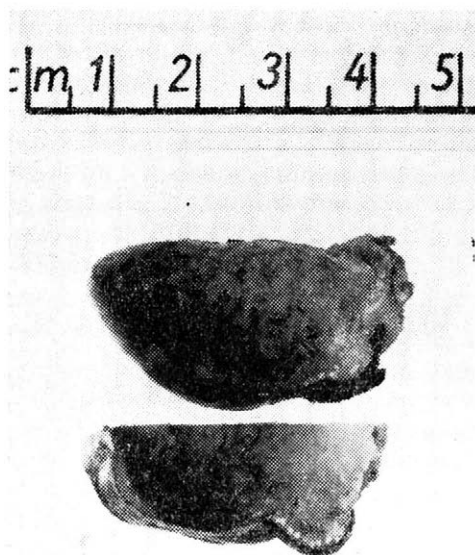
Sedmiletý kůň, valach, pracující v lese při přibližování dřeva, byl odeslán do veterinární nemocnice k chirurgickému odstranění tumoru podobného útvaru v anální krajině. Útvar byl u zvířete pozorován déle než rok, v posledních týdnech ložiskovitě exulceroval a opakovaně krvácel.

Materiál odebraný k histologickému vyšetření jsme fixovali v 10% formolu a zpracovali standardní parafinovou technikou. Tkáňové řezy jsme barvili v hematoxylin-eozinu, v modrém trichromu a podle Grama. K průkazu vláken houby jsme použili metodu impregnace podle Grocotta. Železo jsme prokazovali v Perlsově reakci a v Turnbullově modři.

VÝSLEDKY

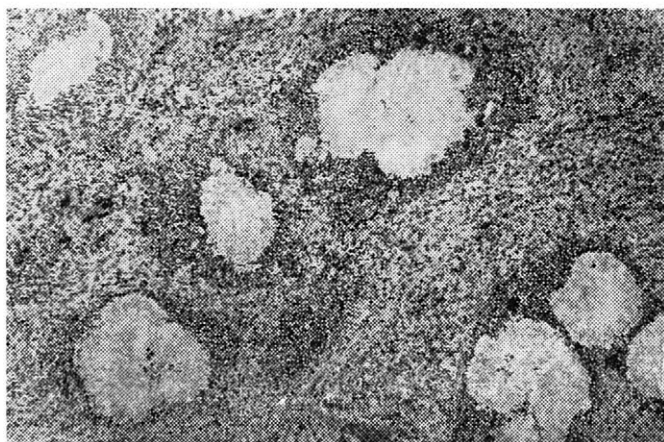
Při chirurgickém ošetření léze bylo zjištěno, že jde o nepravidelně ovoidní, tumoriformní útvar o velikosti 10 X 8 X 8 cm, přisedající širokou stopkou k ventrálním partiím kožní části řitního svěrače. Tumoru podobnou lézi kryla z větší části neporušená kůže. Pouze v partiích při řitním otvoru bylo na ploše zhruba 4 X 4 cm ložisko relativně hluboké ulcerace zčásti kryté krvavými krustami. Léze tuhoelastické konzistence byla na řezné ploše převážně homogenní, měla nápadně pestrý vzhled daný kombinací neostře ohraničených ložisek rezavě a šedobílé barvy (obr. 1).

Histologické vyšetření ukazuje, že podstatou útvaru jsou hnisavě granulomatózní zánětlivá ložiska vytvořená kolem centrálně uložených drúzovitých struktur, které se hematoxylinem-eozinem, Gramem a modrým trichromem nebarví (obr. 2). Drúzovité struktury obklopuje souvislá vrstva polynukleárního exsudátu (obr. 3). Ve střední vrstvě jsou převážně histiocyty se světlými jádry a s rozměrnou — často jemně granulární nebo pěnitou — plazmou, smíšené s různým podílem obrovských, vícejaderných elementů typu buněk z cizích těles a eozinofilů. V periferní zóně granulomů převažuje fibrotizující kolagenní



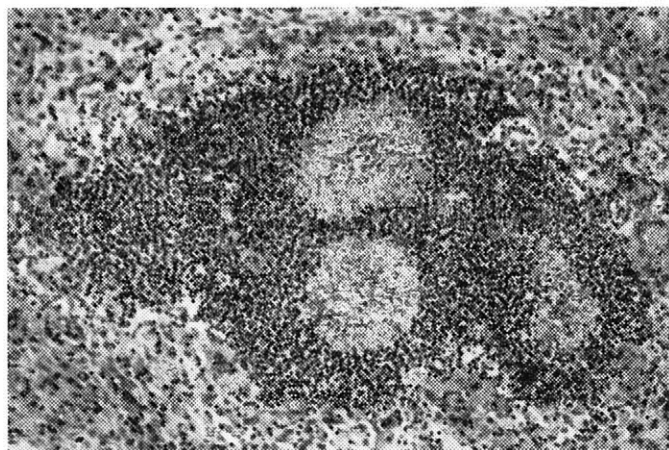
1. Část maduromykotického mycetomu. Pestrý vzhled tkáně na řezné ploše je daný ložisky rezavě hnědé a šedobílé barvy — Part of maduromycotic mycetoma. Variegated appearance of the tissue on section area is caused by lesions of rusty brown and grey-white colour

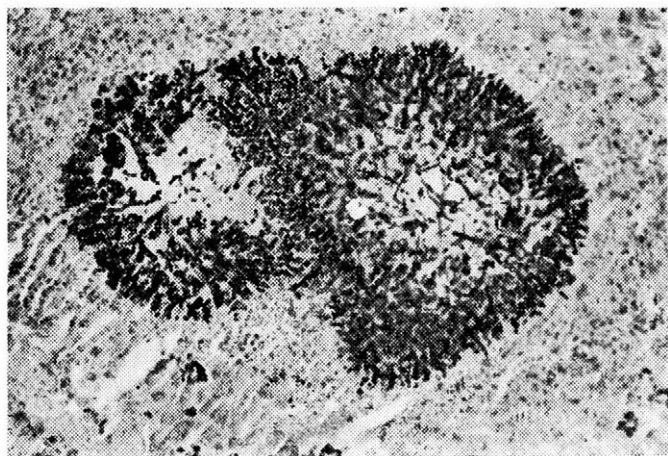
2. Bezbarvé drúzy maduromykotického mycetomu v hnísavé granulomatózních strukturách. Hematoxylin-eozin, 180 $\times$ — Colourless druses of maduromycotic mycetoma in pussy granulomatous structures. Haematoxylin-eosine, 180 times



vazivo prostoupené smíšeným zánětlivým infiltrátem s nevelikým podílem lymfocytů a plazmatických buněk. Granulomatózní struktury střední a periferní vrstvy prostupují hojně krevní extravazáty i fagocyty obsahující pigment, v hematoxylin eozinu rezavě hnědé nebo zelenavé barvy. Pozitivní reakce na železo prokázaly, že jde o hemosiderin uložený intracelulárně v difúzní nebo zrnčkové formě. Neobarvené histologické řezy byly bezbarvé nebo lehce nažloutlé. V impregnaci podle Grocotta byly drúzovité struktury tvořeny porůznu propletenými a větvenými myceliálními vlákny. Velikost struktur se pohybovala v rozsahu 20 až 160 μm , nejčastěji byly zastiženy struktury oválné o průměru kolem 80 μm . Vlákná houby byla jen řídce uložena v centrálních partiích struktur, zatímco při periferii se koncentrovala v hustou myceliální masu, tvořenou vzájemně splývajícími elementy. Mycelium bylo nevýrazně septované, široké 2,5 až 4,0 μm , na mnoha místech však přecházelo v nepravidelná zduření, dosahující v průměru až 8,0 μm . Soudečkovité interkalární rozšíření připomínaly arthroaleurie, kulovitá nebo eliptická zduření lokalizovaná jak terminálně, tak interkalárně bylo možno považovat za chlamydo-spory (obr. 4). Diferenciace zcela ojediněle přítomných kulovitých a eliptických elementů připomínajících

3. Drúzy uložené v pyogenním exudátu. Hematoxylin-eozin, 250 $\times$ — Druses deposited in pyogenic exudation. Haematoxylin-eosine, 250 times





4. Hustě nakupená myceliální vlákna původce, tvořící vlastní drúzu. Grocott, 600X — Densely accumulated mycelium fibres of the causative agent, forming a druse. Grocott, 600 times

konidie (aleurie) houby nebyla možná: způsob jejich vzniku nebyl v preparátech patrný. Kromě vlastních drúzovitých struktur byla ojedinelá vlákna houby uložena také v plazmatu obrovských buněk.

Operační rána se u koně dobře zhojila, při kontrole tři měsíce po výkonu bylo konstatováno, že onemocnění nerecidivuje.

DISKUSE

Tumorovité léze na kůži, v podkoží nebo na sliznicích koní mohou být projevem několika různých onemocnění mykotické etiologie. Klinicky relativně stejnorodý syndrom může být etiologicky a zčásti i patogeneticky kategorizován do tří samostatných nosologických jednotek.

Kromě maduromykotického nebo aktinomycetárního mycetomu mají klinický charakter tumorům podobných lézí také hyfomykóza a entomoftoromykóza. Společným znakem všech tří onemocnění jsou chronické granulomatózně zánětlivé změny s výraznou fibrotizací, která má hlavní podíl na vzniku tumorům podobných útvarů.

Za původce maduromykotického mycetomu koní byly dosud označeny druhy *Curvularia geniculata* (Bridges a Beasley, 1960; Boomker aj., 1977), *Allescheria boydii* (Schiefer a Mehnert, 1965; Johnson aj., 1975) a *Helminthosporium spiciferum* (Schaufli, 1972). U jiné izolace *Helminthosporia* z uzlovitých kožních lézí hřiběte nebyl druh blíže určen (Hall, 1965). Kromě těchto hub se septovaným myceliem byly ze subkutánních tumorovitých lézí koní kultivovány také mikromycety se septami nečleněnými hyfami: *Mucor pusillus*, *M. racemosus* a *Rhizopus arrhizus* (Ainsworth a Austwick, 1973; Gonzales a Ruiz, 1975). Tito původci onemocnění, příslušející do skupiny fykomycet (*Phycomycetes*), jsou svým taxonomickým zařazením blízcí spíše původci hyfomykózy, nikoliv původcům klasických mycetomů. U dalších případů onemocnění koní (Akün, 1953; Bridges, 1957) nebyl původce izolován a diagnóza eumycetomu byla stanovena jen na základě přítomnosti drúz s relativně silnými (2–5 μm) hyfami, zřetelně odlišujícími tento typ mycetomů od mycetomů aktinomycetárních, v jejichž drúzách šířka vláken původců nepřesahuje 1 μm .

Druhá nosologická jednotka, hyfomykóza, vyznačující se vznikem v podkoží lokalizovaných granulomatózních ložisek obsahujících nekrotické masy s vlákny původce, je vyvolávána houbou *Hyphomyces destruens equi*. Tento organismus je dnes řazen mezi fykomycety, do rodu *Pythium* (Austwick, 1977). Tumorovitě léze v tomto případě vznikají na nohách, na krku nebo na břichu koní a jsou známy především z tropů a subtropů. Na evropském kontinentě se onemocnění vyskytlo ve Francii a v Německu (Dawsonová, 1972).

Konečně třetí jednotka, rhinoentomofotoromykóza (syn. *Phycomycosis entomophthorae*), je vyvolávána houbou *Entomophthora coronata*. Onemocnění, známé u koní a mulů z Austrálie, USA a Brazílie, postihuje nosní sliznici, kůži nozder a jejich okolí (Jungerman a Schwartzman, 1972; Connole, 1977). Vzhledem k typické lokalizaci by nemělo být zaměňováno s dvěma předchozími; starší literární údaje, podle kterých byl např. slizniční novotvar na nosní přepážce koně považován za maduromykotický mycetom (Akün, 1953; Schiefer a Mehnert, 1965), však dokazují, že k záměnám obou onemocnění zřejmě docházelo.

Z uvedených charakteristik tří klinicky podobných mykóz vyplývá, že v jejich diferenciální diagnostice je rozhodující histopatologické a mykologické vyšetření. Protože máme sami k dispozici jen histopatologický nálezn, mohli jsme při posouzení našeho případu dojít jen k rámcovému — a pokud jde o druhovou etiologii onemocnění vlastně jen hypotetickému — závěru.

Morfologicky jde v námi popisovaném případě o chronický, ale progredující granulomatózní zánětlivý proces s výraznou pyogenní složkou, který povšechně charakterem změn odpovídá popisům maduromykotického mycetomu lidí i zvířat. Nalezená ložiska s centrálně uloženými mikrokoloniemi houby svědčí jednoznačně pro diagnózu mycetomu tohoto typu. Pokud jde o jeho původce, je možné na základě pozorování septace hyf a utváření mycelia usuzovat, že nepatří mezi fykomycety. Mnozí původci maduromykotických mycetomů, známí z humánní patologie (např. Lavalle, 1962), nepřicházejí v našem případě v úvahu buď pro omezenou geografickou distribuci (*Neotestudina*, *Pyrenochaeta*), nebo navíc i pro odlišnost barvy, velikosti a morfologie drúz (*Pyrenochaeta*, *Madurella*). Ani jedno z těchto agens také nebylo popsáno ze zvířat. Vyjdeme-li z dosavadních nálezů veterinárních patologů, docházíme k závěru, že nejpravděpodobnějším původcem pozorovaného onemocnění koně byla *Allescheria boydii* Shear. Srovnání výsledků našich pozorování s popisem a fotodokumentací případu uvedeného Schieferem a Mehnertem (1965), kteří vyšetřovali tumorovitou lézi působenou touto houbou na kořeni ocasu studenokrevníka, potvrzuje značnou podobnost obou případů. Zvláště nápadná je přítomnost kulovitých rozšíření hyf původce, zastížených především na okrajích houbových mikrokolonií. Důležité je také zjištění, že houba v našem případě nevytvářela pigment. Zvláštní narezavělé zabarvení tkáně, o kterém se zmiňujeme v popise makroskopických změn, je způsobeno velkým množstvím vypadlého železa (zde zřejmě z krevních extravazátů) a není pigmentem houby. Depozita hemosiderinu byla již u případů maduromykotických mycetomů zvířat pozorována: zmiňuje se o nich např. Bridges (1957), popisující onemocnění končetiny psa.

Názor o uplatnění *A. boydii* jako původce popisovaného mycetomu je přijatelný i s ohledem na zeměpisné rozšíření jmenované houby. Jde o geopolitně rozšířeného agens, jehož primárním existenčním substrátem je půda a tlející organické substráty [Emmons aj., 1970]. K nákaze lidí i zvířat dochází většinou transkutánní inokulací při drobném traumatu (bodnutí hmyzem, poranění trnem, třískou apod.). Lokalizace lézí zvířat nemají — snad i pro malý počet dosud popsaných případů — zjevnou predilekci.

Literatura

- AKÜN, R.: Eine chromoblastomycosisähnliche Pilzkrankheit beim Pferde. Z. allg. Pathol., 90, 1953, s. 294-297.
- AINSWORTH, G. C. — AUSTWICK, P. K. C.: Fungal diseases of animals. Commonw. Agric. Bur., Slough 1973. 216 s.
- AUSTWICK, P. K. C.: *Hyphomyces destruens equi* — an identity solved. Abstr. 2nd Intern. Mycol. Congr., Tampa 1977, s. 26.
- BOOMKER, J. — COETZER, J. A. V. — SCOTT, D. B.: Black grain mycetoma (*maduromycosis*) in horses. Onderstepoort J. vet. Res., 44, 1977, s. 249-252.
- BRIDGES, CH. H.: Maduromycotic mycetomas in animals. *Curvularia geniculata* as an etiologic agent. Am. J. Path., 33, 1957, s. 411-428.
- BRIDGES, CH. H. — BEASLEY, J. N.: Maduromycotic mycetomas in animals — *Brachygladium spiciferum* as an etiologic agent. J. Am. vet. med. Ass., 137, 1960, s. 192-201.
- CONNOLE, M. D.: Current status of the ecology and epidemiology of animal mycoses: with special reference to Queensland, Australia. In: Edit. K. IWATA: Recent advances of medical and veterinary mycology. Tokyo, Univ. Tokyo Press 1977, s. 123-128.
- DAWSON, CH. O.: Phycomycoses in animals in the tropics. Ann. Soc. belge Méd. trop., 52, 1972, s. 357-364.
- EMMONS, CH. W. — BINFORD, CH. H. — UTZ, J. P.: Medical mycology. Philadelphia, Lea & Febiger 1970. 508 s.
- GONZALES, C. H. E. — RUIZ, M. A.: Equine tumour: aetiology and pathogenesis of a phycmycosis. Rev. ICA, 10, 1975, s. 175-185.
- HALL, J. E.: Multiple maduromycotic mycetomas in a colt caused by *Helminthosporium*. Shwest. Vet., 17, 1965, s. 233-234.
- JOHNSON, G. R. — SCHIEFER, B. — PANTEKOEK, J. F. C. A.: Maduromycosis in a horse in Western Canada. Can. vet. J., 16, 1975, s. 341-344.
- JUNGERMAN, P. F. — SCHWARTZMAN, R. M.: Veterinary medical mycology. Philadelphia, Lea & Febiger 1972. 200 s.
- LAVALLE, P.: Agents of mycetoma. In: Edit. DALLDORF, G.: Fungi and fungous diseases. Springfield, Ch. C. Thomas Publ. 1962, s. 50-68.
- SCHAUFFLER, A. F.: Maduromycotic mycetoma in an aged mare. J. Am. vet. med. Ass., 160, 1972, s. 998-1000.
- SCHIEFER, B. — MEHNERT, B.: Maduromykose beim Pferd in Deutschland. Berl. Münch. tierärztl. Wschr., 78, 1965, s. 229-230.
- VANBREUSEGHEM, R.: The early diagnosis of mycetoma. Derm. Internat., 6, 1967, s. 123-140.

Došlo dne 20. 7. 1981

ОТЧЕНАШЕК, М. — МАТЛ, Й. — ВИТОВЕЦ, Й. — ВЛАДИК, П. — ВОЛМАН, Й. (Паразитологический институт АН ЧССР, Прага; Государственный институт ветеринарии. Ческе Будейовице): Мадуромикотический мицетом лошади. Vet. Med., Praha, 27, 1982 (1): 37-43.

Описывается случай мадуромикотического мицетомы (эумицетомы) у 7-летней рабочей лошади. Заболевание локализовано в анальной области, оно было устранено после хирургического вмешательства. Авторы приводят необходимость различать 3 вида микотических

болезней у лошади, характеризующихся туморными повреждениями, — мицетом, гифомикоз и энтомофторомикоз. Дана информация об их этиологии и географическом распространении. На основе морфологии грибных элементов, присутствующих в воспалительной ткани, а также диагнозов возбудителей эумицетома установлено, что это заболевание по всей вероятности вызывается грибом *Allescheria boydii* Shear. Без микологического культивирования невозможно точно определить возбудителя болезни.

Allescheria boydii Shear; мицетом; гифомикоз; энтомофторомикоз

OTČENÁŠEK, M. — MÁTL, J. — VÍTOVEC, J. — VLADÍK, P. — WOHLMAN, J. (Institute of Parasitology of the Czechoslovak Academy of Sciences, Praha; State Veterinary Institute, České Budějovice): *Maduromycotic Mycetoma in Horse*. Vet. Med., Praha, 27, 1982 (1) : 37-43.

A case of maduromycotic mycetoma (eumycetoma) in seven years old draught horse is described. The disease was localised in anal region and healed after surgical treatment. Attention is drawn to the necessity of distinguishing three types of mycosis in horses, characterized by the origin of tumor lesions — mycetomas, hyphomycosis and entomophthoromycosis — and information was gathered on their etiology and geographical occurrence. On the basis of the morphology of fungal elements traced in inflamed changed tissues and with regard to the existing findings on the origin of eumycetoma in animals, it was concluded that the disease described was probably caused by fungus *Allescheria boydii* Shear. Exact definition of the causative agent was impossible without mycological cultivation.

Allescheria boydii Shear; mycetoma; hyphomycosis; entomophthoromycosis

OTČENÁŠEK, M. — MÁTL, J. — VÍTOVEC, J. — VLADÍK, P. — WOHLMAN, J. (Parasitologisches Institut der Tschechoslowakischen Akademie der Wissenschaften, Praha; Staatsinstitut für Veterinärmedizin, České Budějovice): *Maduromykotischer Myzetom des Pferdes*. Vet. Med., Praha, 27, 1982 (1) : 37-43.

Es wird ein Fall des maduromykotischen Myzetoms (Eumyzetoms) bei einem siebenjährigen Zugpferd beschrieben. Die Erkrankung wurde in der analen Gegend lokalisiert und nach einer chirurgischen Behandlung geheilt. Die Autoren machten auf die Notwendigkeit aufmerksam, drei Typen der Mykosen des Pferde zu unterscheiden, die durch die Entstehung der Tumorerkrankungen — Myzetom, Hyphomykose und Entomophthoromykose — charakterisiert werden und sammelten Informationen über ihre Ätiologie und ihr geographisches Vorkommen. Auf der Basis der Morphologie von Pilzelementen, die sich im durch die Entzündung veränderten Gewebe befinden, und mit Rücksicht auf bisherige Funde der Erreger des Eumyzetoms bei Tieren gelangten die Autoren zu der Schlußfolgerung, daß die beschriebene Erkrankung wahrscheinlich durch den Pilz *Allescheria boydii* Shear hervorgerufen wird. Eine genaue Bestimmung des Erregers wäre ohne eine mykologische Kultivierung unmöglich.

Allescheria boydii Shear; Myzetom; Hyphomykose; Entomophthoromykose

Adresa autorů:

RNDr. Miloš Otčenášek, DrSc., MVDr. Jiří Vítovec, CSc., Parazitologický ústav ČSAV, Flemingovo nám. 2, 166 32 Praha 6
MVDr. Josef Mátl, MVDr. Petr Vladík, MVDr. Josef Wohlman, Státní veterinární ústav, třída Míru 79, 371 39 České Budějovice

Upozorňujeme čtenáře, že v čísle 2 časopisu

VETERINÁRNÍ MEDICÍNA

mají být uveřejněny články:

- M. Baran, M. Piatková: Vplyv pilín na bachorovú fermentáciu pri rôznej dĺžke objemového krmiva v diéte
- J. Feješ, J. Várady, K. Boďa: Sekrécia endogénnej močoviny do slepého čreva oviec
- J. Kovář: Odvození a využití nového fyziologického kritéria pro hodnocení výkonnostní kapacity koní
- J. Hanák, Z. Žert: Některé znaky EKG plnokrevných koní společné pro rodiče a jejich potomstvo
- L. Černý: Vývoj morfológických změn po experimentální infekci kachen a hus bakteriemi *Mycobacterium avium*
- A. Piskač, J. Drábek, R. Halouzka, L. Groch: Účinek dlouhodobého podávání aflatoxinů na zdravotní stav samců krys a prasat se zaměřením na morfológické změny varlat
- J. Koppel, S. Kuchár, Š. Mozeš, K. Petrušová, A. Jasenovec: Zmeny glykémie po podaní xylazínu a adrenergických blokátorov u potkana
- Š. Paulov: Účinky vo vode rozpusteného freónu trichlórmofluórometánu na hmotnosť a bielkoviny srdcového svalú japonskej prepelice

UTILIZÁCIA BIELKOVÍN U POTKANOV PRI RÔZNOM PRÍJME TUKOV A SACHARIDOV

M. Krajčovičová, O. Dibák

KRAJČOVIČOVÁ, M. — DIBÁK, O. (Výskumný ústav výživy ľudu, Bratislava): *Utilizácia bielkovín u potkanov pri rôznom príjme tukov a sacharidov*. Vet. Med., Praha, 27, 1982 (1) : 45-56.

Tridsaťdňovým a deväťdesiatdňovým potkanom-samcom sme v časovej nadväznosti vždy počas 14 dní podávali *ad libitum* diéty s konštantným obsahom bielkovín (kazeínu) 10 % a so stúpajúcim obsahom tukov (margarínu) 10, 20, 30, 40 a 50 % (prvý experiment) a ďalej diéty s konštantným obsahom bielkovín (kazeínu) 10 % a tukov (margarínu) 30 % (pre 30-dňové potkany) a 11 % (pre 90-dňové potkany) a so stúpajúcim obsahom sacharidov 31, 36, 41, 46, 51 % (u 90-dňových ďalej 56, 61 a 66 %) o skladbe ryžový škrob : cukor : zemiakový škrob = 6,4 : 1,2 : 1 (druhý experiment). Na základe obsahu telového dusíka a príjmu bielkovín bol určený utilizačný parameter biologickej hodnoty bielkovín (NPU). Ďalej bol v pečeni zvierat sledovaný proces glukoneogenézy meraním špecifickej aktivity fosfoenolpyruvátcarboxykinázy (PEPCK). Z hľadiska najvyššej hodnoty parametra NPU je pre 30-dňové zvieratá optimálny obsah tukov v potrave 30 %, sacharidov 36 %; u 90-dňových zvierat sa prijaté bielkoviny najlepšie využívajú pri obsahu 10 % tukov a 51 % sacharidov v potrave. U oboch vekových skupín sa v optimálnych nutričných podmienkach využívajú prijímané bielkoviny rovnako. Práve odstavené zvieratá tolerujú extrémne nutričné podmienky lepšie než 90-dňové. Výsledky biologickej metódy potvrdil aj priebeh procesu glukoneogenézy (aktivovaný pri diétnom obsahu 40 % a 50 % tukov a pri obsahu 31 % sacharidov v diéte 30-dňových zvierat a u staršej vekovej skupiny od 20 % tukov v potrave vyššie a pri obsahu 31 až 46 % sacharidov. Práca je príspevkom k určovaniu optimálnych fyziologických dávok živín použitím biologickej a biochemickej metódy.

čistá proteínová utilizácia; proces glukoneogenézy; určenie optimálnych hodnôt tukov a sacharidov v potrave potkanov; ontogenéza

Z hľadiska optimálnosti priebehu fyziologických procesov v organizme treba prijímať všetky živiny navzájom v určitom pomere (FAO a WHO, 1973), ktorý má zabezpečiť, aby sa bielkoviny potravy, resp. ich aminokyseliny použili predovšetkým na proteosyntézu, na obnovu tkanív a orgánov a na zabezpečenie telesných funkcií (Robson a i., 1972) a tuky a sacharidy na priebeh energetických procesov. Z tejto požiadavky vyplýva nutnosť hľadať optimálne hodnoty živín v rôznych podmienkach a vypracovať exaktné metódy ich určovania (Krajčovičová, 1980; Krajčovičová a Dibák, 1980a).

Práca je príspevkom k riešeniu tohto problému. Na 30-dňových a 90-dňových potkanoch sme v priebehu 14 dní sledovali vplyv rôzneho príjmu tukov (pri optimálnom príjme bielkovín) a rôzneho príjmu sacharidov (pri optimálnom príjme bielkovín a tukov) na utilizáciu biel-

kovín a na priebeh procesu glukoneogenézy (aktivita fosfoenolpyruvát-karboxykinázy) v pečeni zvierat. Na základe výsledkov biologickej metódy (utilizačný parameter biologickej hodnoty bielkovín NPU) v spojitosti s biochemickou metódou (proces glukoneogenézy) sme určili optimálny obsah tukov a sacharidov v potrave oboch sledovaných vekových skupín zvierat.

MATERIÁL A METÓDY

Pokusy sme robili na dvoch vekových skupinách potkanov-samcov (kmeň Wistar, chovná stanica Velaz Praha);

a) 30-dňové, hneď po odstavení, hmotnosť 60,0 g,

b) 90-dňové, hmotnosť 250–260 g, po odstavení do zahájenia experimentov držané na štandardnej Larsenovej diete.

Obom vekovým skupinám potkanov sme v priebehu 14 dní podávali tieto experimentálne diéty:

I. EXPERIMENT — STÚPAJÚCI OBSAH TUKOV

a) Bezdušiková diéta (Henry, 1965); ryžový škrob 64 %, cukor 12 %, zemiakový škrob 10 %, margarínový tuk 10 %, Osborneho soľná zmes 4 %.

b) Diéty so stúpajúcim obsahom tukov: podľa obsahu bielkovín v štandardnej diéte používanej na biologické testovanie bielkovín (Miller a Bender, 1955) a v súhlase s výsledkami našej predchádzajúcej práce (Krajčovičová a Dibák, 1980c) sme na úkor ryžového škrobu pridalí do bezdušikovej diéty 10 % kazeínu. Obsah margarínového tuku sme zvýšili na 20, 30, 40 a 50 %, tiež na úkor sacharidov. Energetická hodnota diét bola 1,9 až 2,7 MJ.

II. EXPERIMENT — STÚPAJÚCI OBSAH SACHARIDOV

A — 30-dňové zvieratá

a) Bezdušiková diéta: základ tvorila bezdušiková diéta všeobecne používaná pri určovaní biologickej hodnoty bielkovín (Henry, 1965), ktorú sme na základe výsledkov prvého experimentu upravili z 10 % obsahu tukov (margarínu) na 30 %, a to na úkor sacharidov; tie sme znížili z 86 % na 66 % úmerne vo všetkých troch zložkách.

b) Diéty so stúpajúcim obsahom sacharidov: obsah bielkovín (kazeínu) 10 % (pozri prvý experiment b), obsah tukov (margarínu) 30 % (podľa výsledkov prvého experimentu), obsah sacharidov 31, 36, 41, 46 a 51 % (pomer ryžový škrob : cukor : zemiakový škrob = 6,4 : 1,2 : 1, tak ako v pôvodnej bezdušikovej diéte), Osborneho soľná zmes 4 %. Hmotnostná vyváženosť diét bola docielená prídavkom agaru, a to 25, 20, 15, 10 a 5 %. Energetická hodnota diét bola 1,9 až 2,2 MJ.

B — 90-dňové zvieratá

a) Bezdušiková diéta: obsah margarínového tuku 11 % (podľa výsledkov prvého experimentu; bližšie bolo určené v experimente s hustejším členením obsahu tukov — 9, 10, 11, 12 a 13 % Krajčovičová a Dibák, 1981a), obsah sacharidov 66 % (ako v bezdušikovej diéte u odstavených zvierat — pozri druhý experiment Aa), Osborneho soľná zmes 4 %, agar 19 %.

b) Diéty so stúpajúcim obsahom sacharidov: obsah bielkovín (kazeínu) 10 % (pozri prvý experiment b), obsah tukov (margarínu) 11 % (pozri druhý experiment Ba), obsah sacharidov 31, 36, 41, 46, 51, 56, 61 a 66 % (pomer ryžový škrob : cukor : zemiakový škrob = 6,4 : 1,2 : 1), Osborneho soľná zmes 4 %. Diéty boli hmotnostne vyvážené prídavkom agaru, a to 44, 39, 34, 29, 24, 19, 14 a 9 %. Energetická hodnota diét bola 1,1 až 1,7 MJ.

Ku všetkým diétam bola pridávaná vitamínová zmes (množstvo na 1 kg diéty): tiamín 3,3 mg; riboflavín 5,5 mg; pyridoxín hydrochlorid 3,3 mg; kalciumpantotenát 11,0 mg; kyselina folová 0,6 mg; biotín 0,6 mg; kyselina p-aminobenzoová 11,0 mg; kyselina nikotínová 11,0 mg; inozitol 110,0 mg; cholinhydrochlorid 1900,0 mg; menaphton 2,2 mg; cyanokobalamín 20,0 mg.

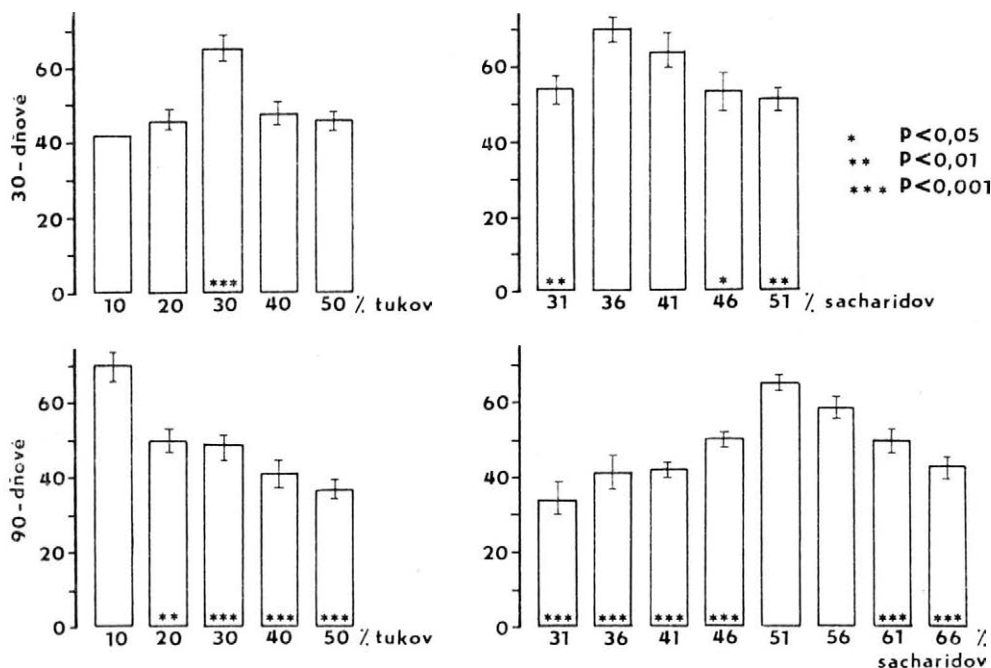
Zvieratá (šesť kusov v každej skupine) boli umiestnené individuálne v kliet-

kach s mriežkovou podlahou. Potravu a pitnú vodu dostávali *ad libitum*, okrem posledného experimentálneho dňa, kedy sme im 16 hodín pred usmrtením éterovou narkózou stravu odobrali. Denne sme zaznamenávali hmotnosť zvierat a spotrebu diét. Po usmrtení a vyčistení gastrointestinálneho traktu sme zvieratá sušili pri teplote 105 °C do konštantnej hmotnosti a po zhomogenizovaní analyzovali na obsah dusíka Dumasovou metódou (Vondenhof a Schulte, 1979). Hodnoty telového dusíka spolu s príjmom dusíka za experimentálny čas sme použili na výpočet utilizačného parametra biologickej hodnoty bielkovín (NPU — net protein utilization — Miller a Bender, 1955):

$$NPU = \frac{\text{telový dusík zvierat na testovanej diéte v g} - \text{telový dusík zvierat na bezdusíkovej diéte v g}}{\text{príjem dusíka v g}} \times 100$$

Pre výpočet špecifickej aktivity fosfoenolpyruvátcarboxykinázy PEPCK (E.C. 4.1.1.32) sme biuretovou reakciou určili bielkoviny v homogenáte pečene (Tomášek, 1959). Aktivitu enzýmu sme stanovili UV-mikrometódou podľa Floresa a Alleyneho (1971).

Obsah bielkovín v kazeíne a v diétach bol určený Dumasovou metódou (Vondenhof a Schulte, 1979). Obsah tukov v margaríne i v diétach sme stanovili extrakčnou metódou Soxhletovou. Obsah sacharidov v cukre, škroboch, kazeíne a v diétach bol stanovený metódou podľa Schoorla (Príbela, 1978). Obsah živín v diétach kolísal v prípustných hraniciach od požadovaného percentuálneho obsahu.

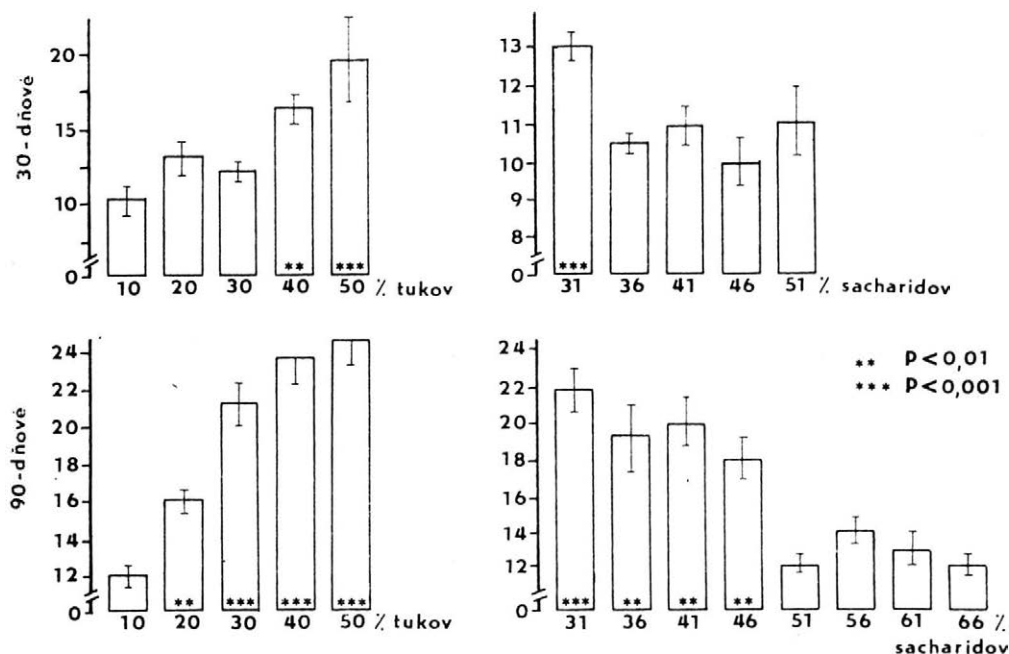


1. Utilizačný parameter biologickej hodnoty bielkovín (kazeínu) NPU u 30-dňových a 90-dňových potkanov, ktoré 14 dní prijímali *ad libitum* diéty so stúpajúcim obsahom tukov (margarínu) — 10, 20, 30, 40, 50 % a diéty so stúpajúcim obsahom sacharidov — 31, 36, 41, 46, 51, 56, 61 a 66 %. Statistická významnosť vzhľadom na diétu s obsahom 10 % tukov (obe vekové skupiny), 36 % sacharidov (30-dňové), 51 % sacharidov (90-dňové) — Net protein (casein) utilization (NPU) in 30-day and 90-day rats fed for 14 days *ad libitum* diets with the increasing fat content (margarine) — 10, 20, 30, 40, 50 p. c. and with the increasing saccharide content — 31, 36, 41, 46, 51, 56, 61 and 66 p. c. Statistical significance of the diet with 10 p. c. fat content (both age groups), 36 p. c. saccharide content (30-day animals) and 51 p. c. saccharide content (90-day animals)

VÝSLEDKY

V tab. I a na obr. 1 a 2 sú výsledky experimentu o vplyve stúpajúceho príjmu tukov na utilizáciu bielkovín u 30-dňových a 90-dňových zvierat. Ako vyplýva z príjmu bielkovín [konštantný diétny obsah], celkový príjem potravy u odstavených potkanov sa v závislosti od stúpajúceho obsahu tukov znižuje, takže pomerne širší rozsah energetického obsahu diét 1,9 až 2,7 MJ sa v prepočte na celkový energetický príjem za 14 dní zúži na 4,5 až 5,3 MJ (ak sa neberú do úvahy diéty s vysokým obsahom tukov 40 a 50 %, v opačnom prípade je rozsah energetického príjmu 3,7 až 5,3 MJ). U 90-dňových zvierat je pokles príjmu potravy v závislosti od stúpajúceho príjmu tukov ešte výraznejší (hlavne od diéty s obsahom 30 % tukov), takže energetický obsah diét je vo vyjadrení energetického príjmu len 7,1 až 8,4 MJ. Ak neberieme do úvahy diéty s vysokým obsahom tukov, je energetický príjem vyrovnaný.

Utilizačný parameter biologickej hodnoty bielkovín NPU (tab. I, obr. 1) je najvyšší u mladých zvierat pri obsahu 30 % tukov v diéte. Ostatné množstvá tuku významne znižujú utilizáciu bielkovín (pokles NPU o 27 až 35 %). Telový dusík je oproti štandardnej diéte (10 % bielkovín, 10 % tukov) významne nižší pri príjme diét s obsahom 40 a 50 %



2. Špecifická aktivita fosfoenolpyruvátcarboxykinázy PEPCK (μmol fosfoenolpyruvátu/min) v pečeni 30-dňových a 90-dňových potkanov, ktoré 14 dní prijímali *ad libitum* diéty so stúpajúcim obsahom tukov (margarínu) — 10, 20, 30, 40, 50 % a diéty so stúpajúcim obsahom sacharidov — 31, 36, 41, 46, 51, 56, 61 a 66 %. Štatistická významnosť ako na obr. 1 — Špecifická aktivita of the phosphoenolpyruvate carboxykinase PEPCK (μmol of phosphoenolpyruvate/min) in liver of 30-day and 90-day rats fed for 14 days *ad libitum* diets with an increasing fat content (margarine) — 10, 20, 30, 40 and 50 p. c. and by diets with an increasing saccharide content — 31, 36, 41, 46, 51, 56, 61 and 66 p. c. Statistical significance like in Fig. 1

I. Obsah živín v diétach, príjem živín, hodnoty telového dusíka, utilizačný parameter biologickej hodnoty bielkovín NPU a špecifická aktivita fosfoenolpyruvátkarboxykinázy PEPCK (μmol fosfoenolpyruvátu/min) v pečeni 30-dňových a 90-dňových potkanov, ktoré 14 dní prijímali *ad libitum* diéty so stúpajúcim obsahom tukov ($n = 6$) — Nutrient content in diets, nutrient intake, body nitrogen values, net protein utilization (NPU) and specific activity of phosphoenolpyruvate carboxykinase PEPCK (μmol of phosphoenolpyruvate/min) in liver of 30-day and 90-day rats fed for 14 days *ad libitum* diets with an increasing fat content ($n = 6$)

Obsah bielkovín (%)	10	10	10	10	10	0
Obsah tukov (%)	10	20	30	40	50	10
Obsah sacharidov (%)	76	66	56	46	36	86
30-dňové						
Prijem bielkovín (g/14 dní)	28,7 $\pm$ 1,6	24,2 $\pm$ 1,0	19,5 $\pm$ 0,6	15,7 $\pm$ 0,5	13,6 $\pm$ 0,5	0
Prijem tukov (g/14 dní)	28,9 $\pm$ 1,5	48,0 $\pm$ 2,1	56,9 $\pm$ 1,8	63,4 $\pm$ 2,1	67,0 $\pm$ 2,3	14,6 $\pm$ 0,4
Prijem sacharidov (g/14 dní)	220,0 $\pm$ 11,6	157,7 $\pm$ 6,9	109,5 $\pm$ 3,4	73,2 $\pm$ 2,4	49,1 $\pm$ 1,6	126,1 $\pm$ 3,5
Telový dusík (g/s. h.)	3,9 $\pm$ 0,2	3,8 $\pm$ 0,1	4,0 $\pm$ 0,1	3,2 $\pm$ 0,2 ⁺	3,0 $\pm$ 0,1 ⁺⁺	2,0 $\pm$ 0,1 ⁺⁺⁺
NPU	42,0 $\pm$ 0,9	46,1 $\pm$ 2,6	65,2 $\pm$ 3,7 ⁺⁺⁺	47,7 $\pm$ 3,0	45,5 $\pm$ 2,2	—
PEPCK	10,2 $\pm$ 1,2	13,1 $\pm$ 1,7	11,9 $\pm$ 0,7	16,2 $\pm$ 1,0 ⁺⁺	19,4 $\pm$ 2,9 ⁺⁺⁺	—
90-dňové						
Prijem bielkovín (g/14 dní)	43,4 $\pm$ 1,9	40,4 $\pm$ 1,9	31,6 $\pm$ 1,0	28,2 $\pm$ 1,5	25,3 $\pm$ 1,1	0
Prijem tukov (g/14 dní)	45,0 $\pm$ 2,0	81,2 $\pm$ 3,9	93,1 $\pm$ 3,2	113,1 $\pm$ 6,7	127,3 $\pm$ 5,6	32,4 $\pm$ 1,5
Prijem sacharidov (g/14 dní)	342,5 $\pm$ 15,4	268,0 $\pm$ 12,9	173,8 $\pm$ 6,1	141,5 $\pm$ 7,8	92,0 $\pm$ 4,0	278,6 $\pm$ 13,1
Telový dusík (g/s. h.)	12,2 $\pm$ 0,5	10,7 $\pm$ 0,1 ⁺⁺	9,9 $\pm$ 0,4 ⁺⁺	9,3 $\pm$ 0,3 ⁺⁺⁺	8,9 $\pm$ 0,2 ⁺⁺⁺	7,4 $\pm$ 0,5 ⁺⁺⁺
NPU	69,6 $\pm$ 3,3	49,9 $\pm$ 3,2 ⁺⁺	48,0 $\pm$ 3,2 ⁺⁺⁺	40,8 $\pm$ 3,7 ⁺⁺⁺	37,2 $\pm$ 2,8 ⁺⁺⁺	—
PEPCK	12,0 $\pm$ 0,6	16,0 $\pm$ 0,7 ⁺⁺	21,2 $\pm$ 1,2 ⁺⁺⁺	23,6 $\pm$ 1,8 ⁺⁺⁺	24,7 $\pm$ 1,4 ⁺⁺⁺	—

$\pm$ — $S_{\bar{x}}$ — stredná chyba z priemeru; P oproti diéte s obsahom 10 % bielkovín, 10 % tukov, 76 % sacharidov;
⁺ — $P < 0,05$; ⁺⁺ — $P < 0,01$; ⁺⁺⁺ — $P < 0,001$

II. Obsah živín v diétach, príjem živín, hodnoty telového dusíka, utilizačný parameter biologickej hodnoty bielkovín NPU a špecifická aktivita fosfoenolpyruvátcarboxykinázy PEPCK (μmol fosfoenolpyruvátu/min) v pečeni 30-dňových potkanov, ktoré 14 dní prijímali *ad libitum* diéty so stúpajúcim obsahom sacharidov ($n = 6$) — Nutrient content in diets, nutrient intake, body nitrogen values, net protein utilization (NPU) and specific activity of phosphoenolpyruvate carboxykinase (μmol of phosphoenolpyruvate/min) in liver of 30-day rats fed for 14 days *ad libitum* diets with an increasing saccharide content ($n = 6$)

Obsah bielkovín (%)	10	10	10	10	10	0
Obsah tukov (%)	30	30	30	30	30	30
Obsah sacharidov (%)	31	36	41	46	51	66
Príjem bielkovín (g/14 dní)	$24,4 \pm 0,7$	$23,7 \pm 1,6$	$22,3 \pm 1,2$	$21,4 \pm 0,5$	$20,9 \pm 0,9$	0
Príjem tukov (g/14 dní)	$73,2 \pm 2,2$	$71,2 \pm 4,8$	$67,0 \pm 3,7$	$64,4 \pm 1,5$	$62,9 \pm 2,7$	$34,8 \pm 0,9$
Príjem sacharidov (g/14 dní)	$75,7 \pm 2,3$	$86,2 \pm 5,8$	$91,5 \pm 5,1$	$98,7 \pm 2,3$	$106,9 \pm 4,7$	$76,7 \pm 2,1$
Telový dusík (g/s. h.)	$3,7 \pm 0,2^+$	$4,2 \pm 0,2$	$3,9 \pm 0,1$	$3,4 \pm 0,1^{++}$	$3,3 \pm 0,2^{++}$	$1,6 \pm 0,0^{+++}$
NPU	$54,2 \pm 3,5^{++}$	$68,8 \pm 3,0$	$64,3 \pm 4,5$	$53,3 \pm 5,0^+$	$51,8 \pm 3,0^{++}$	—
PEPCK	$13,1 \pm 0,3^{+++}$	$10,5 \pm 0,3$	$11,0 \pm 0,6$	$10,0 \pm 0,7$	$11,2 \pm 0,9$	—

$\pm$ — $S_{\bar{x}}$ — stredná chyba z priemeru; P oproti diéte s obsahom 10 % bielkovín, 30 % tukov a 36 % sacharidov;
 $+$ — $P < 0,05$; $++$ — $P < 0,01$; $+++$ — $P < 0,001$

tukov (tab. I). 90-dňové zvieratá najlepšie využívajú prijaté bielkoviny pri príjme toho istého množstva bielkovín aj tukov (teda pri diétnom obsahu 10 % tukov). Vyšší príjem tukov významne znižuje parameter NPU — o 29 až 47 %. Priebehu NPU odpovedajú aj hodnoty telového dusíka (tab. I). Proces glukoneogenézy v pečeni odstavených zvierat, predstavovaný aktivitou fosfoenolpyruvátcarboxykinázy PEPCK (tab. I, obr. 2), je aktivovaný u diét s obsahom 40 a 50 % tukov, u 90-dňových zvierat už od diéty s obsahom 20 % tukov a vyššie (porovnania vzhľadom na štandardnú diétu).

V tab. II a na obr. 1 a 2 sú výsledky vplyvu stúpajúceho príjmu sacharidov na utilizáciu bielkovín u 30-dňových potkanov. Ako vyplýva z príjmu bielkovín a tukov (konštantný diétny obsah), celkový príjem potravy sa v závislosti od stúpajúceho obsahu sacharidov v diéte nepatrne znižuje. Táto skutočnosť spôsobila úplné vyrovnanie energetického príjmu jednotlivých diét (4,56—4,61 MJ) v porovnaní s energetickým obsahom 1,9 až 2,2 MJ. V podmienkach optimálneho príjmu bielkovín a tukov je parameter NPU najvyšší pri obsahu 36 % sacharidov, nevýznamne znížený pri 41 % diétnom obsahu. Ostatné množstvá sacharidov znížili hodnotu NPU v porovnaní s 36 % diétnym obsahom o 21 až 25 %. Priebehu NPU odpovedajú v rade stúpajúceho príjmu sacharidov aj hodnoty telového dusíka (tab. II). Aktivita PEPCK (tab. II, obr. 2) je zvýšená pri najnižšom diétnom obsahu sacharidov 31 %.

Podľa tab. III sa celkový príjem potravy u 90-dňových zvierat v závislosti od stúpajúceho obsahu sacharidov nepatrne znižuje do 56 % výraznejšie u ďalších dvoch diét. Energetický obsah diét 1,1 až 1,7 MJ sa tým vzhľadom na energetický príjem zúžil na 5,6 až 7,1 MJ namiesto hornej hodnoty 8,4 MJ. Optimálne množstvo prijatých bielkovín sa v podmienkach optimálneho príjmu tukov a stúpajúceho príjmu sacharidov najlepšie využíva pri obsahu 51 % sacharidov (tab. III, obr. 1). Obsah 56 % sacharidov spôsobil nevýznamné zníženie NPU. Nižší i vyšší obsah sacharidov (než optimálny) znižuje hodnotu parametra NPU o 21 až 47 %. Hodnoty telového dusíka odpovedajú priebehu NPU (tab. III). Aktivita PEPCK v pečeni 90-dňových potkanov je zvýšená pri obsahu 31 až 46 % sacharidov v diéte (oproti 51 % — tab. III, obr. 2).

DISKUSIA

Utilizácia bielkovín, vyjadrená bilančnými hodnotami dusíka, ako výsledok príjmu bielkovín za určitý čas závisí okrem kvality bielkovín (Krajčovičová a i., 1979) od podmienok, v ktorých sú bielkoviny organizmom prijímané. Z týchto podmienok majú osobitnú dôležitosť nutričné podmienky (FAO a WHO, 1973). Táto stručná definícia vedie k použitiu hodnôt využitia bielkovín na určovanie optimálnych dávok živín v rôznych podmienkach (Hegsted, 1973; Krajčovičová a Dibák, 1980b, c, 1981c).

Ako vyplýva z nami zistených hodnôt čistej proteínovej využitia NPU, optimálny obsah tukov pre 30-dňové zvieratá je 30 %, sacharidov 36 % (resp. 41 %). Prijímané optimálne množstvo bielkovín sa v organizme 90-dňových zvierat najlepšie využíva pri obsahu 10 % tukov a 51 % sacharidov v potrave. Použitie biologickej metódy určovania optimálnych hodnôt potvrdilo, že za optimálnych nutričných podmienok,

III. Obsah živín v diétach, príjem živín, hodnoty telového dusíka, utilizačný parameter biologickej hodnoty bielkovín NPU a špecifická aktivita fosfoenolpyruvát-karboxykinázy PEPCK (μmol fosfoenolpyruvátu/min) v pečeni 90-dňových potkanov, ktoré 14 dní prijímali *ad libitum* diéty so stúpajúcim obsahom sacharidov ($n = 6$) — Nutrient content in diets, nutrient intake, body nitrogen values, net protein utilization (NPU) and specific activity of phosphoenolpyruvate carboxykinase PEPCK (μmol phosphoenolpyruvate/min) in liver of 90-day rats fed for 14 days *ad libitum* diets with an increasing saccharide content ($n = 6$)

Obsah (%) bielkovín tukov sacharidov	Príjem (g/14 dní) bielkovín tukov sacharidov	Telový dusík (g/s. h.)	NPU	PEPCK
10	49,6 $\pm$ 1,8	8,9 $\pm$ 0,3 ⁺⁺⁺	34,4 $\pm$ 4,3 ⁺⁺⁺	21,8 $\pm$ 1,6 ⁺⁺⁺
11	54,5 $\pm$ 2,0			
31	153,7 $\pm$ 5,6			
10	48,0 $\pm$ 2,1	9,3 $\pm$ 0,2 ⁺⁺⁺	41,1 $\pm$ 4,4 ⁺⁺⁺	19,1 $\pm$ 2,0 ⁺⁺
11	52,5 $\pm$ 2,3			
36	172,6 $\pm$ 7,6			
10	47,8 $\pm$ 0,7	9,3 $\pm$ 0,2 ⁺⁺⁺	41,2 $\pm$ 2,2 ⁺⁺⁺	20,0 $\pm$ 1,9 ⁺⁺
11	52,0 $\pm$ 0,8			
41	195,9 $\pm$ 3,0			
10	48,5 $\pm$ 2,0	10,1 $\pm$ 0,1 ⁺⁺⁺	50,7 $\pm$ 1,5 ⁺⁺⁺	18,2 $\pm$ 1,3 ⁺⁺
11	53,3 $\pm$ 2,2			
46	223,2 $\pm$ 9,2			
10	46,3 $\pm$ 1,2	10,9 $\pm$ 0,1	64,5 $\pm$ 1,7	12,4 $\pm$ 0,6
11	50,9 $\pm$ 1,3			
51	235,9 $\pm$ 6,1			
10	45,3 $\pm$ 2,6	10,4 $\pm$ 0,3	58,1 $\pm$ 3,1	14,3 $\pm$ 0,9
11	49,8 $\pm$ 2,9			
56	253,7 $\pm$ 14,6			
10	42,5 $\pm$ 2,6	9,5 $\pm$ 0,4 ⁺⁺	49,6 $\pm$ 2,7 ⁺⁺⁺	13,1 $\pm$ 1,1
11	46,8 $\pm$ 2,0			
61	259,5 $\pm$ 11,0			
10	40,3 $\pm$ 0,6	8,9 $\pm$ 0,2 ⁺⁺⁺	42,8 $\pm$ 2,7 ⁺⁺⁺	12,4 $\pm$ 0,6
11	44,4 $\pm$ 0,7			
66	266,2 $\pm$ 4,0			
0	0	6,2 $\pm$ 0,3 ⁺⁺⁺	—	—
11	34,3 $\pm$ 2,1			
66	206,3 $\pm$ 12,6			

$\pm$ — $\bar{S}_x$ — stredná chyba z priemeru; P oproti diéte s obsahom 10 % bielkovín, 11 % tukov a 51 % sacharidov; ++ — $P < 0,01$; +++ — $P < 0,001$

teda za diétného obsahu 30 a 10 % tukov u 30-dňových a 90-dňových zvierat a ďalej 36—41 a 51 % sacharidov u tých istých vekových skupín, má NPU rovnaké hodnoty pre obe vekové skupiny a oba experimenty, a to 65,2; 69,6; 68,8 — 64,3 a 64,5. Treba poznamenať, že aj keď sa použité zvieratá líšia vekom, podľa nami zostavenej a opakovane určenej rastovej krivky potkanov na Larsenovej diéte spadajú obe vekové kategórie do prudko stúpajúcej lineárnej časti krivky s nárastom hmotnosti 3 g za deň. Teda za optimálnych nutričných podmienok sa u zvierat s rovnakou rastovou hodnotou, aj keď vzhľadom na absolútnu hmotnosť relatívne odlišnou, prijímaná bielkovina utilizuje rovnako.

V nerovnovážnych nutričných podmienkach je však situácia iná. Vysoký príjem tukov i sacharidov znižuje utilizáciu bielkovín vo väčšej miere u 90-dňových zvierat než u 30-dňových. Pokles hodnoty NPU pri vysokom príjme tukov (40—50 % diétny obsah) je u 30-dňových zvierat o 27 až 30 %, u 90-dňových o 42 až 47 %. Zníženie NPU v podmienkach vyššieho príjmu sacharidov (diétny obsah 46 % u odstavených a 61 % u 90-dňových) je ešte rovnaké pre obe vekové skupiny — 23 %, no v podmienkach výraznejšieho zvýšenia príjmu sacharidov (51 a 66 %) je zníženie utilizácie bielkovín výraznejšie u starších zvierat, a to o 34 %, v porovnaní s odstavenými potkanmi, kde sa NPU znížilo o 25 %. Teda extrémne nutričné podmienky sa negatívnejšie odrážajú v organizme starších zvierat v porovnaní s odstavenými. Odstavené zvieratá majú väčšiu metabolickú aktivitu než 90-dňové, takže nerovnováha príjmu živín nie je u nich za sledovaný časový úsek (14 dní) tak nepriaznivá ako u metabolicky menej aktívneho organizmu 90-dňových zvierat (potvrdené aj matematickou metódou určovania optimálnych dávok živín — väčší rozptyl hodnôt u 90-dňových zvierat v porovnaní s odstavenými, nižšie korelačné koeficienty vzťahov, menšie tolerovanie zmeneného nutričného režimu — Krajčovičová a Dibák, 1981c).

Okrem biologickej metódy sledovania utilizácie bielkovín sme použili v práci aj biochemickú metódu — určovanie priebehu procesu glukoneogenézy meraním aktivity druhého kľúčového enzýmu fosfoenolpyruvátkarboxykinázy. Využili, resp. overili sme poznatok, že proces glukoneogenézy výrazne reaguje na príjem jednotlivých živín. Vysoký príjem bielkovín vždy spôsobí aktiváciu kľúčových glukoneogenetických enzýmov (Garza a i., 1977; Krajčovičová a Dibák, 1980c). Vysokotuková diéta pôsobí rovnako (Krajčovičová a Dibák, 1980b; Krajčovičová a i., 1980), hoci mastné kyseliny na rozdiel od aminokyselín nie sú glukoplastické, no — ako uvádza Tarnowski (1970) — sú efektormi glukoneogenézy. Vysoký prívod tukov má za následok zvýšenú tvorbu acetyl-CoA (prebieha lipolýza — Delorme a Harris, 1975), ktorý stimuluje prvý kľúčový enzým glukoneogenézy. Tretia živina je na spomínaný proces napojená v tom zmysle, že v prípade nedostatočného prívodu sacharidov potravou sa tieto tvoria z bielkovín práve procesom glukoneogenézy (Freedland a Harper, 1959; Krajčovičová a Dibák, 1979).

Proces glukoneogenézy sa osvedčil ako citlivý biochemický ukazovateľ aj v tejto práci. Zvýšená aktivita fosfoenolpyruvátkarboxykinázy pri obsahu 40 a 50 % tukov v diéte 30-dňových a od 20 % tukov vyššie v diéte 90-dňových zvierat potvrdzuje podľa NPU určenú optimálnu dávku tukov. Aktivácia glukoneogenézy pri obsahu 31 % sacharidov u 30-dňových a 31—46 % u 90-dňových potkanov poukazuje na nízky

prijem týchto množstiev sacharidov, pretože bielkoviny vtedy neplnia svoju primárnu funkciu, ale zúčastňujú sa na tvorbe glukózy.

Odstavením a príjmom tuhej potravy prechádzajú zvieratá z vysokotukovej diéty na diétu vysokosacharidovú. Tento prechod, resp. adaptácia na zmenený nutričný režim, predstavuje časovo dlhší úsek, ako sme ukázali aj v tejto práci. Potkanie mlieko (Hahn, 1966) obsahuje 44 % (v sušine) tukov a 12 % sacharidov. Postupné znižovanie obsahu tukov a zvyšovanie obsahu sacharidov v potrave vzhľadom na ontogenetický vývoj trvá do 90. dňa veku, kedy nastáva ustálenie hodnôt dávok živín pre dospelý vek (Krajčovičová a Dibák 1981b).

V práci sme okrem určenia fyziologických hodnôt živín ukázali na vhodnosť použitia biologickej metódy aj na dobrú citlivosť biochemickej metódy pre určovanie optimálnych dávok živín.

Literatúra

- DELORME, C. L. W. — HARRIS, K. L.: Effects of diet on lipoprotein lipase activity in the rat. *J. Nutr.*, 105, 1975, s. 447-451.
- FAO/WHO: Energy and protein requirements. Report of a Joint FAO/WHO ad hoc expert committee. FAO and WHO, Geneva 1973. 118 s.
- FLORES, H. — ALLEYNE, G. A. O.: Phosphoenolpyruvate carboxykinase of kidney. *Biochem. J.*, 123, 1971, s. 35-39.
- FREEDLAND, R. A. — HARPER, A. E.: Metabolic adaptation in higher animals. *J. biol. Chem.*, 234, 1959, s. 1350-1354.
- GARZA, C. — SCRIMSHAW, N. S. — YOUNG, V. R.: Human protein requirements: evaluation of the 1973 FAO/WHO safe level of protein intake for young men at high energy intakes. *Br. J. Nutr.*, 37, 1977, s. 403-420.
- HAHN, P.: Vývoj metabolismu hlavných živín u savec. Babáková sbírka, Praha, Stát. zdravot. nakl. 1966, s. 125.
- HEGSTED, D. M.: The amino acid requirement of rats and human beings. (s. 275-291). In: PORTER, J. W. G. — ROLLS, B. A.: Protein in human nutrition. London — New York, Academic Press 1973, s. 560.
- HENRY, K. M.: A comparison of biological methods with rats for determining the nutritive value of proteins. *Br. J. Nutr.*, 19, 1965, s. 125-135.
- KRAJČOVIČOVÁ, M.: Kalorický príjem a biologická hodnota bielkovín vzhľadom na optimalizáciu výživy. [Záverečná správa.] Bratislava, Výskumný ústav výživy ľudu 1980. 42 s.
- KRAJČOVIČOVÁ, M. — DIBÁK, O.: Determination of the optimum doses of nutrients in a diet. *Physiologia bohemoslov.*, 28, 1979, s. 289-297.
- KRAJČOVIČOVÁ, M. — DIBÁK, O.: Metódy určenia optimálneho príjmu tukov. *Bratisl. lek. Listy*, 73, 1980a, s. 444-451.
- KRAJČOVIČOVÁ, M. — DIBÁK, O.: Protein utilization in correlation to energy intake. *Physiologia bohemoslov.*, 29, 1980b, s. 233-241.
- KRAJČOVIČOVÁ, M. — DIBÁK, O.: Protein utilization in correlation to protein intake. *Physiologia bohemoslov.*, 29, 1980c, s. 37-47.
- KRAJČOVIČOVÁ, M. — DIBÁK, O.: Determination of optimum fat intake. *Physiologia bohemoslov.*, 30, 1981a, s. 55-62.
- KRAJČOVIČOVÁ, M. — DIBÁK, O.: Effect of a high fat intake on protein utilization during ontogenetic development. *Physiologia bohemoslov.*, 30, 1981b, s. 105-112.
- KRAJČOVIČOVÁ, M. — DIBÁK, O.: Niektoré metódy určovania optimálnych dávok tukov. *Čs. Fysiol.*, 30, 1981c, s. 341-354.
- KRAJČOVIČOVÁ, M. — DIBÁK, O. — BUČKO, A.: Závislosť biologickej hodnoty bielkovín od ich akosti. *Prům. Potravin*, 30, 1979, s. 356-359.
- KRAJČOVIČOVÁ, M. — DIBÁK, O. — BUČKO, A.: Über die Verwertung von Proteinen in Abhängigkeit von der Protein- und Fettaufnahme. *Nahrung*, 25, 1981, s. 647-654.
- MILLER, D. S. — BENDER, A. E.: The determination of the net utilization of proteins by a shortened method. *Br. J. Nutr.*, 9, 1955, s. 382-388.

PRÍBELA, A.: Cukry (s. 233-272). In: Analýza prírodných látok v poživatinách. Bratislava, Alfa 1978. 430 s.

ROBSON, J. R. K. — LARKIN, F. A. — SANDRETTO, A. M. — TADAYYON, B.: Malnutrition. Its causation and control. New York-London-Paris, Gordon and Breach 1972. 613 s.

TARNOWSKI, W.: Glukoneogenie und ihre Steuerung durch Nahrungsbestandteile. Nutr. Diet., 15, 1970, s. 135-156.

TOMÁŠEK, V.: Biuretová reakcia (s. 488-493). In: KEIL, B. — ŠORMOVÁ, Z.: Laboratorní technika biochemie. Praha, ČSAV 1959. 872 s.

VONDENHOF, T. — SCHULTE, K.: Die Bestimmung des Stickstoffs bei Fleisch-erzeugnissen nach dem Kjeldahl- und dem Dumas-Verfahren. Dte Lebensmit. Rundsch., 75, 1979, s. 187-189.

Došlo dňa 15. 7. 1981

KRAJČOVIČOVA, M. — DIBÁK, O. (Научно-исследовательский институт питания населения, Братислава): Утилизация белков крысами в условиях разного усвоения жиров и сахаридов. Vet. Med., Praha, 27, 1982 (1) : 45-56.

Крысам-самцам в возрасте 30 и 90 дней последовательно в продолжение 14 дней скормили вволю рационы с постоянным содержанием белков (казеина) в размере 10 0/0 и с растущим содержанием жиров (маргарина) в размере 10, 20, 30, 40 и 50 0/0 (I эксперимент); кроме того, — рационы с постоянным содержанием белков (казеина) 10 0/0 и жиров (маргарина) 30 0/0 (30-дневным крысам), 11 0/0 (90-дневным крысам) и с растущим содержанием сахаридов — 31, 36, 41, 46, 51 0/0 (90-дневным крысам 56, 61 и 66 0/0) в составе рисовый крахмал : сахар : картофельный крахмал = 6,4 : 1,2 : 1 (II эксперимент). На основе содержания физиологического азота и усвоения белков выведен параметр утилизации биологической ценности белков. Кроме того, изучали процесс глюконеогенеза в печени животных с помощью измерения специфической активности фосфоэндопируваткарбоксикиназы (ПЕПСК). С точки зрения максимального значения этого параметра, для 30-дневных животных оптимально 30 0/0-е содержание жира в пище и 36 0/0 сахаридов, а для 90-дневных — 10 0/0 жира и 51 0/0 сахаридов. Обе возрастные группы утилизируют белки в оптимальных условиях питания одинаково. Ранние отъемыши переносят экстремальные условия питания лучше, чем 90-дневные. Результаты биологического метода были подтверждены и процессом глюконеогенеза (активированного при содержании в рационе 40 и 50 0/0 жиров и 31 0/0 сахаридов у 30-дневных животных, а у старших — начиная с 20 0/0 жиров в рационе и 31 — 46 0/0 сахаридов. Работа способствует определению оптимальных физиологических доз питательных веществ с помощью биологического и биохимического методов.

чистая протейная утилизация; процесс глюконеогенеза; определение оптимальных значений жиров и сахаридов в пище крыс; онтогенез

KRAJČOVIČOVÁ, M. — DIBÁK, O. (Research Institute for Human Nutrition, Bratislava): Protein Utilization in Rats under Conditions of Different Fat and Saccharide Intake. Vet. Med., Praha, 27, 1982 (1) : 45-56.

For 14-day periods, 30-day-old and 90-day-old male rats were fed *ad libitum* the diets with a constant protein content (casein) of 10 p. c. and with an increased fat content (margarine) of 10, 20, 30, 40 and 50 p. c. (first experiment) and then the diets with a constant protein content (casein) of 10 p. c. and with a constant fat content (margarine) of 30 p. c. (30-day rats) and of 11 p. c. (90-day rats) and with an increasing saccharide content of 31, 36, 41, 46 and 51 p. c. (90-day rats were further fed by 56, 61 and 66 p. c.) composed of rice starch, sugar and potato starch at a ratio of 6.4 : 1.2 : 1 (second experiment). Net protein utilization (NPU) was determined on the basis of body nitrogen content and protein intake. The animal liver was examined for the gluconeogenesis by measuring the specific activity of phosphoenolpyruvate carboxykinase (PEPCK). The highest NPU value can be achieved as follows: in 30-day animals by administration of the feeds containing 30 p. c. of fat, 36 p. c. of saccharides; in 90-day animals by 10 p. c. of fat and 51 p. c. of saccharides. Under the optimum nutrition conditions, both age groups utilize protein in the same way. The extreme nutrition conditions are better tolerated by the just weaned animals than by 90-day animals. The results of this biological method were

also proved by the course of gluconeogenesis (activated at 40 and 50 p. c. fat content and 31 p. c. saccharide content in the diet fed to 30-day animals; in 90-day animals the activation occurred beginning 20 p. c. fat content and at 31 to 46 p. c. saccharide content). This paper contributes to the determination of optimum physiological nutrient rates by biological and biochemical methods.

net protein utilization; gluconeogenesis; determination of optimum fat and saccharide values in Norway rat feeds; ontogenesis

KRAJČOVIČOVÁ, M. — DIBÁK, O. (Forschungsinstitut für Menschenernährung, Bratislava): *Utilisierung von Eiweißstoffen bei Ratten unter Bedingungen einer unterschiedlichen Einnahme von Fetten und Sachariden*. Vet. Med., Praha, 27, 1982 (1): 45-56.

30tägigen und 90tägigen Ratten-Männchen wurden in einem Zeitzusammenhang immer im Laufe von 14 Tagen Futtergaben mit einem konstanten Gehalt an Eiweißstoffen (Kasein) — 10 % und mit einem sich erhöhenden Gehalt an Fetten (Margarin) — 10, 20, 30, 40 und 50 % (erstes Experiment) und weiter Futtergaben mit einem konstanten Gehalt an Eiweißstoffen (Kasein) — 10 % und Fetten (Margarinen) — 30 % (für 30tägige Ratten) und 11 % (für 90tägige Ratten) und mit einem zunehmenden Gehalt an Sachariden — 31, 36, 41, 46, 51 % (bei 90tägigen Ratten weiter 56, 61 und 66 %) mit der Struktur Reisstärke : Zucker : Kartoffelstärke = 6,4 : 1,2 : 1 (zweites Experiment) *ad libitum* verabreicht. Aufgrund des Gehaltes an Körperstickstoff und der Einnahme von Eiweißstoffen wurde der utillierte Parameter des biologischen Wertes von Eiweißstoffen (NPU) festgelegt. Weiter wurde in der Leber von Tieren der Prozeß der Glukoneogenese durch die Messung der spezifischen Aktivität der Phosphoenolpyruvatkarboxykinase (PEPCK) verfolgt. Vom Gesichtspunkt des höchsten Wertes des Parameters NPU ist für 30tägige Tiere ein 30%iger Gehalt an Fetten im Futter, ein 36%iger Gehalt an Sachariden optimal, bei 90tägigen Tieren werden die eingenommenen Eiweißstoffe am besten beim 10%igen Gehalt an Fetten und beim 51%igen Gehalt an Sachariden im Futter utiliert. Bei beiden Altersgruppen werden unter optimalen Nutritionsbedingungen die eingenommenen Eiweißstoffe gleich utiliert. Die eben abgesetzten Tiere tolerieren extreme Nutritionsbedingungen besser als 90tägige. Ergebnisse der biologischen Methode bestätigte auch der Verlauf des Prozesses der Glukoneogenese, der bei einem 40%igen und 50%igen Gehalt an Fetten und bei einem 31%igen Gehalt an Sachariden im Futter von 30tägigen Tieren und bei der älteren Altersgruppe von 20 % Fetten im Futter höher und bei einem 31 und 46%igen Gehalt an Sachariden aktiviert wurde. Die Arbeit ist ein Beitrag zur Bestimmung optimaler physiologischer Gaben von Nährstoffen durch die biologische und biochemische Methode.

reine Proteinutalisierung; Prozeß der Glukoneogenese; Bestimmung optimaler Werte von Fetten und Sachariden im Futter von Ratten; Ontogenese

Adresa autorov:

Ing. Marica Krajčovičová, CSc., MUDr. Otokar Dibák, CSc., Výskumný ustav výživy Iudu, Námestie 4, apríla 7, 880 30 Bratislava

L. Itze, O. Dobšínský, J. R. Reichl, B. Rotschild

ITZE, L. — DOBŠÍNSKÝ, O. — REICHL, J. R. — ROTSCCHILD, B. (Vysoká škola zemědělská, Praha; Univerzita Hohenheim): *Intestinální transport aminokyselin*. Vet. Med., Praha, 27, 1982 (1) : 57-61.

Na modelu kaudální části kryšího ilea *in situ* jsme studovali transportní mechanismy vybraných aminokyselin. Metodou "everted sac" jsme sledovali přestup *via mucosa* — *serosa*, resp. vlivy, které působí na transfer inhibičně. Aminokyseliny leucin, arginin a alanin (LEU, ARG a ALA) -C¹⁴, které jsme aplikovali v množství 100 nCi, jsme měřili za 15, 30, 45 a 60 minut. Resorpci argininu jsme dále sledovali v médiu, ve kterém jsme chlorid sodný nahradili chloridem litným; u druhé a třetí skupiny jsme inhibici aminokyselin navodili ouabainem v Krebs-Ringerově roztoku při pH 7,2 a 7,9. Ve čtvrté skupině jsme médium kompletovali ouabainem s chloridem litným. Nejintenzivnější přechod jsme zaznamenali u leucinu, nejslabší u alaninu. Inhibiční mechanismy argininu jsme navodili u média, ve kterém jsme substituovali ionty sodíku ionty lithia, resp. lithia s ouabainem. Statisticky významnou retardaci u argininu ($P < 0,05$) jsme zjistili také u média, které mělo vyšší koncentraci ouabainu (0,2 mmol.l⁻¹). Z výsledků je zřejmé, že ionty lithia i lithia s ouabainem představují nejsignifikantnější negativní zásah do transportního mechanismu. Zjištění, je-li tato deprese na úrovni Na⁺-K⁺ pumpy nebo enzymu Na⁺-K⁺ ATPázy, zůstává předmětem našeho dalšího experimentování.

absorpce; ileum; aminokyseliny; krysy

Aminokyseliny jsou aktivně transportovány ze střevního lumina prostřednictvím mukózy (Johns a Bergen, 1973); systém, který se na tomto mechanismu podílí, vyžaduje nosič. Tento nosič má sodík, resp. draslík jako aktivní složku a zdroj energie udržující proces v pohybu (Cohen a Huang, 1964). Je nepochybné, že tento mechanismus dokáže citlivě rozlišit každou aminokyselinu podle její struktury i podle uspořádání (Adib aj., 1967). Alvarado (1968) uvádí, že v době transportu mohou aminokyseliny soupeřit jak navzájem, tak i s jinými vstřebávanými komponentami.

Protože jsme chtěli ověřit, jaké mechanismy mohou negativně působit v průběhu transportu, studovali jsme absorpci aminokyselin v tenkém střevě, resp. v kaudální části ilea u krys metodou *in situ* podle techniky "everted-sac".

MATERIÁL A METODA

K pokusu jsme použili krysy, samce kmene Sprague-Dawley, o živé hmotnosti 150 g. Tenké střevo jsme inkubovali v Krebs-Ringerově roztoku (KRR). Médium na straně mukózy jsme nechali probublávat směsí z 95 % kyslíku a 5 % kysličníku

uhlíčitěho. Sledované aminokyseliny — leucin, arginin a alanin (LEU, ARG, ALA), značené C^{14} , jsme aplikovali v množství 100 nCi; transport *via mucosa — serosa* jsme sledovali v intervalech 15, 30, 45 a 60 minut. Aktivitu, kterou jsme vyjadřovali v nCi, jsme počítali na Hawlett-Packardově kapalném scintilačním spektrofotometru.

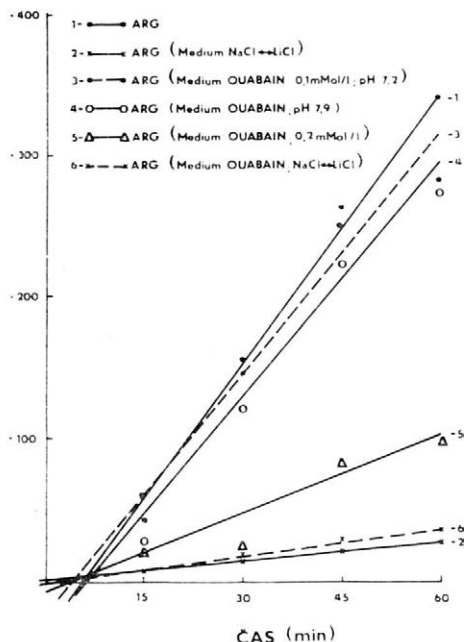
Za účelem studia transportního systému jsme sledovali resorpci ARG z média, ve kterém jsme chlorid sodný nahradili chloridem litným. Inhibici přechodu aminokyselin jsme dále navodili ouabainem přidaným do KRR při pH 7,2; 7,9 na koncentraci 0,1, resp. 0,2 mmol.l⁻¹. Další kombinované blokády jsme dosáhli tím, že jsme médium doplnili ouabainem, ve kterém jsme ionty sodíku nahradili ionty lithia.

VÝSLEDKY A DISKUSE

Největší absorpci jsme zaznamenali u LEU ($Y = 0,201x - 1,013$; $r = 0,99639$), nejslabší u ALA ($Y = 0,05x - 0,25$; $r = 0,99838$).

Největší resorpci ARG jsme naměřili za 60 minut v 50 μ l roztoku serózního média ($0,340 \pm 0,061$ nCi); rovnici regresní přímky pro ARG jsme vypočítali z hodnot osmi středních vaků izolovaných ze čtyř krys ($Y = 0,00651x - 0,0469$; $r = 0,69033$). Nejvyšší průměrnou hodnotu prostupnosti v souboru, ve kterém jsme nahradili ionty sodíku v médiu ionty lithia, jsme zjistili za 60 minut ($0,029 \pm 0,004$ nCi). Pokles resorpční aktivity byl statisticky vysoko významný ($P < 0,001$). Rovnici regresní přímky jsme vypočítali z podobných počtů jako u souboru prvního ($Y = 0,00045x + 0,00163$; $r = 0,78507$). V souboru čtyř vaků, ve kterém jsme KRR suplementovali ouabainem 0,1 mmol.l⁻¹ při pH 7,2, jsme získali nejvyšší resorpci po 60 minutách v 50 μ l ($0,281 \pm 0,021$ nCi). Rovnice regresní přímky byla: $Y = 0,00519x - 0,00688$; $r = 0,8562$. Při podobné suplementaci KRR s pH 7,9 ve čtvrtém souboru

nCi / 50 μ l



1. Časový průběh resorpce argininu, studovaný metodou "everted sac" na krysim ileu — The time course of arginine resorption studied by the "everted sac" method on rat ileum

(6 vaků) jsme naměřili nejvyšší prostupnost ARG za 60 minut $0,273 \pm 0,020$ nCi ($Y = 0,00527x - 0,02934$; $r = 0,79337$). U pátého souboru pokusných střevních vaků (3 kusy), ve kterém jsme použili vyšší koncentrace ouabainu v médiu ($0,2 \text{ mmol} \cdot \text{l}^{-1}$), byla nejvyšší aktivita serózního média za 60 minut $0,100 \pm 0,068$ nCi ($Y = 0,00195x - 0,01567$; $r = 0,46222$). U šestého souboru (6 vaků), ve kterém jsme KRR suplementovali ouabainem s chloridem litným místo chloridu sodného, jsme naměřili nejvyšší přestup, resp. inhibici za 45 minut v $50 \mu\text{l}$ média $0,030 \pm 0,002$ nCi ($Y = 0,00052x + 0,00258$; $r = 0,7598$). Útlum prostupnosti byl vysoce signifikantní ($P < 0,001$) — (obr. 1).

Protože výchozí koncentrace ARG byla stejná jak na straně mukózy, tak i na straně serózy, je přestup nepochybně závislý na aktivním transportu ve směru koncentrace gradientu. Z dosažených výsledků vyplývá, že největší zásah do transportního systému nutného pro přestup ARG stěnou střevní, resp. do $\text{Na}^+ \text{K}^+$ pumpy nebo enzymu $\text{Na}^+ \text{K}^+ \text{ATPázy}$, byl v médiu suplementovaném s chloridem litným. Kardiotonický steroid, přidaný do některého z transportních systémů účastnících se prostupu, nedával statisticky průkaznou inhibici v závislosti na pH (7,2 resp. 7,9); teprve vyšší koncentrace ouabainu průkazně zasáhla do systému ($P < 0,50$), stejně jako v kombinaci s chloridem litným.

Účinek monovalentního kationu lithia v našem experimentu svědčí o jeho jednostranném inhibičním působení na rozdíl od interakce sodium-alanin v králičím ileu. Při této interakci působí lithium v nepřítomnosti sodíku stimulačně (Frizzell a Schultz, 1970). Na základě svých výsledků nemůžeme vyslovit domněnku o možné substituci sodíku lithiem, podobně jako to nemohli učinit Carmali et (1964) v souvislosti s regenerací akčního potenciálu u srdečního svalu kočky, nebo Zerah n (1955), který zjistil aktivní transport lithia v izolované žabí kůži.

Naše předpokusy, ve kterých jsme studovali „uptake“ ARG, ILE a PHE, měly při substituci chloridu sodného chloridem litným, resp. při KRR suplementovaném ouabainem, podobný inhibiční trend.

Předkládané výsledky bude třeba dále rozšířit, abychom mohli určit transportní systémy v tenkém střevě, neboť se budou u jednotlivých aminokyselin nepochybně lišit, právě tak, jako jejich interakce. Rovněž určení osudu aminokyselin absorbovaných epitelem mukózy bude předpokladem pro přiblížení modelu *in vitro*, resp. *in situ* k podmínkám pokusů na živém zvířeti, u kterých při přeměně bílkovin a resorpci aminokyselin spolupůsobí nepochybně ještě další faktory.

Literatura

- ADIB, S. A. — GRAY, S. J. — MENDEN, E.: The kinetics of amino acid absorption and alteration of plasma composition of free amino acid mixtures. *Am. J. clin. Nutr.*, 20, 1967, s. 24-33.
 ALVARADO, F.: Amino acid transport in hamster small intestine: Site of inhibition by D-galactose. *Nature*, 219, 1968, s. 276-285.
 CARMALIET, E. E.: Influence of lithium ions on the transmembrane potential and cation content of cardiac cells. *J. gen. Phys.*, 47, 1964, s. 501-509.
 COHEN, L. L. — HUANG, K. C.: Intestinal transport of tryptophan and its derivatives. *Am. J. Physiol.*, 206, 1964, s. 647-652.
 FRIZZELL, R. A. — SCHULTZ, S. G.: Effects of monovalent cations on the sodium-

-alanine interaction in rabbit ileum implication of anionic groups in sodium binding. J. gen. Phys., 56, 1970, s. 462-490.
JOHNS, J. T. — BERGEN, W. G.: Studies on amino acid uptake by ovine small intestine. J. Nutr., 103, 1973, s. 1581-1595.
ZERAHN, K.: Studies on the active transport of lithium in the isolated frog skin. Acta physiol. scand., 33, 1955, s. 347-354.

Došlo dne 11. 6. 1981

ИТЗЕ, Л. — ДОБШИНСКИ, О. — РАЙХЛ, Й. Р. — РОТШИЛЬД, Б. (Сельскохозяйственный институт, Прага; Университет Хохенхайм): Интестинальное прохождение аминокислот. Vet. Med., Praha, 27, 1982 (1) : 57-61.

На модели каудальной части крысего *ileum in situ* определяли транспортные механизмы некоторых аминокислот. По методу "everted sac" устанавливали переход *via mucosa-serosa* (влияния, ингибирующие трансферный процесс). Аминокислоты лейцин, аргинин и аланин (LEU, ARG и ALA) -C¹⁴, примененные в количестве 100 nCi, измеряли спустя 15, 30, 45 и 60 мин. Резорбцию аргинина определяли также в среде в которой хлористый натрий был заменен хлоридом лития; во второй и третьей группах ингибирование аминокислоты вызвали с помощью уабена в растворе Кребс-Рингера при pH 7,2 и 7,9. В четвертой группе среду дополняли уабеном с хлоридом лития. Наиболее интенсивный переход отмечен у лейцина, а наиболее слабый — у аланина. Ингибирующие механизмы аргинина были вызваны в среде, где ионы натрия заменили ионами лития (или лития с уабеном). Статистически значимую ретардацию аргинина ($P < 0,05$) установили и в среде, где концентрация уабена была повышена (0,2 мМол/л⁻¹). Как показывают результаты, ионы лития (лития с уабеном) — это самое явное отрицательное вмешательство в транспортный механизм. Дальнейшие изучения покажут, остается ли эта депрессия на уровне Na⁺-K⁺ помпы ли же фермента Na⁺K⁺АТФазы.

абсорпция; *ileum*; аминокислоты; крысы

ITZE, L. — DOBŠINSKÝ, O. — REICHL, J. R. — ROTSCCHILD, B. (University of Agriculture, Praha; Hohenheim University): The Intestinal Transport of Amino Acids. Vet. Med., Praha, 27, 1982 (1) : 57-61.

The caudal part of rat ileum *in situ* was used as a model for studying the transport mechanisms of selected amino acids. The transfer *via mucosa — serosa*, or the effects acting inhibitory upon the transfer, were studied by the "everted sac" method. The leucine, arginine and alanine amino acids (LEU, ARG and ALA) -C¹⁴, which had been applied at a rate of 100 nCi were measured after 15, 30, 45 and 60 minutes. Arginine resorption was further studied in the medium in which sodium chloride had been replaced by lithium chloride; in the second and third group the inhibition of the amino acid was elicited by ouabain in the Krebs-Ringer solution at a pH 7.2 and 7.9. In the fourth group the medium was completed with ouabain and lithium chloride. The most intensive transfer was recorded in leucine and the weakest in alanine. The inhibitive mechanisms of arginine were induced in a medium in which sodium ions had been replaced by the ions of lithium or of lithium with ouabain. A statistically significant retardation in arginine ($P < 0.05$) was also found in the medium which had a higher concentration of ouabain (0.2 mMol per l). The results indicate that the ions of lithium as well as those of lithium with ouabain represent the most significant negative intervention in the transport mechanism. Experimentation continues, aimed at finding whether this depression is at the level of Na⁺-K⁺ pump or the N⁺K⁺ATPase enzyme.

absorption; *ileum*; amino acids; rats

ITZE, L. — DOBŠINSKÝ, O. — REICHL, J. R. — ROTSCCHILD, B. (Landwirtschaftliche Universität, Praha; Universität Hohenheim): Intestinaler Transport von Aminosäuren. Vet. Med., Praha, 27, 1982 (1) : 57-61.

Am Modell des kaudalen Teiles von ilea *in situ* untersuchten wir bei Ratten Transportmechanismen ausgewählter Aminosäuren. Durch die Methode "everted sac"

verfolgten wir Übertritt von *via mucosa* — *serosa*, bzw. Einflüsse, die auf den Transfer inhibitionsmäßig wirken. Die Aminosäuren Leuzin, Arginin und Alanin (LEU, ARG und ALA) - C^{14} , die wir in der Menge von 100 nCi verwendeten, maßen wir nach 15, 30, 45 und 60 Minuten. Wir verfolgten weiter die Resorption im Medium, in dem wir Natriumchlorid durch Lithiumchlorid ersetzten; bei der zweiten und dritten Gruppe riefen wir die Inhibition der Aminosäure durch Ouabain in der Krebs-Ringer-Lösung bei dem pH-Wert von 7,2 und 7,9 hervor. In der vierten Gruppe komplettierten wir durch Ouabain mit Lithiumchlorid. Den intensivsten Übergang stellten wir bei Leuzin, den schwächsten Übergang bei Alanin fest. Die Inhibitionsmechanismen von Arginin riefen wir beim Medium hervor, in dem wir die Ionen von Natrium durch die Ionen von Lithium, bzw. von Lithium mit Ouabain substituierten. Wir stellten eine statistisch signifikante Retardation bei Arginin ($P < 0,05$) auch beim Medium, das eine höhere Konzentration von Ouabain ($0,2 \text{ mMol/l}^{-1}$) hatte. Die Ergebnisse weisen nach, daß die Ionen von Lithium und auch von Lithium mit Ouabain einen signifikanten negativen Eingriff in den Transportmechanismus darstellen. Die Feststellung, ob diese Depression sich auf dem Niveau der $\text{Na}^+ - \text{K}^+$ -Umsetzung oder des Enzyms der $\text{Na}^+ \text{K}^+$ -Aminotransferase befindet, bleibt ein Gegenstand unseres weiteren Experimentierens.

Absorption; Ileum; Aminosäuren; Ratten

Adresy autorů:

MVDr. Lubomír Itze, CSc., prof. MVDr. Oto Dobšínský, DrSc., Vysoká škola zemědělská, 160 21 Praha - Suchbát
Prof. dr. J. R. Reichl, dr. B. Rotschild, Institut für Tierernährung der Universität Hohenheim, 7000 Stuttgart 70

Časopis Veterinární medicína uveřejňuje původní práce, recenze apod.

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

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

Je třeba, aby autoři přesně dodržovali tyto pokyny:

Jednotlivé práce nemají mít větší rozsah než 10 až 12 stran psaných na stroji se všemi přílohami. Autoři nechť se vyvarují nadměrného množství tabulek a zařazují raději grafy.

Technická úprava rukopisu

Úprava rukopisu má odpovídat státní normě ČSN 88 0220 (formát A4, 30 řádek na stránku, 60 úhozů na řádku, mezi řádky dvojité mezery). Ilustrace, grafy, tabulky a fotografie se dodávají zvlášť, nepodlepují se. Na zadní straně se vyznačí tužkou pořadové číslo obrázku a napíše se jméno autora článku. Texty k obrázkům se dodávají na zvláštním listě, umístění obrázků se označuje na levém okraji příslušné strany rukopisu číslicí v kroužku. Tabulky se číslují zvlášť římskými číslicemi. Na všechny obrázky i tabulky musí být v textu odkazy.

Vlastní úprava práce

Název práce (titul) nemá přesahovat 85 úhozů. Je nutné se v názvu vyvarovat obecných frází jako: Studie o ... Příspěvek k ... Pokus o ... Každý zaslaný článek musí být samostatnou prací, nemohou být publikovány články na pokračování, označené např.: Studie o ... I., II., III. atd., stejně tak jsou vyloučeny podtituly článků.

Jména autorů se uvádějí bez titulů — příjmení a první písmeno jména.

Souhrn

Vypracování souhrnu je nutno věnovat obzvláštní péči. Autor do něho má shrnout vše, co je na jeho práci pozoruhodné a nové a co má být dokumentováno. Souhrn má být nekritickým informačním výběrem významného obsahu a závěru, nikoliv však jeho pouhým popisem. Musí vyjádřit všechno podstatné, co je obsaženo ve vědecké práci, nemá ji však nahradit. Nesmí překročit rozsah 170 slov. Je třeba, aby byl psán celými větami, nikoliv telegrafickým způsobem. Souhrn začíná jménem autorů, názvem pracoviště a jeho sídlem (v závorce), titulem článků a citací: Vet. Med., Praha, 00, 1982 (0): 000-000. Místa označená nulami doplní na kompletní citaci při korektuře redakce.

Souhrn má obsahovat:

jméno studovaného organismu či jiného předmětu studie;
materiál, způsob jeho použití nebo aplikace, hlavní nálezy a výsledky;
nové techniky, jejich použití a kvality;
nová nebo ověřená data trvalé hodnoty (např. absorpční spektra, počty chromozómů, konstanty, naměřené fyziologické hodnoty atd.);
nové teorie, interpretace výsledků a jejich případné využití.

Klíčová slova (Key words, index terms)

Pod souhrn je nutno po vynechání řádky připojit klíčová slova. Ta mají sloužit:

a) k rychlé orientaci čtenáře (jakýsi „zkrácený referát“).
Nestačí-li pouhá jednotlivá slova, je možné použít i složitých výrazů, popř. i stručné věty.

b) při zařazování práce do kartotéky;

c) k rychlému uspořádání věcného rejstříku na konci roku.

Pod tímto zorným úhlem je nutné klíčová slova psát. Pojmy obsažené v titulu článku se zpravidla nezařazují.

Klíčových slov by nemělo být méně než 3 a více než 12. Začínají malým písmenem a oddělují se středníkem.

Úvod

Úvod má obsahovat hlavní důvody, proč byla práce uskutečněna, a velmi stručnou formou stav studované otázky. Je nutné se v něm vhnout rozsáhlým historickým přehledům. Uvádí se bez nadpisu, je možné v něm uvést k práci se vztahující citace autorů (doporučuje se co nejnížší počet citací — 4 až 8 autorů).

Materiál a metody

Metody se popisují pouze tehdy, jsou-li původní, jinak postačuje citovat autora metod a uvádět jen případné odchylky. Je v nich popsán pokusný materiál, včetně údajů o zvířatech. Popis metod by měl umožnit, aby kdokoliv z odborníků mohl podle něho a při použití uvedených citací práci opakovat.

Výsledky

Doporučuje se nepoužívat k vyjádření kvantitativních stavů tabulek a dát přednost grafům, anebo tabulky shrnout ve statistickém hodnocení naměřených hodnot. Tato část by neměla obsahovat teoretické závěry ani dedukce, ale pouze faktické nálezy.

Diskuse

Obsahuje zhodnocení práce. Diskutuje se o možných nedostacích a práce se kontroluje s výsledky dříve publikovanými (požaduje se

publikovat jen ty autory, kteří mají k publikované práci bližší vztah), pokud mají souvislost, nebo jsou s předloženou prací nějak srovnatelné.

Poděkování

Je-li to nutné, uvádí se stručně poděkování (jedna až dvě věty), např.: Za technickou spolupráci, Za pomoc při statistickém zpracování, Za poskytnutí méně běžného léčiva apod.

Literatura

V textu se při citaci uvede jméno autora a rok publikování. Do seznamu se zařadí všechny práce citované v textu článku, a to podle abecedy, bez číslování, každá citace na novém řádku. Je-li více prací od téhož autora ve stejném roce, přidá se k letopočtu označení a, b, c.

Literatura musí odpovídat ČSN 01 0197.

Zkratky názvů časopisů je třeba bezpodmínečně dodržovat podle publikace World Medical Periodicals WMA, New York, 1961, nebo podle List of serial Publications regularly scanned by the Commonwealth Bureau of Animal Health, January 1967. Soupis zkratk názvů periodik zpracovala u nás H. Kašpárková a vydal jej Výzkumný ústav veterinárního lékařství v Brně.

Adresa autora

Na zvláštním listě uvede autor akademický titul, jméno (ne jen zkratku), příjmení, vědeckou hodnost a podrobnou adresu pracoviště s PSČ. Totéž uvede i pro spoluautory.

Štěpánek J., Menšík P., Menšík J., Franz J., Šmíd B., Valíček L.: Diagnostika bovinního koronaviru pomocí suspenzí myších erytrocytů stabilizovaných formalinem	1
Franz J., Hampl J., Štěpánek J., Holub A., Menšík J., Sedláček M.: Sekrece imunoglobulinů v orgánech prasečích fětů v systému <i>in vitro</i>	11
Mikulík A., Dvořák R., Knesel L., Vávrová M., Žoldošová I.: Vliv přídatku Rumensinu v dietě býčků na kvalitu jejich masa	19
Lukášová J., Němcová L., Schánělová M.: Lipolytické mikroorganismy v játrových výrobcích	25
Němeček L., Hron P., Roth S.: Narkóza psa a kočky Althesinem	31
Otčenášek M., Mátl J., Vítovec J., Vladík P., Wohlman J.: Maduromykotický mycetom koně	37
Krajčovičová M., Dibák O.: Utilizácia bielkovín u potkanov pri rôznom prijíme tukov a sacharidov	45
Itze L., Dobšinský O., Reichl J. R., Rotschild B.: Intestinální transport aminokyselin	57

СОДЕРЖАНИЕ

Штепанек Я., Меншик П., Меншик Я., Франц Й., Шмид Б., Валичек Л.: Диагностика бовинного коронавируса с помощью суспензии мышиных эритроцитов, стабилизированных формалином	1
Франц Я., Гампл Я., Штепанек Я., Голуб А., Меншик Я., Седлачек М.: Секрция иммуноглобулинов в органах свиных фетов в системе <i>in vitro</i>	11
Микулик А., Дворжак Р., Кнесел Л., Ваврова М., Жолдошова И.: Влияние добавки Руменсина в диете бычков на качество их мяса	19
Лукашова Й., Немцова Л., Сганелова М.: Липолитические микроорганизмы в продуктах из печени	25
Немечек Л., Грон П., Рот С.: Наркоз собаки и кошки Алтхесином	31
Отченашек М., Матл Й., Витовец Й., Владик П., Волман Й.: Мадуромикотический мицетом лошади	37
Крайчовичова М., Дивак О.: Утилизация белков крысами в условиях разного усвоения жиров и сахаридов	45
Итзе Л., Добшински О., Райхл Й. Р., Ротшильд Б.: Интестинальное прохождение аминокислот	57

CONTENTS

Štěpánek J., Menšík P., Menšík J., Franz J., Šmíd B., Valíček L.: Diagnostics of Bovine Coronavirus by means of Mouse Erythrocyte Suspensions Stabilized with Formalin	1
Franz J., Hampl J., Štěpánek J., Holub A., Menšík J., Sedláček M.: Immunoglobulin Secretion in Pig Foetus Organs Cultivated <i>in vitro</i>	11
Mikulík A., Dvořák R., Knesel L., Vávrová M., Žoldošová I.: The Effect of Rumensin Supplement to Bullock Diet on the Meat Quality	19
Lukášová J., Němcová L., Schánělová M.: Lipolytic Microorganisms in Liver Products	25
Němeček L., Hron P., Roth S.: Althesin Anaesthesia in Dog and Cat	31
Otčenášek M., Mátl J., Vítovec J., Vladík P., Wohlman J.: Maduromycotic Mycetoma in Horse	37
Krajčovičová M., Dibák O.: Protein Utilization in Rats under Conditions of Different Fat and Saccharide Intake	45
Itze L., Dobšinský O., Reichl J. R., Rotschild B.: The Intestinal Transport of Amino Acids	57

Štěpánek J., Menšík P., Menšík J., Franz J., Šmíd B., Valíček L.: Diagnostik des bovinen Koronavirus durch die Suspension von Mäuseerythrozyten, die durch Formalin stabilisiert werden	1
Franz J., Hampl J., Štěpánek J., Holub A., Menšík J., Sedláček M.: Sekretion von Immunoglobulinen in Organen von Schweinefetussen im System <i>in vitro</i>	11
Mikulík A., Dvořák R., Knesel L., Vávrová M., Žoldošová I.: Einfluß der Zugabe von Rumensin in der Diät von Jungbullen auf die Güte ihres Fleisches	19
Lukášová J., Němcová L., Schánělová M.: Lipolytische Mikroorganismen in Leberprodukten	25
Němeček L., Hron P., Roth S.: Narkose von Hund und Katze durch Althesin	31
Otčenášek M., Mátl J., Vítovec J., Vladík P., Wohlman J.: Maduromykotischer Myzetom des Pferdes	37
Krajčovičová M., Dibák O.: Utilisierung von Eiweißstoffen bei Ratten unter Bedingungen einer unterschiedlichen Einnahme von Fetten und Sachariden	45
Itze L., Dobšínský O., Reichl J. R., Rotschild B.: Intestinaler Transport von Aminosäuren	57

Rukopisy odevzdány k tisku 13. 10. 1981 — Podepsáno k tisku 8. 12. 1981

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