

VĚDECKÝ ČASOPIS



VETERINÁRNÍ MEDICÍNA

5

ROČNÍK 34 (LXII)
PRAHA
KVĚTEN 1989
CENA 10 Kčs
CS ISSN 0390-5214

ČESKOSLOVENSKÁ AKADEMIE ZEMĚĚLSKÁ
ÚSTAV VĚDECKOTECHNICKÝCH INFORMACÍ
PRO ZEMĚĚLSTVÍ

Řídí redakční rada: akademik Jaroslav Otto Vrtiak (předseda), akademik Koloman Boďa, prof. MVDr. Ján Elečko, CSc., ing. MVDr. Radomír Hromádka, prof. MVDr. Jozef Hrušovský, DrSc., prof. MVDr. Dagmar Ježková, DrSc., doc. MVDr. Evžen Jurák, DrSc., MVDr. Jaroslav Palásek, CSc., prof. MVDr. Mikuláš Pješčák, CSc., doc. MVDr. Jozef Sokol, CSc., prof. MVDr. Bohumil Ševčík, DrSc.

Za vedení časopisu odpovídá akademik Jaroslav Otto Vrtiak

Redaktorka ing. Jovanka Václavičková

OBSAH

Škardová O.: Izolace a vlastnosti nutriční varianty streptokoků animálního původu	257
Brouček J., Kica J., Sommer A., Szakács J.: Hormonálna reakcia býkov na podávanie zeranolu a rumensinu	267
Raszyk J., Pillich J.: Imunologické kožní testy u selat	275
Kudweis M., Lojda Z., Vítovec J., Koudela B.: Aktivita vybraných dehydrogenáz a monoaminoxidázy v tenkém střevě gnotobiotických selat infikovaných kokciidí <i>Isospora suis</i>	287
Vrzgula L., Bíreš J., Hojerová A., Vrzgulová N.: Obsah těžkých kovů v pečeni ovce po experimentálně vyvolané intoxikaci oxidem měďnatým z průmyselné emise	297
Dvořák M.: Schopnost bentonitu a přírodního zeolitu adsorbovat aflatoxin z tekutých prostředí	307

Predbežná správa

Levkut M., Lešník F., Škarda R.: Výskyt vírusových částic vtáčieho sarkómového vírusu v sarkómovom tkanive	317
--	-----

СОДЕРЖАНИЕ

Шкардова О.: Выделение и свойства питательного варианта стрептококков животного происхождения	257
Броучек Й., Кица Я., Соммер А., Сакач Ю.: Гормональная реакция быков по отношению применения зеранола и руменсина	267
Расзык Й., Пиллих Й.: Иммунологические тесты проводимые на коже поросят	275
Кудвайс М., Лойда З., Витовец Й., Коудела Б.: Активность выбранных дегидрогеназ и монооксидазы в тонком кишечнике гнотобиологических поросят инфицированных кокцидиозом <i>Isospora suis</i>	287
Врзгула Л., Биреш Й., Гойерова А., Врзгулова Н.: Содержание тяжелых металлов в печени овец после экспериментально вызванной интоксикации окисью меди из промышленного спада	297
Дворжак М.: Способность bentонита и природного цеолита адсорбировать aflatoxin из жидкой среды	307
Левкут М., Лешник Ф., Шкарда Р.: Появление вирусных частиц птичьего саркомового вируса в саркомовой ткани	317

CONTENTS

Škardová O.: Isolation and Characteristics of Nutritionally Variant Streptococci of Animal Origin	257
Brouček J., Kica J., Sommer A., Szakács J.: Hormonal Responses of Bulls to Zeranol and Rumensin Implantation	267

IZOLACE A VLASTNOSTI NUTRIČNÍ VARIANTY STREPTOKOKŮ ANIMÁLNÍHO PŮVODU

O. Škardová

ŠKARDOVÁ, O. (Ústřední státní veterinární ústav, Praha): *Izolace a vlastnosti nutriční varianty streptokoků animálního původu*. Veter. Med. (Praha), 34, 1989 (5) : 257-266.

Byly izolovány čtyři kmeny nutričních variant streptokoků (NVS) z mléka mastitidních dojnic a jeden kmen z plic laboratorního potkana uhynulého na abscedující pneumonii. V primokultivaci rostly NVS až po 48hodinové inkubaci při teplotě 37 °C v aerobním nebo anaerobním prostředí jako velmi drobné nehemolytické satelitní kolonie kolem kmene *S. aureus* nebo kolem jiných grampozitivních a gramnegativních bakterií. V prvních subkulturách rostly NVS na živných půdách a v tekutých médiích obohacených 10 % hovězího séra a 5 % stafylokokového filtrátu nebo 0,02 % až 0,002 % pyridoxal hydrochloridu. Testované kmeny nerostly v prostředí s 10 % a 40 % žluče, s 6,5 % chloridu sodného, ani při teplotě 45 °C, nehydrolyzovaly hippurát sodný, eskulin, arginin, netvořily levan a dextran ze sacharózy a fermentovaly manit, sorbit, inulin, laktózu, rafinózu, trehalózu, glukózu, sacharózu a maltózu. Dva kmeny fermentovaly xylózu a čtyři salicin. Kmeny izolované z mastitid dojnic se ve svých biochemických vlastnostech nelišily od kmene izolovaného z pneumonie laboratorního potkana. Všechny kmeny NVS byly citlivé k chloramfenikolu, ampicilinu, gentamycinu, linkomycinu a cefalotinu, čtyři kmeny byly ještě citlivé k erytromycinu a tylozinu, dva k penicilinu a jeden kmen k streptomycinu, oxytetracyklinu, chlortetracyklinu a novobiocinu. Všechny kmeny byly rezistentní k neomycinu, tetracyklinu, oxacilinu a k sulfonamidům. Antigen připravovaný z izolovaných kmenů metodou podle Fullera nereagoval ani s jedním streptokokovým skupinovým sérem A—Z.

růstové požadavky; skot; mastitidy; laboratorní potkan; pneumonie

Nutriční varianta streptokoků (NVS) je označení pro růstově náročné viridující streptokoky. Jsou charakteristické satelitním růstem kolem grampozitivních a gramnegativních kolonií bakterií a svými nároky na přítomnost vitamínu B₆ nebo cysteinu v živném médiu. Pro tyto své vlastnosti jsou také nazývány streptokoky satelitními, symbiotickými, nebo streptokoky závislými na vitamínu B₆ (Hardie, 1986).

Přestože je těmto streptokokům v literatuře věnována značná pozornost, jejich taxonomické zařazení není dosud jasné. Roberts aj. (1979) zařadili NVS mezi *Streptococcus mitior*. Jiní autoři je zařadili jako *Streptococcus mitis* (Carey aj., 1975; Bouvet aj., 1982). Cocksey aj. (1979) uvádějí, že podle biochemických vlastností by NVS mohly být zařazeny do těchto druhů viridujících streptokoků: *S. salivarius*, *S. sanguis*, *S. mitis*, *S. morbillorum* nebo *S. anginosus*. Bouvet aj. (1982) však na základě biochemické typizace rozdělili kmeny NVS do tří biotypů, které se výrazně odlišovaly od dosavadních

druhů viridujících streptokoků. Také sérologickou typizací byly NVS rozděleny do tří sérotypů, které mají jiné typové antigeny než *Streptococcus mitis* a ostatní druhy streptokoků (Rijn a George, 1984). Je tedy zřejmé, že NVS by mohly být označovány za nové sérologické druhy streptokoků.

NVS byly poprvé izolovány v roce 1961 ze subakutní endokarditidy člověka (Frenkel a Hirsch, 1961). Později byly u lidí izolovány i z vaginálního výtěru, otitidy, infikované rány, ze slin (George, 1974) a z abscesu pankreatu (Carey aj., 1975). Nejčastěji však jsou izolovány z endokarditid, u kterých tvoří až 10 % všech streptokokových infekcí (Rijn, 1985). Ze zvířat byly NVS poprvé izolovány v roce 1984, a to z očních afekcí a z kohoutkového vředu koně, z kloubního a peritoneálního exsudátu, z horních cest dýchacích, endometritidy, hniloby paznehtů a kloubního abscesu skotu a ovcí (Higgins aj., 1984; Chengappa aj., 1984). NVS byly ze jmenovaných afekcí izolovány buď ve směsi s jinými etiologickými agens (*Actinomyces pyogenes*, *Pasteurella multocida*), nebo jako jediní původci. Zdá se proto, že NVS mají významnou roli v onemocnění nejen lidí, ale i zvířat.

V předložené práci referujeme o růstových a biochemických vlastnostech NVS izolovaných ze vzorků mléka mastitidních dojníc a z plic potkana.

MATERIÁL A METODY

KMENY

Čtyři kmeny NVS (č. 1—4) byly izolovány z mléka mastitidních dojníc, jeden kmen (č. 5) byl izolován z plic uhynulého potkana z chovu přírodovědecké fakulty Univerzity Karlovy Praha (tab. I).

KULTIVACE

Vzorky mléka z klinických mastitid byly kultivovány na krevním agaru s eskulinem a 5 % beraní krve, připraveným ze Základu pro krevní agar č. 4 SEVAC (ZKA 4). Nátěr mléka byl po zaschnutí tečován čarou standardního kmene *Staphylococcus aureus*. Petriho misky byly inkubovány při teplotě 37 °C aerobně i anaerobně a hodnoceny po 24, 48 a 72 hodinách. Velmi drobné satelitní kolonie

I. Původ izolovaných kmenů nutriční varianty streptokoků — The origin of isolated strains of nutritionally variant streptococci

Číslo kmene	Původ kmene	Diagnóza	Bakteriální nález*)
1	mléko dojnice	katarální mastitida	0
2	mléko dojnice	subklinická mastitida	0
3	mléko dojnice	chronická katarální mastitida	0
4	mléko dojnice	purulentní mastitida	0
5	plice potkana	krupózní a abscedující pneumonie	<i>E. coli</i> mikrokoky

*) jiný než NVS

rostoucí kolem kmene *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*) byly subkultivovány na krevní agar a tečovány stafylokokem. NVS z plic uhynulého potkana rostly na krevním agaru v satelitních koloniích kolem doprovodné saprofytické mikroflóry.

Izolované kmeny NVS byly pro další testování uchovávány jednak na čokoládovém agaru při teplotě 4 °C, jednak v bujónu s 10 % hovězího séra a s 5 % stafylokokového filtrátu, a to při teplotě -20 °C.

RŮSTOVÉ POŽADAVKY

Růst izolovaných kmenů NVS byl testován na těchto živných půdách:

1. krevní agar — ZKA 4 s 5 % beraní krve,
2. čokoládový agar,
3. krevní agar připravený ze ZKA 4 nebo Tryptone soya agaru Oxoid (TSA), obohacený 10 % hovězího séra a 5 % stafylokokového filtrátu,
4. TSA (bez krve) obohacený 10 % hovězího séra a 5 % stafylokokového filtrátu,
5. krevní agar připravený ze ZKA 4 s přidavkem 0,002 % pyridoxal hydrochloridu (Sigma Chemical Co., St. Louis, Mo., USA). Roztok pyridoxalu byl připraven v 67 mmol.l⁻¹ sodno-fosfátovém pufru o pH 7,8 (Bouvet aj., 1985),
6. Todd-Hewittův bujón Oxoid (THB) nebo Brain heart infusion Difco (BHI) s přidavkem 5 až 20 % stafylokokového filtrátu,
7. THB s přidavkem 10 % hovězího séra a 5 % stafylokokového filtrátu,
8. THB s přidavkem 0,002 % pyridoxal hydrochloridu.

Kmeny NVS byly na testovaných půdách inkubovány aerobně nebo anaerobně, přičemž anaerobní kultivace probíhala i při 10% tenzi CO₂.

Na pevné živné půdy byl kmen inokulován ve formě čáry vedené přes jednu čtvrtinu Petriho misky. Pak byl rozočkován sterilní bakteriologickou kličkou přes zbývající čtvrtiny. Růst byl hodnocen takto: — = žádný růst; ± = růst v očkovací čáře první čtvrtiny; + = růst i v očkovacích čárách druhé čtvrtiny; ++ = růst i v očkovacích čárách třetí čtvrtiny; +++ = růst i v očkovacích čárách čtvrté čtvrtiny.

PŘÍPRAVA STAFYLOKOKOVÉHO FILTRÁTU

Standardní kmen *S. aureus* s produkcí beta hemolyzínu byl po 18hodinové inkubaci (teplota 37 °C) v 500 ml Heart infusion Broth (Difco) odstředěn při 10 000 g po dobu 30 minut při teplotě 4 °C. Supernatant byl filtrován přes membránové filtry Millex-Gs (Millipore Co. Bedford, Ma 01730, USA) o velikosti pórů 0,22 μm.

BIOCHEMICKÁ TYPIZACE

Z biochemických vlastností byly testovány: schopnost tolerovat 10 %, 40 % žluče a 6,5 % chloridu sodného, schopnost růstu při teplotě 45 °C, hydrolýza esculinu, hippurátu sodného, argininu, fermentace glukózy, laktózy, sacharózy, maltózy, sorbitu, trehalózy, salicinu, manitu, inulinu, xylózy, rafinózy, produkce levanu nebo dextranu ze sacharózy.

Všechna média používaná pro biochemickou typizaci byla připravena podle Škardové (1983) a obohacena 10 % hovězího séra a 5 % stafylokokového filtrátu, nebo přidavkem 0,002 % pyridoxal hydrochloridu. Produkce levanu a dextranu byla stanovena metodou, kterou popsali Facklam a Wilkinson (1981) v médiu obohaceném 0,02 % pyridoxal hydrochloridu (Bouvet aj., 1985).

Tekuté půdy pro biochemickou typizaci byly inokulovány 0,1 ml 20hodinové kultury testovaného kmene (10 ml THB obohaceného hovězím sérem a stafylokokovým filtrátem) a inkubovány 48 hodin při teplotě 37 °C aerobně i anaerobně. Fermentace sacharidů byla posuzována po 48hodinové inkubaci v aerobním a anaerobním prostředí po přidání fenolové červeně jako indikátoru (Chengappa aj., 1984).

STANOVENÍ CITLIVOSTI NA ANTIBIOTIKA A CHEMOTERAPEUTIKA

Ke zjišťování citlivosti byl použit čokoládový agar a krevní agar obohacený pyridoxal hydrochloridem. Petriho misky byly inkubovány anaerobně 24 hodiny

při teplotě 37 °C. Citlivost kmenů byla testována ke 30 druhům antibakteriálních agens: penicilinu, streptomycinu, neomycinu, chloramfenikolu, septrinu, tetracyklinu, oxytetracyklinu, chlortetracyklinu, erytromycinu, bacitracinu, novobiocinu, polymyxinu B, kolistinu, kanamycinu, gentamycinu, ampicilinu, cefalotinu, linkomycinu, oxacilinu, tylozinu, spiramycinu, furadantinu, sulfamethoxidinu, sulfidoxazolu, nystatinu, sulfadimidinu, sulfomethoxypyridazinu, trimethoprinu, sulfamerazinu a sulfadiazinu.

SÉROLOGICKÁ TYPIZACE

Antigen z izolovaných kmenů byl připraven metodou podle Fullera. Precipitace byla provedena metodou ring testu se streptokokovými skupinovými séry A — T (SEVAC-ÚSOL Praha) a U — Z (IHE Praha).

VÝSLEDKY

Kmeny NVS byly v primokultuře na krevním agaru detekovány jako drobné nehemolytické kolonie rostoucí satelitně v blízkosti čáry standardního kmene *S. aureus* (kmeny zjištěné v mléce dojníc), nebo v blízkosti *E. coli* a mikrokoků (kmen z plic laboratorního potkana). Izoláty byly identifikovány jako streptokoky na základě mikroskopického vyšetření (grampozitivní koky ve dvojicích) a podle negativní katalázové reakce. V subkulturách NVS rostly na čokoládovém agaru nebo na krevním agaru s přidavkem 10 % hovězího séra a 5 % stafylokokového filtrátu, popřípadě na krevním agaru s přidavkem 0,002 % pyridoxal

II. Růst nutriční varianty streptokoků na pevných živných půdách — The growth of nutritionally variant streptococci in solid nutrient media

Doba inkubace (h)	Živné půdy									
	KA		KA + S.a.		KA + I/II		ČOKO		TSA + I	
	AE	AN	AE	AN	AE	AN	AE	AN	AE	AN
24	—	—	±	+	+	+	±	+	—	±
48	—	—	+	+	++	++	++	++	±	+
72	—	—	++	++	+++	+++	+++	+++	+	+

Vysvětlivky:

KA = krevní agar (ZKA 4 Imuna); S.a. = standardní kmen *Staphylococcus aureus*; I = přidavek 10 % hovězího séra a 5 % stafylokokového filtrátu; II = přidavek 0,002 % pyridoxal hydrochloridu; ČOKO = čokoládový agar; TSA = Tryptone soya agar (Oxoid) s 5 % beraní krve nebo bez ní; AE = aerobní inkubace; AN = anaerobní inkubace

Hodnocení růstu:

— = žádný růst; ± = růst v očkovací čáře první čtvrtiny; + = růst i v očkovacích čárách druhé čtvrtiny; ++ = růst i v očkovacích čárách třetí čtvrtiny; +++ = růst i v očkovacích čárách čtvrté čtvrtiny

Explanatory notes:

KA = blood agar (ZKA 4 Imuna); S.a. = standard strain of *Staphylococcus aureus*; I = supplement of 10 % bovine serum and 5 % staphylococcal filtrate; II = supplement of 0.002 % pyridoxal hydrochloride; ČOKO = chocolate agar; TSA = Tryptone soya agar (Oxoid) with 5 % sheep blood or without it; AE = aerobic incubation; AN = anaerobic incubation

Growth evaluation:

— = no growth; ± = growth in the inoculation line of the first quarter; + = growth also in the inoculation lines of the 2nd quarter; ++ = growth also in the inoculation lines of the third quarter; +++ = growth also in the inoculation lines of the fourth quarter

hydrochloridu. Při anaerobní kultivaci byl růst dobře patrný již za 24 hodiny, zatímco při aerobní kultivaci u většiny kmenů až za 48 hodin. Intenzita růstu NVS na TSA s přidavkem hovězího séra a stafylokokového filtrátu byla jak v přítomnosti, tak v absenci 5 % beraní krve podstatně nižší než na krevním agaru se stejnými přísadkami nebo na čokoládovém agaru (tab. II).

V tekutých půdách (THB a BHI) bez séra NVS nerostly ani v přítomnosti 5 až 20 % stafylokokového filtrátu. V THB rostly NVS až po přidání 10 % hovězího séra a 5 % stafylokokového filtrátu nebo po obohacení THB 0,002 % pyridoxalu.

Po více než deseti subkulturách získaly NVS schopnost růst na krevním agaru bez přísadky hovězího séra, stafylokokovém filtrátu nebo pyridoxal hydrochloridu.

Kmeny NVS neměly schopnost růst v přítomnosti 10 % a 40 % žluče, v prostředí s 6,5 % chloridu sodného a při teplotě 45 °C. Ani jeden z kmenů nehydrolyzoval eskulin, hippurát sodný ani arginin a netvořil levan ani dextran. Všechny kmeny produkovaly kyselinu z manitu, sorbitu, laktózy, rafinózy, trehalózy, glukózy, sacharózy, maltózy a inulinu. Ze salicinu tvořily kyselinu čtyři kmeny a z xylózy dva kmeny (tab. III).

Všechny izolované kmeny NVS byly citlivé k ampicilinu, chloramfenikolu, gentamycinu, cefalotinu, linkomycinu a všechny kmeny byly rezistentní k neomycinu, septrinu, tetracyklinu, oxacilinu, polymyxinu B, kolistinu, sulfamethoxidinu, sulfadimidinu, sulfamethopyridazinu, trimethoprinu, sulfamerazinu a sulfadiazinu. Všechny kmeny izolované z mastitid dojníc byly citlivé k erytromycinu. Ke zbývajícím antibiotikům byla citlivost kmenů izolovaných z mastitid tato: Kmen č. 1 byl ještě citlivý k penicilinu, streptomycinu, oxytetracyklinu, chlortetracyklinu,

III. Biochemické vlastnosti nutriční varianty streptokoků (kmeny č. 1 až 4 byly izolovány z mastitid dojníc, kmen č. 5 z pneumonie uhynulého laboratorního potkana) — Biochemical characteristics of nutritionally variant streptococci (strains no. 1 and 4 were isolated from the milk of mastitic cows, strain no. 5 from the lungs of a laboratory Norway rat who died from pneumonia)

Produkce kyseliny	Číslo kmene				
	1	2	3	4	5
Manit	+	+	+	+	+
Sorbit	+	+	+	+	+
Inulin	+	+	+	+	+
Laktóza	+	+	+	+	+
Rafinóza	+	+	+	+	+
Trehalóza	+	+	+	+	+
Salicin	+	+	+	—	+
Glukóza	+	+	+	+	+
Sacharóza	+	+	+	+	+
Maltóza	+	+	+	+	+
Xylóza	+	+	—	—	—

bacitracinu, tylozinu, kanamycinu, furadantinu a sulfisoxazolu; kmen č. 3 k tylozinu, furadantinu, spiramycinu, kanamycinu a bacitracinu; kmen č. 4 ke spiramycinu, kanamycinu, bacitracinu a sulfisoxazolu. Kmen izolovaný z pneumonie uhynulého laboratorního potkana byl ještě citlivý k penicilinu, tylozinu, furadantinu, spiramycinu a ke kanamycinu.

Antigeny připravené z izolovaných kmenů NVS nereagovaly se streptokokovými séry skupiny A — Z.

DISKUSE

Čtyři kmeny NVS byly detekovány při primokultivaci mléka mastitidních dojcnic na krevním agaru jako satelitní kolonie v blízkosti čáry *S. aureus*, který byl na půdy nanášen za účelem detekce *Streptococcus agalactiae* metodou tzv. přímého CAMP testu. Při bakteriologickém vyšetření plic laboratorního potkana uhynulého na krupózní pneumonii byl v primokultuře na krevním agaru detekován další kmen NVS jako satelitní kolonie v blízkosti kolonií *E. coli* nebo mikrokoků.

Růst izolovaných kmenů byl závislý na přidavku hovězího séra a stafylokokového filtrátu nebo na přidavku pyridoxal hydrochloridu. Podobné růstové požadavky humánních i animálních kmenů již demonstrovali Frenkel a Hirsch (1961), Roberts aj. (1979), Cooksey aj. (1979), Higgins aj. (1984) a Chengappa aj. (1984). Na rozdíl od autorů Chengappa aj. (1984), kteří doporučují živné půdy obohacovat hovězím fetálním sérem (5 %) a stafylokokovým filtrátem (5 %), jsme s úspěchem použili 10 % séra hovězího normálního a 5 % stafylokokového filtrátu. Všechny naše kmeny rostly na čokoládovém agaru již v prvních subkulturách, zatímco kmeny pocházející z očních afekcí koní, které izolovali Higgins aj. (1984), rostly na tomto agaru až po 12 subkulturách.

Přestože kmeny NVS rostou dobře na krevním agaru v okolí kmene *S. aureus*, nebyl přídavek 5 až 20 % stafylokokového filtrátu do THB a BHI dostačující pro jejich růst. Růst kmenů NVS v tekutých médiích byl umožněn až dalším přídavkem 10 % séra nebo 0,002 % pyridoxal hydrochloridu. K podobnému závěru dospěli i Chengappa aj. (1984), kteří kultivovali NVS pocházející z kloubních abscesů, z dělohy, paznehtní hniloby a peritoneální tekutiny koní, skotu a ovcí.

Po opakovaných subkulturách izolované kmeny NVS získaly schopnost růst i na neobohacených živných půdách, podobně jako kmeny izolované z rohokových vředů koní (Higgins aj., 1984).

Přítomnost oxidu uhličitého v atmosféře neměla výrazný vliv na růst izolovaných kmenů NVS. Higgins aj. (1984) však našel jeden kmen NVS z očních afekcí koní, který v prostředí bez oxidu uhličitého nerostl.

Fyziologické vlastnosti izolovaných kmenů NVS (negativní růst v prostředí s 10 % a 40 % žluče, se 6,5 % chloridu sodného a při teplotě 45 °C) se shodují s fyziologickými vlastnostmi NVS izolovaných z jiných orgánů zvířat a lidí (Higgins aj., 1984; Changappa aj., 1984; Bouvet aj., 1985).

Biochemické vlastnosti dosud popsanych kmenů NVS jsou značně variabilní. Kmeny popsané v literatuře a v naší práci se shodují pouze v negativní schopnosti hydrolyzovat hippurát sodný a tvořit levan nebo

dextran ze sacharózy (Higgins aj., 1984; Bouvet aj., 1985). Námi prezentované kmeny nehydrolyzovaly arginin ani eskulin, podobně jako kmeny humánního původu (Bouvet aj., 1985), zatímco kmeny izolované z korneálních vředů koní (Higgins aj., 1984) obě tyto látky hydrolyzovaly. Schopnost štěpit inulin měly naše kmeny NVS všechny, ale pouze 17 % kmenů humánního původu a ani jeden kmen izolovaný z koní. Manit štěpily všechny naše kmeny, 50 % kmenů izolovaných z koní a ani jeden kmen humánního původu. Rafinózu a sorbit štěpily všechny naše kmeny, ale málo nebo žádné kmeny izolované z koní a lidí (Higgins aj., 1984; Bouvet aj., 1985). Schopnost NVS štěpit sorbit již dříve prokázali také Chengappa aj. (1984) u kmenů z hnisavých procesů koně, skotu a ovcí. Produkci kyseliny z laktózy vykazovaly kmeny animálního původu (Chengappa aj., 1984; Higgins aj., 1984 a naše kmeny), zatímco pouze 25 % kmenů humánního původu laktózu štěpilo (Bouvet aj., 1985). Xylózu neštěpily tři z pěti našich kmenů a všechny kmeny animálního původu, které izolovali Chengappa aj. (1984). Salicin neštěpilo 97 % kmenů humánního původu (Bouvet aj., 1985), zatímco většina kmenů animálního původu salicin štěpila (Higgins aj., 1984; naše kmeny).

Srovnáme-li biochemické vlastnosti dosud izolovaných kmenů humánního a animálního původu s biochemickými vlastnostmi našich kmenů, zjistíme, že naše kmeny jsou biochemicky aktivnější. Jejich biochemické vlastnosti se značně přibližují vlastnostem *Streptococcus mutans*, *Streptococcus cricetus* a *Streptococcus sobrinus*. Kmeny NVS, které izolovali Higgins aj. (1984) z očních afekcí koní, připomínaly svými biochemickými vlastnostmi *Streptococcus intermedius* a *Streptococcus constellatus*. Kmeny, které izolovali Roberts aj. (1979), byly označeny jako *S. mitior* závislé na vitamínu B₆. Cooksey aj. (1979) zařadili kmeny NVS mezi *S. salivarius*, *S. sanguis*, *S. mitis*, *S. morbilorum* a *S. anginosus*, Bouvet aj. (1981) a Rijn a Bouvet (1984) mezi *S. mitis*.

Biochemicky se naše kmeny od sebe odlišují pouze ve schopnosti štěpit xylózu a salicin. Kmeny č. 1 a 2, které z xylózy tvořily kyselinu, byly izolovány z mastitid dojníc stejného chovu. Další dva kmeny s podobnými biochemickými vlastnostmi však pocházely z různých animálních druhů — kmen č. 3 byl izolován z mastitidy dojnice a kmen č. 5 z pneumonie laboratorního potkana. Kmen č. 4 (izolovaný z mastitidy) s negativní tvorbou kyseliny ze salicinu se odlišoval od ostatních kmenů izolovaných z mléka mastitidních dojníc.

Negativní reakce kmenů NVS se streptokokovými skupinovými séry A—Z je v souladu s údaji, které uveřejnil Facklam (1977) o absenci skupinového antigenu u viridujících streptokoků, i se zjištěním, ke kterým dospěli Cooksey aj. (1979) a Chengappa aj. (1984). Rijn a George (1984) ve svých studiích sice ukazují na přítomnost tří typových antigenů u NVS, ale společný skupinový antigen zatím nebyl prokázán.

Na základě citlivosti k antibiotikům a chemoterapeutikům lze říci, že naše kmeny NVS byly na rozdíl od kmenů, které izolovali Chengappa aj. (1984) a Higgins aj. (1984), rezistentnější k penicilinu. V citlivosti k ostatním antibiotikům a chemoterapeutikům jsme získali shodné výsledky s uvedenými autory.

Poděkování

Děkuji ing. Martě Bartuškové za přípravu kultivačních médií a Vladimíře Srpové za technickou asistenci.

Literatura

- BOUVET, A. — RIJN, I. van de — ACAR, J. F.: Nutritionally variant streptococcal endocarditis. In: HOLM, S. E. — CHRISTENSEN, P. (Eds). 8th Int. Symp. on streptococci and streptococcal diseases. Lund, Sweden. Basic concepts of streptococci and streptococcal diseases. Chertsey, Surrey, England, Reedbooks 1982, s. 66-67.
- BOUVET, A. — VILLEROY, F. — CHENG, F. — LAMESCH, C. — WILLIAMSON, R. — GUTMANN, L.: Characterization of nutritionally binding proteins. J. clin. Microbiol., 22, 1985, s. 1030-1034.
- CAREY, R. B. — GROSS, K. C. — ROBERTS, R. B.: Vitamin B₆-dependent *Streptococcus mitior* (mitis) isolated from patients with systemic infections. J. infect. Diseases, 131, 1975, s. 722-726.
- COOKSEY, R. C. — THOMPSON, F. S. — FACKLAM, R. R.: Physiological characterization of nutritionally variant streptococci. J. clin. Microbiol., 10, 1979, s. 326-330.
- FACKLAM, R. R.: Physiological differentiation of viridans streptococci. J. clin. Microbiol., 5, 1977, s. 184-201.
- FACKLAM, R. R. — WILKINSON, H. W.: The family *Streptococcaceae* (medical aspects). In: STARR, M. P. — STALP, H. — TRÜPER, H. G. — BALOWS, A. — SCHLEGEL, H. G. (Eds): The prokaryotes: a handbook on habitats, isolation and identification of bacteria. New York, Springer Verlag 1981, s. 1572-1597.
- FRENKEL, A. — HIRSCH, W.: Spontaneous development of L forms of streptococci requiring secretions of other bacteria or sulphhydryl compounds for normal growth. Nature, 191, 1961, s. 728-730.
- GEORGE, R. H.: The isolation of symbiotic streptococci. J. med. Microbiol., 7, 1974, s. 77-83.
- HARDIE, J. M.: Oral streptococci. In: Bergey's Manual of Systematic Bacteriology. Vol. 2. SNEATH, P. H. A. — MAIR, N. S. — SHARPE, M. E. (Eds). Baltimore, Williams and Wilkins 1986, s. 1054-1063.
- HIGGINS, R. — BIBERSTEIN, E. L. — JANG, S. S.: Nutritionally variant streptococci from corneal ulcers in horses. J. clin. Microbiol., 20, 1984, s. 1130-1134.
- CHENGAPPA, M. M. — BAILIE, W. E. — STOWE, E. C.: Isolation and characterization of nutritionally variant streptococci from animal sources. Amer. J. veter. Res., 45, 1984, s. 2445-2447.
- RIJN, I. van de: Quantitative analysis of cell wall of nutritionally variant streptococci grown under various growth conditions. Infect. Immun., 49, 1985, s. 518-522.
- RIJN, I. van de — GEORGE, M.: Immunochemical study of nutritionally variant streptococci. J. Immunol., 133, 1984, s. 2220-2225.
- ROBERTS, R. B. — KRIEGER, A. G. — SCHILLER, N. L. — GROSS, K. C.: Viridans streptococcal endocarditis: the role of various species, including pyridoxal-dependent streptococci. Rev. Infect. Dis., 1, 1979, s. 955-965.
- ŠKARDOVÁ, O.: Mikrobiologické postupy při laboratorní diagnostice mastitid. Zprávy ÚSVÚ, 1983, č. 2, 34 s.

Došlo dne 13. 4. 1988

ШКАРДОВА, О. (Центральный государственный ветеринарный институт, Прага): Выделение и свойства питательного варианта стрептококков животного происхождения. Veter. Med. (Praha), 34, 1989 (5) : 257-266.

Выделены четыре штамма питательных вариантов стрептококков (ПВС) из молока маститидных коров, а также один штамм из легких лабораторной крысы, павшей от абсцедирующей пневмонии. При первичном культивировании ПВС росли только после 48 часовой инкубации при 37 °C в аэробной или анаэробной среде как весьма мелкие негемолитические сателлитные колонии вокруг штамма *S. aureus* или вокруг других

граммположительных и грамотрицательных бактерий. В первых субкультурах ПВС росли на питательных средах и средах с добавлением 10 % сыворотки крупного рогатого скота, а также 5 % стафилококкового фильтрата или 0,02—0,002 % пиридоксаль гидрохлорида. Исследованные штаммы не росли ни в среде с 10 % и 40 % желчи, ни при добавлении 6,5 % хлорида натрия, ни при температуре 45 °С. Они не гидролизировали гиппурат натрия, эскулин, аргинин, не синтезировали леван и декстран из сахарозы, ферментировали маннит, сорбит, инулин, лактозу, рафинозу, трегалозу, сахарозы и мальтозу. Два штамма ферментировали ксилозу, а четыре — салицин. Штаммы, выделенные от маститных коров, по своим биохимическим свойствам не отличались от штамма, выделенного от лабораторной крысы, больной пневмонией. Все штаммы были чувствительны к хлорамфениколу, ампициллину, гентамицину и цефалотину; четыре штамма были чувствительны также к эритромицину и тилозину, два — к пенициллину и один — к стрептомицину, окситетрациклину, хлортетрациклину и новобиоцину. Все штаммы были резистентными по отношению к неомыцину, тетрациклину, оксацилину, а также к сульфонидами. Антиген, приготовленный из выделенных штаммов по методу Фüllера, не реагировал ни с одной стрептококковой групповой сывороткой А—З.

условия роста; крупный рогатый скот; маститы; лабораторные крысы; пневмония

SKARDOVÁ, O. (Central State Veterinary Institute, Praha): *Isolation and Characteristics of Nutritionally Variant Streptococci of Animal Origin*. Veter. Med. (Praha), 34, 1989 (5) : 257-266.

Four strains of nutritionally variant streptococci (NVS) were isolated from the milk of mastitic cows and one strain from the lungs of a laboratory Norway rat which died from suppurative pneumonia. In primary cultivation NVS grew aerobically and anaerobically within 48-hour incubation at a temperature of 37 °C as minute nonhemolytic satellite colonies around a previously overlaid *S. aureus* strain or around other grampositive and gramnegative bacteria. In the first subcultures NVS were growing in nutrient media enriched with 10 % bovine serum and 5 % staphylococcal filtrate, or 0.02 % to 0.002 % pyridoxal hydrochloride. All isolates did not grow in presence of 10 %, 40 % bile, and 6.5 % of sodium chloride, neither did they grow at a temperature of 45 °C, they did not hydrolyze sodium hippurate, esculin, arginine, they did not produce levane and dextrane from saccharose, they produced acid from mannitol, sorbitol, inulin, lactose, raffinose, trehalose, glucose, saccharose and maltose. Two strains produced acid from xylose and four strains from salicin. The strains isolated from mastitis did not have different biochemical properties from those isolated from a laboratory Norway rat with pneumonia. All strains of NVS were sensitive to chloramphenicol, ampicillin, gentamycin, lincomycin and cephalotin, four strains were sensitive to erythromycin and tylosine, two to penicillin and one to streptomycin, oxytetracycline, chlortetracycline and novobiocin. All strains were resistant to neomycin, tetracycline, oxacillin and sulphonamides. The antigen prepared from the isolated strains by the method of Fuller did not react with any streptococcal group serum A—Z.

growth requirements; cattle; mastitis; laboratory Norway rat; pneumonia

ŠKARDOVÁ, O. (Zentrales staatliches Veterinärinstitut, Praha): *Isolierung und Eigenschaften einer Nutritionsvariante von Streptokokken animalischer Herkunft*. Veter. Med. (Praha), 34, 1989 (5) : 257-266.

Aus der Milch mastitiskranker Kühe wurden vier Stämme und aus der Lunge einer an abszedierender Pneumonie verendeten Laborratte wurde ein Stamm einer Streptokokken-Nutritionsvariante (NVS) isoliert. In der Primärkultur wuchsen die NVS erst nach 48stündiger Bebrütung bei 37 °C in aerobem sowie anaerobem Milieu als sehr kleine, nicht hämolytische Satellitenkolonien rings um den Stamm *S. aureus*, oder um andere grampositive und gramnegative Bakterien. In den ersten Subkulturen wuchsen die NVS auf Nährböden und in flüssigen Medien, die mit 10 % Bovinserum und 5 % Staphylokokkenfiltrat oder 0,02 % bis 0,002 % Pyridoxal-Hydrochlorid angereichert waren. Die getesteten Stämme wuchsen nicht in Milieus mit 10 % und 40 % Galle, mit 6,5 % Natriumchlorid, auch nicht bei einer Tempe-

ratur von 45 °C, sie hydrolysierten weder Natriumhippurat noch Äskulin und Arginin, bildeten kein Levan und Dextran aus Saccharose und fermentierten Mannit, Sorbit, Inulin, Laktose, Raffinose, Trehalose, Glukose, Sacharose und Maltose. Zwei der Stämme fermentierten die Xylose und vier Stämme Salizin. Die aus der Mastitis der Kühe isolierten Stämme unterschieden sich nicht in ihren biochemischen Eigenschaften von dem aus der Pneumonie der Laborratte isolierten Stamm. Sämtliche NVS-Stämme waren empfindlich gegenüber Chloramphenikol, Ampizillin, Gentamycin, Linkomycin und Zephalotin, vier Stämme waren darüberhinaus noch gegenüber Erythromycin und Tylosin, zwei gegenüber Penizillin und ein Stamm gegenüber Streptomycin, Oxytetracyclin, Chlortetracyclin und Novobiozin sensibel. Resistent waren alle Stämme gegenüber Neomycin, Tetracyclin, Oxazillin und gegenüber Sulfonamiden. Das aus den isolierten Stämmen nach der Methode von Fuller hergestellte Antigen reagierte mit keinem einzigen Streptokokkengruppenserum A—Z. Wachstumsforderungen; Rind; Mastitis; Laborratte; Pneumonie

Adresa autorky:

MVDr. Olga Škardová, Ústřední státní veterinární ústav, Sídliště 136, 165 03 Praha 6 - Lysolaje

HORMONÁLNA REAKCIA BÝKOV NA PODÁVANIE ZERANOLU A RUMENSINU

J. Brouček, J. Kica, A. Sommer, J. Szakács

BROUČEK, J. — KICA, J. — SOMMER, A. — SZAKÁCS, J. (Výskumný ústav živočíšnej výroby, Nitra): *Hormonálna reakcia býkov na podávanie zeranolu a rumensinu*. Veter. Med. (Praha), 34, 1989 (5) : 267-273.

Cieľom práce bolo zistiť vplyv rastových stimulátorov Ralgro zeranol a Rumensin na zmeny niektorých hormónov v krvi výkrmových býkov. V prvom experimente sme sledovali 21 býkov, ktoré boli rozdelené do troch skupín. Prvá skupina bola kontrolná, druhej sa podával Ralgro (3X) a tretej Ralgro a Rumensin. V druhom experimente sme použili 12 býkov. Pokusnej skupine sa implantoval päťkrát za obdobie výkrmu Ralgro. V hladinách trijódtyronínu a cyklického adenosínmonofosfátu sme medzi skupinami zaznamenali strídavé zmeny, väčšinou nepreukazné. Tyroxín bol takmer vo všetkých sledovaniach prvého a druhého experimentu u zvierat stimulovaných preparátom Ralgro znížený. Preukazné zvýšenie sa zistilo vo veku 14,3 mesiacov v druhom experimente ($62,8 \text{ nmol.l}^{-1}$ oproti $56,9 \text{ nmol.l}^{-1}$). V oboch experimentoch sme evidovali rovnaký trend v obsahu inzulínu — v siedmich z celkového počtu osem pozorovaní boli štatisticky nepreukazne vyššie hodnoty zvierat ošetrovaných preparátom Ralgro. Najväčšie diferencie boli vo veku 11,1 a 14,3 mesiacov v druhom experimente ($3,9 \mu\text{IU.ml}^{-1}$ a $3,6 \mu\text{IU.ml}^{-1}$). Signifikantné rozdiely sme zaznamenali pri koncentrácii testosterónu v druhom experimente. Vo veku 13,7 a 14,3 mesiacov bol obsah u pokusnej skupiny o $1,9+ \text{ nmol.l}^{-1}$ a $3,4++ \text{ nmol.l}^{-1}$ nižší.

stimulácia rastu; Ralgro; tyroxín; inzulín; testosterón

Pre reguláciu rastu sú za najdôležitejšie hormóny — okrem somatotropného — považované hormóny tyreoidy, inzulín a testosterón. Produkty štítnej žľazy — tyroxín a trijódtyronín — pôsobia na syntézu a sekréciu rastového hormónu a zvyšujú citlivosť tkanivových receptorov na stimuláciu somatomedínami (Spencer, 1985). Hormón pankreasu inzulín je v tesnom vzťahu s rastovým hormónom. Reguluje nielen hladinu glukózu jej prevodom na bielkoviny a lipidy cez pyruvát a aktiváciou syntézy glykogénu, ale podstatne zasahuje aj do proteínového a lipidového metabolizmu. Vzhľadom na túto funkciu je považovaný za kľúčový hormón látkovej premeny (Trenkle, 1974). Cyklický 3,5-adenosínmonofosfát (c-AMP) stimuluje aktivitu enzýmov zúčastnených na riadení premeny substrátov a energie a svojou funkciou mediátora regulačných pochodov sprostredkováva účinok viacerých hormónov — inzulínu, glukagénu, somatotropínu a iných (Dargel, 1980). Verde a Trenkle (1987) pri porovnaní býkov s vysokou a nízkou intenzitou rastu zistili, že zvieratá rýchlejšie rastúce majú významne vyššie hladiny inzulínu, tyroxínu a trijódtyronínu v krvi. Korelačný koefi-

cient medzi koncentráciou inzulínu a príjmom sušiny a živou hmotnosťou predstavoval $r = 0,55^{xx}$ a $r = 0,81^{xx}$ a vzťah medzi tyroxínom a týmito ukazovateľmi bol tiež vysokopreukazný $r = 0,71^{xx}$, $r = 0,55^{xx}$.

Viaceri autori dokázali pri použití rastového stimulátora Ralgro, ktorého účinnou látkou je fytoestrogén zeranol, zníženie hladiny androgénov u býkov (Roche a Quirke, 1984). Fabry a i. (1984) zaznamenali u býkov ošetrovaných zeranolom po 30 a 60 dňoch od aplikácie zníženie testosterónu z $1,6 \mu\text{g} \cdot \text{l}^{-1}$ na $0,7 \mu\text{g} \cdot \text{l}^{-1}$ a $1,0 \mu\text{g} \cdot \text{l}^{-1}$. Rozdiely sú vysokosignifikantné. Gray a i. (1986) udávajú u býkov s implantáciou Ralgra nižšie koncentrácie testosterónu vo veku od 8 do 13 mesiacov. V hladine tyroxínu neboli výrazné rozdiely okrem odberu krvi vo veku 13,9 mesiaca, kedy sa u pokusnej skupiny evidoval signifikantný pokles v porovnaní s kontrolnou skupinou ($94,1 \text{ ng} \cdot \text{ml}^{-1}$ oproti $112,3 \text{ ng} \cdot \text{ml}^{-1}$). Inzulín bol u stimulovaných býkov zvýšený takmer vo všetkých pozorovaniach. Podobný vplyv zeranolu na eleváciu obsahu inzulínu zistili aj Williams a i. (1984). Doornebal a i. (1987) dokázali u býkov, ktorým aplikovali prípravok Ralgro vo veku 6,9 a 11,0 mesiacov, pri odbere krvi po 140 dňoch experimentu preukazné zvýšenie koncentrácie tyroxínu z $99,1 \text{ nmol}$ na $106,5 \text{ nmol}$. Trijódtyronín a inzulín sa zvýšili len nepreukazne.

MATERIÁL A METÓDA

Cieľom práce bolo zistiť vplyv rastových stimulátorov Ralgro, ktorého účinnou zložkou je zeranol, a Rumensin na zmeny niektorých hormónov v krvi výkrmových býkov. Realizovali sa dva experimenty. V prvom experimente, ktorý sa uskutočnil v období júl 1985 až apríl 1986, sa použilo 21 šesťmesačných býkov slovenského strakatého plemena o priemernej živej hmotnosti 242 kg . Boli rozdelení do troch skupín po siedmich kusoch. Prvá skupina bola kontrolná, druhej sa podával prípravok Ralgro a tretej Ralgro a Rumensin. Aplikácia Ralgra sa robila podkožne do vonkajšej strany ucha podľa návodu výrobcu (IMC Terre Haute, Indiana, USA) vo veku 5,2; 7,6 a 10,4 mesiacov. Rumensin sa dával individuálne pri každom kŕmení v množstve 30 mg na kilogram spotrebovanej sušiny krmiva. Krv sa odoberala vo veku 6,0; 8,0; 10,7 a 14,3 mesiacov. V druhom experimente, ktorý prebiehal od júna 1986 do apríla 1987, sa použilo 12 býkov slovenského strakatého plemena. Priemerný vek činil 4,5 mesiacov a živá hmotnosť 116 kg . Zvieratá sa rozdelili do dvoch skupín ($n = 6$), pokusnej skupine sa implantoval Ralgro 5X (vo veku 6,2; 8,3; 10,3; 12,4 a 13,8 mesiacov) rovnakým spôsobom ako v prvom experimente. Krv sa odoberala vo veku 5,0; 11,0; 13,7 a 14,3 mesiacov. Ukazovatele hormonálneho metabolizmu sa stanovovali v krvnom sére rádioimunologickými metódami, tyroxín a trijódtyronín súpravami ÚRVJT Košice, cyklický adenosínmonofosfát kitom ÚVVVR Praha, testosterón kitom DIRIA-TESTOK firmy Sorin, Taliansko. Inzulín sa sledoval v prvom experimente súpravou maďarskej výroby ITHAS Budapešť a v druhom experimente RIA-INS-kitom vyrábaným IAE-IPRC Otwock, Poľsko. Na štatistické vyhodnotenie sa použila jednofaktorová analýza rozptylu s Duncanovým testom a Studentov t -test.

VÝSLEDKY

PRVÝ EXPERIMENT

Pri prvom sledovaní po 24 dňoch od prvej implantácie bola najvyššia hladina trijódtyronínu u druhej skupiny (Ralgro) — $1,14 \text{ nmol} \cdot \text{l}^{-1}$ a najnižšia u tretej skupiny (Ralgro + Rumensin) — $0,64 \text{ nmol} \cdot \text{l}^{-1}$ (tab. I). Rovnaká tendencia sa zistila aj pri druhom sledovaní, ktoré na-

I. Hladina hormónov v krvnom sére sledovaných skupín býkov v jednotlivých pozorovaniach (prvý experiment) — Hormone concentrations in the blood serum of the bulls of the test groups in different investigations (first experiment)

Ukazovateľ		1. 8. 85 (vek 6 mesiacov)			8. 10. 85 (vek 8 mesiacov)			19. 12. 85 (vek 10 mesiacov a 20 dní)			10,7 (vek 14 mesiacov a 10 dní)			8. 4. 86 (vek 14 mesiacov a 10 dní)		
		skupina														
		1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3			
T ₃ nmol.l ⁻¹	$\bar{x}$	0,90	1,14	0,64	0,97	1,24	0,86	1,01	0,94	0,97	1,10	1,14	1,13			
	s	0,40	0,89	0,28	0,23	0,40	0,10	0,07	0,05	0,05	0,11	0,05	0,09			
	d		— 0,24	0,50 0,26		— 0,27 ⁺	0,38 0,11		0,07	— 0,03 0,04		— 0,04	0,01 — 0,03			
T ₄ nmol.l ⁻¹	$\bar{x}$	59,80	47,90	50,60	60,40	59,40	54,90	72,00	67,30	66,80	62,20	64,70	63,60			
	s	11,20	7,90	12,60	17,60	13,20	9,20	5,10	14,10	9,90	10,10	9,70	7,10			
	d		11,90	— 2,70 9,20		1,00	— 0,50 5,50		4,70	0,50 5,20		— 2,50	1,10 — 1,40			
cAMP nmol.l ⁻¹	$\bar{x}$	5,30	5,10	5,20	7,50	7,00	12,10	11,10	11,10	11,00	11,60	7,90	8,70			
	s	0,70	1,50	1,20	5,10	4,50	2,00	0,90	1,90	1,00	2,40	1,00	0,50			
	d		0,20	— 0,10 0,10		0,50	— 5,10 — 4,60		0,00	0,10 0,10		3,70	— 0,80 ⁺⁺ 2,90 ⁺⁺			
INS μIU.ml ⁻¹	$\bar{x}$	7,70	9,20	9,40	7,20	9,00	9,30	10,50	11,80	13,00	10,90	13,20	10,90			
	s	2,90	2,90	3,70	2,70	2,70	4,50	2,70	2,60	4,20	2,00	2,50	2,00			
	d		— 1,50	— 0,20 — 1,70		— 1,80	— 0,30 — 2,10		— 1,30	— 1,20 — 2,50		— 2,30	2,30 0,00			

T₃ = trijódtyronín
T₄ = tyroxín

cAMP = cyklický adenosínmonofosfát
INS = inzulín

1. skupina — kontrolná $n = 7$
2. skupina — Ralgo $n = 7$
3. skupina — Ralgo a Rumensin $n = 7$

II. Hladiny hormónov v krvnom sére sledovaných skupín býkov v jednotlivých pozorovaniach (druhý experiment) — Hormone concentrations in the blood serum of the bulls of the test groups in different investigations (second experiment)

Ukazovateľ	Skupina	19. 6. 86 (vek 5 mesiacov)			22. 12. 86 (vek 11,1 mesiace)			11. 3. 87 (vek 13,7 mesiace)			1. 4. 87 (vek 14,3 mesiace)		
		$\bar{x}$	s	d	$\bar{x}$	s	d	$\bar{x}$	s	d	$\bar{x}$	s	d
T_3 nmol.l ⁻¹	1	0,97	0,58	0,22	1,30	0,18	0,25	1,62	0,38	0,15	1,53	0,26	0,08
	2	0,75	0,45		1,05	0,22		1,47	0,26		1,45	0,26	
T_4 nmol.l ⁻¹	1	47,30	6,60	7,70	55,30	4,70	3,20	60,70	7,20	4,40	56,90	3,80	-5,90 ⁺
	2	39,60	12,20		52,10	10,30		56,30	4,30		62,80	5,10	
cAMP nmol.l ⁻¹	1	4,70	0,70	0,50	5,40	0,90	0,50	6,00	0,70	0,30	5,90	0,80	0,10
	2	4,20	0,40		4,90	0,80		5,70	0,40		5,80	1,10	
INS μIU.ml ⁻¹	1	8,40	3,80	-0,20	8,30	1,30	-3,90	11,00	6,30	1,50	12,50	5,60	-3,60
	2	8,60	7,30		12,20	4,20		9,50	3,60		16,10	4,50	
TEST nmol.l ⁻¹	1							5,10	1,60	1,90 ⁺	5,70	1,20	3,40 ⁺⁺
	2							3,20	1,10		2,30	0,50	

T_3 = trijódtyronín

T_4 = tyroxín

1. skupina = kontrolná $n = 6$

2. skupina = Ralgro $n = 6$

cAMP = cyklický adenosínmonofosfát

INS = inzulín

TEST = testosterón

⁺ $P < 0,05$

⁺⁺ $P < 0,01$

sledovalo 13 dní po druhej implantácii. Zvýšenie u druhej skupiny bolo v porovnaní s kontrolnou skupinou (č. 1) štatisticky preukazné. V ďalších dvoch sledovaniach, ktoré boli za 9 a 119 dní po tretej implantácii, boli rozdiely medzi skupinami minimálne. V prípade tyroxínu neboli evidované žiadne signifikantné diferencie. V prvých troch sledovaniach bola vždy koncentrácia tyroxínu nižšia u druhej a tretej skupiny. Najväčšie rozdiely boli 24 dní po prvej implantácii — 59,8 nmol.l⁻¹, 47,9 nmol.l⁻¹ a 50,6 nmol.l⁻¹. V štvrtom sledovaní sa hladiny tyroxínu skupín so stimuláciou rastu dostali mierne nad úroveň kontrolnej skupiny. V koncentrácii cyklického adenozinmonofosfátu došlo k vysoko-signifikantnému zníženiu u druhej a tretej skupiny pri poslednom sledovaní 119 dní po aplikácii Ralgra (11,6 nmol.l⁻¹, 7,9 nmol.l⁻¹ a 8,7 nmol.l⁻¹). Hladina inzulínu bola s výnimkou štvrtého sledovania vždy vyššia u druhej a tretej skupiny. Rozdiely však boli štatisticky nepreukazné.

DRUHÝ EXPERIMENT

Z tab. II vidno, že koncentrácie trijódtyronínu boli u druhej skupiny (aplikácia Ralgra) mierne, štatisticky nepreukazne nižšie v porovnaní s kontrolnou skupinou. Hladiny tyroxínu boli podobne ako v prvom experimente nižšie u pokusnej skupiny (č. 2). K zmene došlo až pri štvrtom sledovaní vo veku 14,3 mesiacov (16 dní po piatej implantácii), kedy bol obsah hormónu u býkov ošetrovaných stimulátorom signifikantne vyšší — 62,8 nmol.l⁻¹ oproti 56,9 nmol.l⁻¹. V obsahu cyklického adenozinmonofosfátu neboli medzi skupinami výrazné zmeny. Ani v koncentrácii inzulínu sa nevypočítala signifikantná diferencia, ale trend zvýšenia u pokusnej skupiny je zreteľnejší ako v prvom experimente. Štatisticky výrazný rozdiel v hodnotách testosterónu bol evidovaný pri treťom sledovaní, ktoré nasledovalo 40 dní po štvrtej aplikácii Ralgra — 5,1 nmol.l⁻¹ u kontrolnej skupiny a 3,2 nmol.l⁻¹ u pokusnej. Pri ďalšom sledovaní 16 dní po piatej implantácii sa rozdiel ešte zvýraznil na 3,4^{xx} nmol.l⁻¹ (5,7 nmol.l⁻¹ a 2,3 nmol.l⁻¹).

DISKUSIA

V reakcii štítnej žľazy na aplikáciu Ralgra sme zistili väčšinou nepreukazné zmeny. Signifikantná elevácia u pokusných skupín sa vyskytla u trijódtyronínu v ôsmom mesiaci veku a u tyroxínu na konci výkrmu vo veku 14,3 mesiacov. Naše výsledky jednoznačne nepotvrdzujú zistenia, ktoré uviedli Verde a Trenkel (1987) a Doornenbal a i. (1987). Ako najvhodnejšie ukazovatele pre sledovanie vplyvu stimulácie rastu na hormonálny metabolizmus sa ukázali inzulín a testosterón. Zvýšená hladina inzulínu, ktorý je v úzkej väzbe so somatotropínom, bola v súlade s výsledkami, ktoré popísali Gray a i. (1986) a Williams a i. (1984). Koncentrácia testosterónu sa stanovovala len v posledných dvoch pozorovaniach druhého experimentu a zreteľne sa tu dokázal inhibičný vplyv fytoestrogénu zeranol. Rovnaké výsledky s utlmením tvorby a sekrécie samčieho pohlavného hormónu dokázali aj Fabry a i. (1984) a Gray a i. (1986).

Literatúra

- DARGEL, D.: Zyklisches Adenosin-3,5-monophosphat im Blutplasma als Index hormonaler Regulationen. *Mh. Veter. Med.*, 35, 1980, s. 112-118.
- DOORNENBAL, H. — TONG, A. K. W. — NEWMAN, J. A. — MURRAY, N. L. — MEARS, G. J.: Blood and serum components and organ weights in steers, bulls and zeranol-implanted bulls. *J. anim. Sci.*, 64, 1987, s. 489-496.
- FABRY, J. — RENAUVILLE, R. — BURNY, A.: Influence of anabolic treatments on luteinizing hormone and testosterone secretion in bulls. *Anim. Prod.*, 39, 1984, s. 345-354.
- GRAY, D. G. — UNRUH, J. A. — DIKEMAN, M. E. — STEVENSON, J. S.: Implanting young bulls with zeranol from birth to four slaughter ages: III. Growth performance and endocrine aspects. *J. anim. Sci.*, 63, 1986, s. 747-756.
- ROCHE, J. F. — QUIRKE, S. F.: The use of growth promoters in beef and sheep production. *Irish veter. J.*, 38, 1984, s. 126-131.
- SPENCER, G. S. G.: Hormonal systems regulation growth. *Livestock Prod. Sci.*, 12, 1985, s. 31-46.
- TRENKLE, A.: Hormonal and nutritional interrelationships and their effects on skeletal muscle. *J. anim. Sci.*, 38, 1974, s. 1142-1147.
- VERDE, S. L. — TRENKLE, A.: Concentrations of hormones in plasma from cattle with different growth potentials. *J. anim. Sci.*, 64, 1987, s. 426-432.
- WILLIAMS, J. E. — GREBING, S. E. — BOWMAN, D. K. — MOLLETT, T. A. — MILLER, S. J.: Growth, body composition and plasma hormone parameters relative to frame size and implant in cattle. *J. anim. Sci.*, 59, 1984, Suppl. 1, s. 214.

Došlo dňa 17. 6. 1988

БРОУЧЕК, Я. — КИЦА, Я. — СОММЕР, А. — САКАЧ, Ю. (Научно-исследовательский институт животноводства, Нитра): *Гормональная реакция быков по отношению применения зеранола и руменсина*. *Veter. Med. (Praha)*, 34, 1989 (5) : 267-273.

Целью работы было установить влияние ростовых стимуляторов ралгро зеранол и руменсин на изменения некоторых гормонов в крови откормочных быков. В первом опыте изучали 21 быков, которых разделили на три группы. Первая группа — контрольная группа, второй подавали ралгро (3X) и третьей ралгро и руменсин. Во втором эксперименте использовали 12 быков. Опытной группе за период откорма применяли пятикратно ралгро. В уровнях трийотиронина и циклического аденозинмонофосфата между группами устанавливали чередующиеся изменения, в основном не доказуемые. Тироксин был почти во всех наблюдениях первого и второго эксперимента у животных стимулированных препаратом ралгро пониженным. Доказуемое повышение установили в возрасте 14,3 месяцев во втором эксперименте (62,8 нмоль/л в противоположность 56,9 нмоль/л). В обоих экспериментах регистрировали одинаковое направление в содержании инсулина — в семи из общего количества восемь наблюдений были статистически недоказуемо более высокие значения животных обработанных препаратом ралгро. Самые высокие разницы были в возрасте 11,1 и 14,3 месяцев во втором эксперименте (3,9 μ IU/мл и 3,6 μ IU/мл). Сигнификантные разницы устанавливали в случае концентрации тестостерона во втором эксперименте. В возрасте 13,7 и 14,3 месяцев было содержание у опытной группы на 1,9+ нмоль/л и 3,4++ нмоль/л более низкое.

стимуляция роста; ралгро; тироксин; инсулин; тестостерон

BROUČEK, J. — KICA, J. — SOMMER, A. — SZAKÁCS, J. (Research Institute of Animal Production, Nitra): *Hormonal Responses of Bulls to Zeranol and Rumensin Implantation*. *Veter. Med. (Praha)*, 34, 1989 (5) : 267-273.

The objective of the study was to investigate the influence of the growth stimulators Ralgro zeranol and Rumensin on changes in concentrations of certain hormones in the blood of beef bulls. In the first experiment 21 bulls were investigated which were divided into three groups. The first group was control, the second was administered the Ralgro stimulator (3X) and the third the Ralgro and Rumensin stimulators. In the second experiment there were 12 bulls. The animals

in the test group were implanted Ralgro five times during the fattening period. Alternate changes, mostly insignificant, were recorded between the groups in the concentration of triiodothyronine and cyclic adenosine phosphate. Thyroxine concentrations were reduced during all investigations of the first and second experiments in the animals stimulated by the Ralgro preparation. A significant increase was recorded in the bulls at the age of 14.3 months in the second experiment (62.8 nmol.l^{-1} , in comparison with 56.9 nmol.l^{-1}). In both experiments an identical trend of insulin content was observed — in seven out of the total number of eight observations the animals treated with the Ralgro preparation had statistically insignificantly higher values. The largest differences were recorded at the age of 11.1 and 14.3 months in the second experiment ($3.9 \mu\text{IU.ml}^{-1}$ and $3.6 \mu\text{IU.ml}^{-1}$). Significant differences were observed in testosterone concentrations in the second experiment. At the age of 13.7 and 14.3 months the testosterone contents in the bulls of the test group were lower by $1.9^+ \text{ nmol.l}^{-1}$ and $3.4^{++} \text{ nmol.l}^{-1}$, respectively.

growth stimulation; Ralgro; thyroxine; insulin; testosterone

BROUČEK, J. — KICA, J. — SOMMER, A. — SZAKÁCS, J. (Forschungsinstitut für Tierproduktion, Nitra): *Hormonreaktion bei Bullen auf Verabreichung von Zeranol und Rumensin*. Veter. Med. (Praha), 34, 1989 (5) : 267-273.

Das Ziel der Arbeit war, die Einwirkung der Wachstumsstimulatoren Ralgro, Zeranol und Rumensin auf Veränderungen einiger Hormone im Blut von Mastbullen zu ermitteln. In das erste Experiment waren 21 Bullen einbezogen, die in drei Gruppen eingeteilt waren. Die erste Gruppe war die Kontrollgruppe, in der zweiten Gruppe wurde Ralgro (3X) und in der dritten Ralgro und Rumensin appliziert. Im zweiten Versuch hatten wir 12 Bullen eingesetzt. Der Versuchsgruppe wurde fünfmal während der Mastperiode Ralgro implantiert. In den Niveaus des Trijodothyronins und des zyklischen Adenosinmonophosphats waren zwischen den Gruppen abwechselnde, überwiegend unsignifikante Veränderungen zu verzeichnen. Das Thyroxin war bei nahezu allen Untersuchungen des ersten und zweiten Versuchs bei den mit Ralgro stimulierten Tieren herabgesetzt. Eine signifikante Erhöhung wurde im zweiten Experiment bei Tieren im Alter von 14,3 Monaten festgestellt ($62,8 \text{ nmol.l}^{-1}$ gegenüber $56,9 \text{ nmol.l}^{-1}$). In beiden Experimenten verzeichneten wir denselben Trend des Insulingehalts — in sieben von der Gesamtzahl der acht Beobachtungen gab es bei den mit dem Präparat Ralgro behandelten Tieren statistisch unsignifikant höhere Werte. Die größten Unterschiede waren im Alter von 11,1 und 14,3 Monaten im zweiten Experiment ($3,9 \mu\text{IU.ml}^{-1}$ und $3,6 \mu\text{IU.ml}^{-1}$). Signifikante Unterschiede wurden in bezug auf die Testosteronkonzentration im zweiten Versuch verzeichnet. Im Alter von 13,7 und 14,3 Monaten lag der Gehalt in der Versuchsgruppe um $1,9^+ \text{ nmol.l}^{-1}$ bzw. $3,4^{++} \text{ nmol.l}^{-1}$ niedriger.

Wachstumsstimulation; Ralgro; Thyroxin; Insulin; Testosteron

Adresa autorov:

Ing. Jan Brouček, CSc., ing. Ján Kica, CSc., prof. ing. Alexander Sommer, DrSc., MVDr. Juraj Szakács, Výskumný ústav živočíšnej výroby, Hlohovská 2, 949 92 Nitra

OCENĚNÍ MLADÝM VÝZKUMNÍKŮM

V VIII. ročníku celostátní soutěže o nejlepší vědecké práce udělila Československá akademie zemědělská a ústřední výbor Socialistického svazu mládeže deset společných cen mladým výzkumníkům za práce, které se umístily na prvním místě, ocenila i práce na druhém a třetím místě. O ocenění se ucházelo 130 mladých výzkumníků z celé ČSSR v deseti tematických okruzích.

Z oblasti veterinárního lékařství převzal za první místo Plaketu ČSAZ a ÚV SSM MVDr. Ivo Pavlík z Výzkumného ústavu veterinárního lékařství v Brně za práci *Problematika trichomonád v chovech hus*.

Stříbrnou medaili ÚV SSM za rozvoj vědeckotechnické tvořivosti mládeže za druhé místo získali MVDr. Pavel Smejkal, RNDr. Vlasta Hipíková, ing. Štefan Vilček, CSc., z Ústavu experimentální veterinární medicíny v Košicích za práci *Kontrola funkční kvality exogenních mRNA mikroinjekcí do žabích oocytů*.

Bronzovou medaili ÚV SSM za rozvoj vědeckotechnické tvořivosti mládeže převzali MVDr. Josef Brychta, ing. Jan Svobodník, RNDr. František Kredl (Státní veterinární ústav Jihlava), MVDr. Ladislav Steinhäuser, CSc., MVDr. Igor Jurásek (Vysoká škola zemědělská Brno) za práci *Rezidua chlórovaných pesticidů a PCB ve vybraných tkáňích matek a jejich plodů u skotu* a ing. Stanislav Labaj (Vysoká škola veterinární Košice) za práci *Ekonomická efektivnost přenosů embryí v Agrokombinátu Budkovce*.

něm)

IMUNOLOGICKÉ KOŽNÍ TESTY U SELAT

J. Raszyk, J. Pillich

RASZYK, J. — PILLICH, J. (Výzkumný ústav veterinárního lékařství, Brno; Biofyzikální ústav ČSAV, Brno): *Imunologické kožní testy u selat*. Veter. Med. (Praha), 34, 1989 (5) : 275-286.

Imunologické kožní testy byly provedeny u 213 odstavených selat o hmotnosti těla 5 až 30 kg. Časná přecitlivělost byla hodnocena diagnostickými alergeny (plísňový, kvasinkový a bakteriální), pozdní přecitlivělost stafylokokovým lyzátem, buněčná imunita (testy *de novo*) fytohemaglutininem a jako anamnestické antigeny byly použity tuberkulin, toxoplazmin, kandidový a tetanický antigen. Uvedené látky byly aplikovány intradermálně do hřbetní části těla selat. K hodnocení nespecifické zánětlivé odpovědi byl použit laurylsulfát sodný, aplikovaný epikutánně. Průměrná reakce na diagnostické alergeny (50 PNU v 0,05 ml) posuzovaná za 20 minut byla charakterizována jako lehká kožní reakce (pupen o velikosti 3–5 mm); u 22 % selat byla zjištěna střední kožní reakce (pupen větší než 6 mm) na diagnostický bakteriální alergen (*Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*). Po intradermální aplikaci histaminu (50 µg v 0,05 ml) měl pupen za 20 minut průměrnou velikost 13 mm. Po aplikaci 0,1 ml stafylokokového lyzátu (STAVA) byla za 24 hodiny zjištěna indurace přes 10 mm u 13 % selat. Po aplikaci fytohemaglutininu (100 µg v 0,1 ml) byla zjištěna indurace větší než 5 mm za 24 hodiny u 93 % selat a za 48 hodin u 59 % selat. Anamnestické antigeny byly aplikovány v objemu 0,1 ml. Za 48 hodin po aplikaci nebyla zjištěna hmatná indurace: u 91 % selat po aplikaci tuberkulinu (2 TU PPD v 0,1 ml); u 75 % selat po toxoplazminu (podle PNY 30-33-74); u 98 % selat po kandidovém antigenu (100 PNU v 0,1 ml) a u 86 % selat po tetanickém antigenu (0,03 Lf v 0,1 ml). Epikutánně aplikovaný laurylsulfát sodný (v 2,5 % a 5,0 % koncentraci) nezpůsobil u selat za 24 hodiny kožní zánětlivou reakci (erytém či induraci). U selat se projevuje jako nejnadějnější využití fytohemaglutininu k posouzení buněčné imunity, stafylokokového lyzátu k hodnocení pozdní přecitlivělosti na stafylokoky a histaminu k získání informací o sklonu (dispozici) selat k alergickým chorobám.

časná a pozdní přecitlivělost; diagnostické alergeny; stafylokokový lyzát; buněčná imunita; anamnestické antigeny; fytohemaglutinin; nespecifická zánětlivá reakce; laurylsulfát sodný; histamin

Kožní testy představují dostupné postupy vhodné k získání informací o imunologické vybavenosti (reaktivitě) jedince či skupiny. Informace o kožních reakcích v místě aplikace testované látky získáváme přehled o funkčním stavu aferentní, centrální i eferentní větve imunitní odpovědi (Richter, 1979).

V humánní medicíně se využití kožních testů uplatňuje především v alergologii (diagnostika časně i pozdní přecitlivělosti), v imunologii (testování nespecifické zánětlivé odpovědi, testování buněčné imunity *de novo*, testování anamnestické odpovědi), v infektoologii a parazitologii (diagnostika některých přenosných onemocnění), v dermatologii

(diagnostika kontaktní alergické dermatitidy), v onkologii (hodnocení prognózy onemocnění i účinnosti terapie) a v pracovním lékařství (hodnocení míry rizika u osob vystavených účinkům profesionálních škodlivin) (Bates aj., 1979; Beneš aj., 1986; Richter, 1986).

U prasat se kožní testy k hodnocení jejich imunologické reaktivity doposud využívají zcela ojediněle (kromě tuberkulizačních zkoušek k diagnostice tuberkulózy). Dvořák a Věžník (1966) použili intradermální test s antiveprovým sérem ke stanovení stupně reaktivnosti organismu selat. Blecha aj., (1983, 1985) a Mann a Hargis (1985) posuzovali buněčnou imunitu selat kožním testem s fytohemaglutininem.

Účelem práce bylo zhodnotit možnost, jak využít imunologické kožní testy u selat k posouzení časně a pozdní přecitlivělosti, buňkami zprostředkované imunity (anamnestické testy, testy *de novo*) a nespecifické zánětlivé odpovědi.

MATERIÁL A METODY

Imunologické kožní testy jsme dělali u 213 odstavených selat (90 prasniček a 123 kanečků), kříženců plemen bílé ušlechtilé (BU) X landrase (L). Hmotnost těla se pohybovala od 5 kg do 30 kg a věk selat od 30 do 90 dnů. Selata byla chována v experimentálních stájích Výzkumného ústavu veterinárního lékařství v Brně ve vyvýšených celoroštových kotcích. Byla krmena komerčními krmnými směsí pro prasata (ČOS₂; A₁) v sypkém stavu. Přístup k vodě (samočinné napáječky) i ke krmným směsím (samokrmítka) měla selata *ad libitum*. V jednom kotci (1,7 m X X 1,3 m) byla umístěna tři selata.

Při provádění a posuzování kožních testů byla selata fixována provazem za horní čelist za asistence jednoho ošetřovatele. Imunologické kožní testy byly umístěny na hřbetní části těla selat v úrovni hrudních obratlů. V místě aplikace byly nejdříve ostříhány štětiny elektrickým strojkem, potom bylo aplikační místo namydleno holicím mýdlem a vyholeno holicím strojkem se žiletkou. Stříhání a holení bylo šetrné a pečlivé, aby na kůži nevznikly škrábance a oděrky.

K intradermální aplikaci byly používány injekční stříkačky k intradermální aplikaci o objemu 1 ml, s dělením válce po 0,05 ml (Chirana, n. p., Piešťany), a injekční jehly používané k tuberkulinaci prasat, délka hrotu jehly 4 mm (Chirana, závod Stará Turá). Při správně provedené intradermální injekci se selatům okamžitě po podání vytvoří v místě aplikace anemický pupen; po podání objemu 0,05 ml činí velikost pupenu 4 až 6 mm a po vpravení objemu 0,1 ml je 6 až 8 mm velký. Anemický pupen vymizí do jedné až dvou minut po intradermální injekci.

K hodnocení časně přecitlivělosti byly u 45 selat použity diagnostické alergeny připravené podle našeho požadavku v Ústavu sér a očkovacích látek, o. p., Praha. Byly to: diagnostický alergen plísňový (směs plísňí *Aspergillus flavus*, *Aspergillus fumigatus*, *Arpergillus niger*, *Penicillium* sp., *Rhizopus* sp., *Mucor* sp.); diagnostický alergen kvasinkový (směs kvasinek *Candida albicans*, *Candida tropicalis*, *Candida crusei*) a diagnostický alergen bakteriální (směs bakterií *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*). Všechny tři diagnostické alergeny byly připraveny v koncentraci 1000 PNU .ml⁻¹ (1 PNU = 0,00001 mg proteinového dusíku v 1 ml extraktu). Jako pozitivní kontrola byl použit roztok histaminu (Histamin Spofa 10/00 *ad diagnosim*), který obsahuje 1 mg *histaminium dichloratum* v 1 ml. Jako negativní kontrola byla použita ředící tekutina pro diagnostické alergeny, připravená v Ústavu sér a očkovacích látek v Praze. Diagnostické alergeny, pozitivní i negativní kontrola byly aplikovány intradermálně v objemu 0,05 ml (v 0,05 ml diagnostického alergenu bylo 50 PNU; v 0,05 ml roztoku histaminu bylo 50 µg účinné látky). Místa aplikace jednotlivých látek byla od sebe vzdálena 5 cm a byla předem označena tečkou 10% vodným roztokem genciánové violeti. Kožní reakce se posuzovala za 20 minut po intradermální aplikaci. Pupen do velikosti 3 mm se hodnotil jako negativní reakce, pupen o velikosti 3 až 5 mm jako reakce lehká (+), o velikosti 6 až 10 mm jako reakce střední (++), o velikosti 11 až 15 mm jako reakce silná (+++), o velikosti nad 15 mm jako reakce velmi silná (++++) . Při vlastním hodnocení u jednotlivých selat se postupovalo tak, že případná kožní reakce

na ředící tekutinu pro diagnostické alergený (negativní kontrola) se odečetla od reakce na histamin (pozitivní kontrola) i od reakce na diagnostické alergený.

K hodnocení pozdní přecitlivělosti na stafylokoky byl u 76 selat použit stafylokokový lyzát (STAVA, patentově chráněný přípravek Biofyzikálního ústavu Československé akademie věd v Brně), který byl aplikován intradermálně v objemu 0,1 ml. Kožní reakce se posuzovala za 24 hodiny. Jako pozitivní pozdní přecitlivělost se hodnotila indurace přes 10 mm. Stafylokokový lyzát byl aplikován u selat současně s fytohemaglutininem a fyziologickým roztokem (viz hodnocení imunity zprostředkované buňkami — testy *de novo*). Místa aplikace jednotlivých látek byla od sebe vzdálena 5 cm.

K hodnocení imunity zprostředkované buňkami (anamnestické kožní testy) byl u 44 selat použit komerční humánní set Imunoskintest SEVAC (Ústav sér a očkovacích látek, o. p., Praha), ze kterého byly ověřovány čtyři antigeny v těchto koncentracích: tuberkulin (20 TU PPD, ml⁻¹), toxoplasmin (podle PNY 30-33-74), kandidový antigen (1000 PNU, ml⁻¹) a tetanický antigen (0,3 Lf, ml⁻¹). Použité antigeny byly aplikovány intradermálně v objemu 0,1 ml. Vzdálenost mezi jednotlivými vpichy byla 5 cm. Kožní reakce se odečetla za 48 hodin. Měřila se velikost indurace. Hmatná indurace se hodnotila jako pozitivní výsledek testu takto: indurace o velikosti 6 až 10 mm (+), 11 až 15 mm (++), 16 až 20 mm (+++) a nad 20 mm (+++).

K hodnocení imunity zprostředkované buňkami (testy *de novo*) byl u 104 selat použit fytohemaglutinin (Phytohaemagglutinin HA 15, reagent grade, Wellcome). Z toho u 76 selat byl fytohemaglutinin aplikován společně se stafylokokovým lyzátem (viz hodnocení pozdní přecitlivělosti na stafylokoky). Fytohemaglutinin (PHA) byl aplikován intradermálně v množství 100 µg PHA v 0,1 ml fyziologického roztoku. Jako negativní kontrola byl intradermálně aplikován fyziologický roztok v objemu 0,1 ml. Vzdálenost mezi jednotlivými vpichy byla 5 cm. Kožní reakce se posuzovala za 24 a 48 hodin po intradermální aplikaci. Jako pozitivní kožní reakce se hodnotila indurace větší než 5 mm. Případná kožní reakce na fyziologický roztok by se od kožní reakce na fytohemaglutinin odečetla.

U všech uvedených imunologických kožních testů se měřila velikost pupenu či indurace ve dvou na sebe kolmých směrech a z naměřených hodnot se stanovil průměr. K měření se používal posuvný kutimetr se stupnicí dělenou po 1 mm. Pro zachycení okraje pupenu či indurace se osvědčilo použití kuličkového pera (Centropen 1911; 0,5 mm). Tah perem směřoval od periferie ke zduření a tam, kde byl zaznamenán odpor, se označil okraj zduření.

K hodnocení nespecifické zánětlivé odpovědi byl u 20 selat použit laurylsulfát sodný (Lachema, Brno), který byl aplikován epikutánně. Byl ověřován 2,5% a 5,0% roztok laurylsulfátu sodného ve fyziologickém roztoku. Aplikací pole bylo připraveno stejně jako při intradermálních testech. Tři kapky 2,5% či 5,0% roztoku laurylsulfátu sodného byly naneseny na vlhkou komůrku Testoplastu Spofa (náplast na kožní testy, 5 cm X 5 cm, Chemopharma, n. p., Ústí nad Labem), až se rozprostřely po plátenku. Takto připravený a odstříhnutý Testoplast (5 cm X 5 cm) byl pečlivě přilepen na kůži selat. Pro správný průběh tohoto testu je nezbytné dodržet podmínku kompletní okluze po celou dobu testování. Testoplast se z kůže sejmul za 24 hodin a další 24 hodiny se sledovala kožní reakce. Vytvoření erytému či indurace se hodnotí jako pozitivní kožní reakce, intaktní kůže je reakcí negativní.

Souhrnné výsledky kožních reakcí jsou uvedeny v milimetrech (průměr ± směrodatná odchylka).

VÝSLEDKY

HODNOCENÍ ČASNÉ PŘECITLIVĚLOSTI (ZA 20 MINUT PO INTRADERMÁLNÍ APLIKACI)

Průměrná velikost pupenu činila: po aplikaci histaminu (pozitivní kontrola) $12,6 \pm 2,3$ mm; po aplikaci ředící tekutiny pro diagnostické alergený (negativní kontrola) $2,8 \pm 1,8$ mm; po aplikaci diagnostického alergenu plísňového $6,1 \pm 2,0$ mm; po aplikaci diagnostického alergenu kvasinkového $6,5 \pm 2,3$ mm a po aplikaci diagnostického alergenu bakteriálního $7,2 \pm 1,9$ mm.

Po odečtení kožní reakce na negativní kontrolu lze průměrnou reakci na histamin hodnotit jako střední (9,8 mm), průměrnou reakci na diagnostický alergen plísňový (3,3 mm), na diagnostický alergen kvasinkový (3,7 mm) a na diagnostický alergen bakteriální (4,4 mm) jako reakci lehkou (pupen o velikosti 3—5 mm).

Střední reakce (pupen větší než 6 mm po odečtení negativní kontroly) byla zjištěna na diagnostický alergen bakteriální u deseti selat (22,2 %), na diagnostický alergen kvasinkový u čtyř selat (8,9 %) a na diagnostický alergen plísňový u tří selat (6,7 %). Reakce na diagnostické alergeny silná a velmi silná nebyla zaznamenána ani u jednoho selete.

HODNOCENÍ POZDNÍ PŘECITLIVĚLOSTI NA STAFYLOKOKY (ZA 24 HODINY PO INTRADERMÁLNÍ APLIKACI)

Za 24 hodiny po aplikaci stafylokokového lyzátu byla pozitivní reakce (indurace přes 10 mm) zjištěna u deseti selat (13,1 %). Průměrná kožní reakce na stafylokokový lyzát za 24 hodiny činila $8,5 \pm 2,0$ mm. Po aplikaci fyziologického roztoku nebyla za 24 hodiny zaznamenatelná kožní reakce zjištěna.

HODNOCENÍ IMUNITY ZPROSTŘEDKOVANÉ BUŇKAMI — ANAMNESTICKÉ KOŽNÍ TESTY (ZA 48 HODIN PO INTRADERMÁLNÍ APLIKACI)

Indurace o velikosti 6 až 10 mm byla zjištěna po aplikaci tuberkulinu u dvou selat (4,5 %) a po aplikaci toxoplasminu u jednoho selete (2,3 %). Zaznamenatelné zduření do 5 mm bylo zjištěno po aplikaci tuberkulinu u dvou selat (4,5 %), po aplikaci toxoplasminu u deseti selat (22,7 %), po aplikaci kandidového antigenu u jednoho selete (2,3 %) a po aplikaci tetanického antigenu u šesti selat (13,6 %). Na kůži nebylo zjištěno zaznamenatelné zduření u 91 % selat po aplikaci tuberkulinu, u 75 % selat po toxoplasminu, u 97,7 % selat po kandidovém antigenu a u 86,4 % selat po tetanickém antigenu.

HODNOCENÍ IMUNITY ZPROSTŘEDKOVANÉ BUŇKAMI — TESTY DE NOVO (ZA 24 A 48 HODIN PO INTRADERMÁLNÍ APLIKACI)

Za 24 hodiny byla zjištěna pozitivní reakce na PHA (indurace přes 5 mm) u 97 selat (93,2 %), u sedmi selat byla zjištěna negativní reakce (6,7 %). Za 48 hodin byla zjištěna pozitivní reakce na PHA u 61 selat (58,6 %), u 43 selat byla zjištěna reakce negativní (41,4 %).

Za 24 hodiny po aplikaci PHA byla průměrná indurace $8,4 \pm 2,4$ mm, za 48 hodin $5,7 \pm 2,8$ mm. Reakce prasníček a kanečků na PHA se neodlišovaly (prasníčky: $8,4 \pm 2,5$ mm za 24 hodiny a $6,0 \pm 3,1$ mm za 48 hodin; kanečci: $8,4 \pm 2,4$ mm za 24 hodiny a $5,9 \pm 2,6$ mm za 48 hodin).

HODNOCENÍ NESPECIFICKÉ ZÁNĚTLIVÉ ODPOVĚDI (ZA 24 AŽ 48 HODIN PO EPIKUTÁNNÍ APLIKACI)

Za 24 až 48 hodin po epikutánní aplikaci 2,5% a 5,0% roztoku laurylsulfátu sodného nebyl na kůži selat zjištěn erytém ani indurace.

Alergická reakce nevzniká hned při prvním styku jedince s alergenem. Většinou organismus po určité době na alergen nereaguje (refrakterní období). Ke vzniku protilátek po styku jedince s alergenem je třeba doby pět až šest dní (doba senzibilizace). Doba potřebná ke vzniku alergické reakce u jedince již senzibilizovaného (reakční doba) trvá u časně přecitlivělosti několik sekund až minut (Štáfa a Jirásek, 1982).

Ke vzniku přecitlivělosti je třeba určité individuální predispozice. U lidí hraje roli hlavní histokompatibilní systém (HLA). Kombinace HLA A1B8 a HLA A1B8DW3 bývá spojena s vyšší imunologickou odpovědí (hyperreaktivitou), a tím i se schopností zvýšené tvorby IgE (Petrů a Honzová, 1988a). V současné době je všeobecně uznávána tato představa o vzniku časně přecitlivělosti (Beneš aj., 1986); Alergen, který prostoupí epitelem, spustí aktivaci a proliferaci lymfocytu B s vhodným klonotypovým receptorem. Ten dosáhne spádové mízní uzliny, kde produkuje protilátky třídy IgE. Molekuly IgE se navážou na povrchové receptory žírných buněk (či bazofilů), které jsou krevním oběhem dopraveny do cílového orgánu. Jestliže se na senzibilizovanou žírnou buňku naváže v cílovém orgánu vyvolávající alergen, dojde k její degranulaci a k uvolnění mediátorů.

Pupen, který se vytvoří na kůži přecitlivělých (senzibilizovaných) jedinců po intradermální aplikaci diagnostického alergenu, vzniká jako důsledek uvolnění vasoaktivních mediátorů v místě vpichu (Petrů a Honzová, 1988b).

Na vzniku časně přecitlivělosti u lidí se často uplatňují alergeny, které jsou vdechovány (inhalační alergie). Ve stájovém prachu odebíraném ve velkovýkrmnách prasat jsme zjišťovali plísně *Penicillium* sp. (68,7 % vyšetřovaných vzorků prachu), *Mucor* sp. a *Aspergillus fumigatus* (50 %), *Rhizopus* sp. (18,7 %) (Raszyk aj., 1986a). Oppl (1980) prokázal v ovzduší velkovýkrmn prasat plíseň *Aspergillus flavus* produkující aflatoxin. Zvýšené hladiny protilátek proti antigenům frakcím *Candida albicans* i proti plísním *Aspergillus fumigatus* a *Aspergillus niger* byly zjištěny u ošetřovatelů prasat ve velkochovech (Šach aj., 1979). *Staphylococcus aureus* byl zjištěn ve 12,5 % vzorků stájového prachu odebraných ve velkovýkrmnách prasat (Raszyk aj., 1986a). Morgan aj. (1987) sledovali u prasat od narození do věku 26 týdnů protilátky v krevním séru proti antigenům stájového prachu. Překvapivé bylo jejich zjištění, že s postupujícím věkem prasat se hladiny sérových protilátek proti prachovým antigenům snižovaly.

Alergických chorob u lidí stále přibývá. V současné době postihují alergické choroby 15 až 17 % lidské populace v Československu (Hruškovič aj., 1988). O skutečném výskytu alergických onemocnění u prasat máme doposud velmi málo vědomostí. Pokud bychom se přidrželi rozdělení stavů přecitlivělosti (I. až IV. či V. typ), které je všeobecně přijímáno v humánní alergologii (Beneš aj., 1986), bylo by i u prasat možné zařadit určité choroby mezi alergické stavy. Hemolytickou žloutenku novorozených selat (C14) a trombocytopenickou purpuru selat lze zařadit do II. typu přecitlivělosti (cytotoxické poškození). Sérovou nemoc prasat lze začlenit do III. typu přecitlivělosti (imunokomplexové choroby). Sérová nemoc se u prasat vyskytovala v dřívějším období, kdy

se prováděla sérovakcinace proti července (Černohous, 1966). Kontaktní alergické dermatitidy, které se u prasat vyskytují (Bilski a Thomson, 1984; Becker a Gross, 1987), lze zahrnout do IV. typu přecitlivělosti (produkce lymfokinů — reakce pozdního typu). Pohankovou vyrážku prasat (fagopyrismus) a fotosensibilizaci prasat způsobenou fenothiazinem (Swales aj., 1942) lze zařadit mezi exogenní fotoalergické fotodermatózy (Šťáva a Jirásek, 1982). Existence chorob I. typu přecitlivělosti (anafylaxe, atopie) se u prasat předpokládá, doposud však nebyly exaktně doloženy. U zvířat byly protilátky třídy IgE prokázány u králíků, psů a skotu. U prasat a ovcí byly popsány anafylaktické protilátky (Guérin — Faublé a Eiller, 1987). Funkce anafylaktických protilátek u savců doposud není přesně specifikována. Výskyt V. typu přecitlivělosti (antireceptorová imunologická reakce) lze rovněž předpokládat i u prasat.

V diagnostických alergenech námi použitých jsou obsaženy alergie, které se v našich velkochovech prasat vyskytují a které prokazatelně vyvolávají stavy časné přecitlivělosti u predisponovaných osob (Beněš aj., 1986). Kožní reakce selat na diagnostický alergen plísňový i kvasinkový byla velmi mírná. Poněkud výraznější byla na diagnostický alergen bakteriální (*Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*), na který se střední reakce vyskytla u 22 % selat. Nelze však vyloučit, že na konci výkrmu prasat (který v průměru trvá 145—150 dnů), kdy jsou prasata vystavena působení inhalačních alergenů mnohem delší dobu, by mohly být kožní reakce výraznější. Naše dosavadní experimenty nepřinesly jednoznačné důkazy, že se stavy časné přecitlivělosti (I. typ) u selat vyskytují. Pouze naznačují, že by se u prasat mohly vyskytovat a že do budoucna je třeba i této problematice věnovat pozornost.

Mechanismus vzniku přecitlivělosti pozdního typu lze stručně charakterizovat takto: Makrofágy zachytí a zpracují antigen (alergen). T-lymfocyty po setkání s antigenem začnou secernovat lymfokiny, které ovlivňují různé buňky podílející se na vzniku pozdní přecitlivělosti (Strejček a Lokaj, 1985). V kůži se na imunitě zprostředkované buňkami podílejí tři druhy buněk: Langerhansovy buňky, které zachycují a předkládají antigen, keratinocyty, které secernují imunoregulační cytokiny, a epidermotropní T lymfocyty. Tyto buňky spolu s regionálními mízními uzlinami vytvářejí integrovaný systém lymfatické tkáně spojené s kůží (Breathnach a Katz, 1986).

Stafylokokový lyzát (STAVA) obsahuje komplex termolabilních a termostabilních bakteriálních antigenů, extracelulární a hlavně intracelulární enzymy a aktivní fágové částice. Základním médiem je tryptonová půda (Výmola aj., 1983). Matuška aj. (1987) použili stafylokokový lyzát (STAVA) k posouzení časné a pozdní přecitlivělosti na stafylokoky u dětí s bronchiálním astmatem. Časnou přecitlivělost prokázali u 72 až 76 % a pozdní přecitlivělost u 9 až 17 % vyšetřovaných dětí. Nejčastější senzitizední komponenty stafylokokové buňky jsou polysacharid A, protein A, kapsulární antigen a některý z hemolysinů (Výmola aj., 1983).

U zdravých odstavených selat chovaných ve velkochovech prasat byl *Staphylococcus aureus* izolován z kůže 3 % selat a z nosohltanu 8 % selat (Raszyk aj., 1984). Rovněž u 10 % zdravých lidí je zjišťováno nosičství patogenních stafylokoků na kůži a tonzilách (Zahradnický,

1982). U 20 % osob zdravé populace lze prokázat intrakutánním testem přecitlivělost na stafylokoky a jejich metabolity (V ý m o l a aj., 1983).

Zvýšenou kožní reakcí na stafylokokový diagnostický alergen jsme zjistili u 22,2 % selat a na stafylokokový lyzát u 13,1 % selat. Tyto nálezy by mohly mít určitý praktický dopad, protože přecitlivělost je jedním z hlavních predisponujících činitelů stafylokokové infekce. Alergičtí jedinci mají sklon k recidivám a chronickému průběhu stafylokokových chorob. Zvláště pak časná přecitlivělost na stafylokoky má základní význam v patogenezi chronických stafylokokových zánětů (V ý m o l a aj., 1983).

OVĚŘOVALI jsme použití komerčního humánního setu Imunoskintest SEVAC, který je sestaven z antigenů, vůči nimž vzniká v naší lidské populaci přecitlivělost, a to jak v důsledku přirozeného promoření (toxoplazmóza, kandidóza), tak i následkem povinného očkování (tuberkulóza, tetanus). U námi vyšetřených selat lze předpokládat pouze přirozené promoření.

V roce 1985 byla v ČSR zjištěna tuberkulóza u 0,3 % porážených prasat (P a v l a s, 1986). Výskyt protilátek proti toxoplazmóze je zjišťován u 20 až 90 % prasat (D r a ž a n aj., 1987). U 15 až 40 % ošetřovatelů prasat na výkrm byly prokázány zvýšené hladiny protilátek proti antigenním frakcím *Candida albicans* (Š a c h aj., 1979). *Clostridium tetani* se běžně vyskytuje v trávicím ústrojí prasat. Prasata se mohou infikovat při poranění. Klinicky manifestní tetanus se však u prasat vyskytuje zcela ojediněle (D r a ž a n aj., 1987).

Podkladem indurace hodnocené při anamnestických kožních testech je buněčná infiltrace (W e s t o n aj., 1976), která je provázena depozity fibrinu v matrix pojivové tkáně (C o l v i n aj., 1976). Dále se rozšiřují extravaskulární prostory, hromadí se voda a plazmatické proteiny (C o l v i n aj., 1973).

Ve zdravé lidské populaci nacházíme pozitivní testy na tuberkulin u 80 % testovaných, na toxoplasmin u 30 %, na kandidový antigen u 80 % (R i c h t e r, 1986) a na tetanický antigen u 74 % testovaných osob (D o u t l í k aj., 1984).

Vyšetření dětí i dospělých Imunoskintestem je indikováno při podezření na imunodeficitní stavy. Při imunodeficienci je zjišťována snížená kožní odpověď na testované antigeny. Vzhledem k tomu, že velká většina námi vyšetřených zdravých selat na použité antigeny z Imunoskintestu nereagovala pozitivní kožní reakcí (91 % selat nereagovalo na tuberkulin, 75 % na toxoplasmin, 98 % na kandidin a 86 % na tetanický antigen), nelze jej z tohoto hlediska u selat využít. Dále je nutné respektovat skutečnost, že použití tuberkulinu (tuberkulinová zkouška) je ve veterinární medicíně vyhrazeno k intravitální diagnostice tuberkulózy.

K hodnocení imunity zprostředkované buňkami (testy *de novo*) byl použit fytohemagglutinin (PHA). PHA je lektin izolovaný z fazole (*Phaseolus vulgaris*) a stimuluje především T lymfocyty. Reaguje s cukernými znaky povrchových lymfocytových glykoproteinů a aktivuje lymfocyty bez zapojení receptorů pro antigen (N o u z a a J o h n, 1987). PHA se u prasat používá k hodnocení blastické transformace periferních lymfocytů *in vitro* (R a s z y k aj., 1986b).

U lidí se imunologickým kožním testem s PHA zjišťuje stav buněčné imunitní odpovědi *in vivo* (R i c h t e r, 1986). PHA se aplikuje intra-dermálně a za 24 a 48 hodin se hodnotí velikost kožní indurace, která

je histologicky charakterizována mononukleární infiltrací (Blaese aj., 1973). Ve zdravé lidské populaci je 85 % a více kožních testů pozitivních na PHA. Pozitivita testu na PHA svědčí o zachovalé rozpoznávací funkci lymfocytů, o aktivitě mediátorového systému a zánětlivé odpovědi (Richter, 1986).

Blecha aj. (1983, 1985) uskutečnili intradermální test s PHA u 64 a 118 selat (ve věku 14 až 35 dnů). PHA aplikovali do mediální části slabiny v množství 250 μg PHA v objemu 1,0 ml fyziologického roztoku. Měřili ztlustění kožní řasy před aplikací a za 24 a 48 hodin. Do druhé slabiny téhož selete aplikovali 1,0 ml fyziologického roztoku. Zesílení kožní řasy po PHA se za 24 hodiny pohybovalo od 5,4 mm do 8,0 mm a za 48 hodin od 3,8 mm do 5,3 mm (po odečtení tloušťky kožní řasy před aplikací). Aplikace fyziologického roztoku v průměru zesílila kožní řasu o 0,45 mm za 24 hodiny.

Mann a Hargis (1985) uskutečnili intradermální test s PHA u deseti odstavených selat o hmotnosti těla 10 kg. PHA aplikovali laterálně od kraniálních struků v množství 25 μg PHA v objemu 0,1 ml fyziologického roztoku. Měřili ztlustění kožní řasy před aplikací a za 24 hodiny. Po podání PHA činilo zesílení kožní řasy průměrně 247 %.

Histologické vyšetření kožní reakce selat na intradermálně aplikovaný PHA prokázalo, že celulární odpověď byla převážně mononukleární. Kožní reakce byla difúzně rozšířena přes korium do podkoží. Promínovaly perivaskulární a periarteriální „manžety“. Objevil se edém a zduření kolagenních vláken (Blecha aj., 1983).

U selat byla doložena dobrá korelace mezi intradermálním testem s PHA (*in vivo*) a testem blastické transformace periferních lymfocytů s PHA (*in vitro*) (Blecha aj., 1983).

U zdravých odstavených selat jsme zjistili pozitivní kožní reakci na PHA za 24 hodiny u 93 % selat a za 48 hodin u 59 % selat. Podobně jako Blecha aj. (1983, 1985) jsme zjistili maximální kožní odpověď na intradermálně aplikovaný PHA již za 24 hodiny, nezaznamenali jsme však kožní reakci na intradermálně aplikovaný fyziologický roztok. To je možné vysvětlit tím, že jsme použili desetkrát menší objem. Dále jsme doložili, že kožní odpověď na PHA se u prasniček a kanečků neodlišovala.

Podle našeho soudu se kožní test s PHA může považovat jako nadějný k posouzení stavu imunity zprostředkované buňkami u selat. U jednotlivých selat lze kožní reakci na intradermálně aplikovaný PHA posuzovat kvantitativně. Tento jednoduchý test *in vivo* by mohl jako screeningový test předcházet vyšetření prasat náročnějšími imunologickými metodami *in vitro*.

Laurylsulfát sodný (LS) patří mezi estery kyseliny sírové. V medicíně nachází uplatnění jako emulgátor (Barna, 1975). Použití LS k testování nespecifické zánětlivé odpovědi u lidí uvádí Richter (1979, 1986). Epikutánní test s LS vykazuje u více než 90 % zdravých osob pozitivní odpověď, tj. erytém, popřípadě induraci. Pozitivita testu svědčí o zachované nespecifické zánětlivé odpovědi.

U zdravých odstavených selat nevyvolala epikutánní aplikace 2,5% a 5,0% roztoku LS na kůži erytém ani induraci. Je však možné, že na negativní kožní reakci selat se podílela skutečnost, že se přes veškerou péči nezdařilo udržet podmínky kompletní okluze po celou dobu testování (24 hodiny).

Vzhledem k tomu, že není možné jednoznačně zaručit základní podmínku tohoto testu a prozatímní výsledky u selat nejsou diagnosticky využitelné, projevuje se epikutánní test s LS u selat jako méně vhodný.

Jako pozitivní kontrolu při posuzování časné přecitlivělosti selat jsme použili 10/00 roztok histaminu. Cenné informace o sklonu (dispozici) jedince k alergickým projevům může poskytnout i samotný histaminový kožní test (Kalenický, 1978). Vyšetřovaným osobám se intradermálně aplikuje 0,05 ml 10/00 histaminu a po dobu 30 minut se v pěti-minutových intervalech hodnotí velikost urtikariálního pupenu a velikost jeho červeného dvorce. U zdravých osob dosahuje kožní reakce maxima po 20 minutách; v té době měří pupen v průměru 10 mm a červený lem 30 mm. Hlavní indikací k provedení histaminového kožního testu u lidí jsou alergické dermatózy, u kterých se předpokládá vyšší uvolňování histaminu ve tkáních nebo zvýšená reaktivita na něj (Kalenický, 1978).

U zdravých odstavených selat jsme zjistili, že velikost pupenu za 20 minut po intradermální aplikaci histaminu v průměru činí 12,6 mm. Na rozdíl od člověka u selat červený dvorec obvykle nepřesahoval velikost pupenu. Je nutno upozornit, že hodnocení erytému u prasat s barevnou kůží není spolehlivě zaznamenatelné. Naproti tomu velikost pupenu lze hodnotit u všech prasat, bez ohledu na barvu jejich kůže.

Účinky histaminu jsou zprostředkovány dvěma typy receptorů (H₁ a H₂). Jejich rozdílným zastoupením u jednotlivých živočišných druhů lze alespoň částečně vysvětlit významnou mezidruhovou variabilitu v odpovědi na histaminový kožní test (Wenke aj., 1984).

Histaminový kožní test je poměrně jednoduchý. Jeho využití u selat je nadějně. Může nám poskytnout informaci o sklonu (dispozici) daného jedince k alergickým projevům. Dále je využitelný při diagnostice alergických dermatóz.

U jednotlivých imunologických kožních testů jsme uvedli jejich hlavní indikace. Jejich obecnou kontraindikací jsou akutní exacerbace základního onemocnění či jakékoliv jiné akutní a infekční onemocnění. Intradermální testy s diagnostickými alergeny (průkaz časné přecitlivělosti) v sobě skrývají i riziko anafylaktického šoku u vysoce přecitlivělých jedinců. Při realizaci imunologických kožních testů u selat jsme se s anafylaktickou reakcí doposud nesetkali. Anamnestické kožní testy (Imunoskintest SEVAC) je možné u lidí opakovat až za šest měsíců, opakování testů v kratší době zvyšuje jejich pozitivitu. Gravidita není překážkou provedení imunologických kožních testů, ale vzhledem k nutné fixaci prasat při jejich uskutečňování a hodnocení je nelze doporučit v druhé polovině gravidity.

ZÁVĚR

Stavy časné přecitlivělosti se pravděpodobně mohou vyskytovat i u selat. K průkazu pozdní přecitlivělosti na stafylokoky lze u selat využít stafylokokový lyzát (STAVA, Biofyzikální ústav ČSAV) a k hodnocení buňkami zprostředkované imunity (testy *de novo*) kožní test s fytohemaglutininem (PHA). Informaci o sklonu (dispozici) selat k alergickým chorobám může poskytnout histaminový kožní test. Imunoskintest SEVAC používaný u lidí k průkazu imunodeficiencí a epikutánní test s laurylsulfátem sodným k testování nespecifické zánětlivé odpovědi nejsou podle dosavadních zkušeností u selat diagnosticky využitelné.

Literatura

- BARNA, K.: Úvod do lékařské chemie. 1. vyd. Martin, Osveta 1975. 943 s.
- BATES, S. E. — SUEN, J. Y. — TRANUM, B. L.: Immunological skin testing and interpretation. A plea for uniformity. *Cancer*, 43, 1979, s. 2306-2314.
- BECKER, H. N. — GROSS, T. L.: Porcine allergic dermatitis caused by insect bites. *Agri. Practice*, 8, 1987, č. 5, s. 8-10.
- BENES, S. et al.: Alergologie. 1. vyd. Praha, Avicenum 1986. 416 s.
- BILSKI, A. J. — THOMSON, D. S.: Allergic contact dermatitis in the domestic pig. A new model for evaluating of the topical anti-inflammatory activity of drugs and their formulations. *Brit. J. Dermatol.*, 111, 1984 (Suppl. 27), s. 143.
- BLAESE, R. M. — WEIDEN, P. — OPPENHEIM, J. J. — WALDMANN, T. A.: Phytohemagglutinin as a skin test for the evaluation of cellular immune competence in man. *J. Lab. clin. Med.*, 81, 1973, s. 538-548.
- BLECHA, F. — POLLMANN, D. S. — NICHOLS, D. A.: Weaning pigs at an early age decreases cellular immunity. *J. anim. Sci.*, 56, 1983, s. 396-400.
- BLECHA, F. — POLLMANN, D. S. — NICHOLS, D. A.: Immunologic reactions of pigs regrouped at or near weaning. *Amer. J. veter. Res.*, 46, 1985, s. 1934-1937.
- BRETHNACH, S. M. — KATZ, S. I.: Cell-mediated immunity in cutaneous disease. *Hum. Pathol.*, 17, 1986, s. 161-167.
- COLVIN, R. B. — JOHNSON, R. A. — MIHM, M. C. — DVORAK, H. F.: Role of the clotting system in cell-mediated hypersensitivity: I. Fibrin deposition in delayed skin reactions in man. *J. exp. Med.*, 138, 1973, s. 686-698.
- COLVIN, R. B. — MIHM, M. C. — DVORAK, H. F.: Causes of induration in skin tests. *New Engl. J. Med.*, 295, 1976, s. 734-735.
- ČERNOHOUS, J.: Kožní nemoci. In: GDOVIN, T. — KOUBA, V. aj.: Nemoci prasat. 1. vyd. Praha, Státní zemědělské nakladatelství 1966, s. 77-100.
- DOUTLÍK, S. — VACEK, Z. — PEKÁREK, J. — VEPŘEKOVÁ, A.: Nový přípravek pro hodnocení buněčné imunity *in vivo* — Imunoskintest. *Prakt. Lék. (Praha)*, 64, 1984, s. 758-760.
- DRAŽAN, J. aj.: Nemoci prasat. 1. vyd. Praha, Státní zemědělské nakladatelství 1987. 240 s.
- DVOŘÁK, M. — VĚŽNÍK, Z.: Použitelnost intradermálního testu s antivepřovým sérem pro stanovení stupně reaktivnosti organismu selat. *Docum. veter. (Brno)*, 5, 1966, s. 31-36.
- GUÉRIN-FAUBLÉE, V. — EILLER, M. CH.: Les anticorps anaphylactiques chez les mammifères domestiques: revue bibliographique. *Revue Méd. vétér.*, 138, 1987, s. 607-617.
- HRUŠKOVIČ, I. — GETLÍK, A. — KAYSEROVÁ, H.: Atopia — celospolečenský problém. *Českoslov. Pediat.*, 43, 1988, s. 385-389.
- KALENSKÝ, J.: Dermatologická propedeutika. 1. vyd. Praha, Univerzita Karlova ve SPN 1978. 108 s.
- MANN, D. — HARGIS, J. W.: Intradermal testing of swine to monitor changes in delayed hypersensitivity response. *Amer. J. veter. Res.*, 46, 1985, s. 2363-2365.
- MATUŠKA, J. — HAMMER, F. — LOKAJ, J.: Kvantitativní hodnocení lymfocytů T a klinický obraz astma bronchiale. *Českoslov. Pediat.*, 42, 1987, s. 712-715.
- MORGAN, K. L. — PATEL, D. — BOURNE, F. J.: Antibodies to food and environmental antigens in serum, respiratory tract and intestines of pigs. *Int. Arch. Allergy appl. Immunol.*, 84, 1987, s. 325-331.
- NOUZA, K. — JOHN, C.: Imunologie zdraví a nemoci. 1. vyd. Praha, Avicenum 1987. 356 s.
- OPPL, L.: K pracovnímu prostředí velkochovů hospodářských zvířat. *Českoslov. Hyg.*, 25, 1980, s. 324-329.
- PAVLAS, M.: Studium epizootologické problematiky mykobakterií ve velkochovech prasat. [Výzkumná zpráva.] Brno, Výzkumný ústav veterinárního lékařství 1986. 36 s.
- PETRŮ, V. — HONZOVA, S.: Polinóza — 1. část. *Českoslov. Pediat.*, 43, 1988a, s. 32-35.
- PETRŮ, V. — HONZOVA, S.: Polinóza — 2. část. *Českoslov. Pediat.*, 43, 1988b, s. 93-95.
- RASZYK, J. — BARTOŠ, J. — ČERNÁ, J. aj.: Intravitální vady vepřových kůží u výkrmových prasat v ČSR. [Výzkumná zpráva.] Brno, Výzkumný ústav veterinárního lékařství 1984. 91 s.

RASZYK, J. — KNOTEK, Z. — GAJDŮŠKOVÁ, V. aj.: Fyzikální, chemické a biologické vyšetření prachu z velkovýkrmů prasat. Veter. Med. (Praha), 31, 1986a, s. 233-244.

RASZYK, J. — RUBEŠ, J. — RODÁK, L. aj.: Biochemické, hematologické, imunologické a cytogenetické vyšetření při papulózní dermatitidě výkrmových prasat. Veter. Med. (Praha), 31, 1986b, s. 669-680.

RICHTER, J.: Zjišťování buněčné imunitní odpovědi kožními testy. Prakt. Lékař, 59, 1979, s. 741-743.

RICHTER, J.: Průkaz imunity zprostředkované buňkami — kožní testy. In: PROCHÁZKOVÁ, J. — JOHN, C. aj.: Vybrané diagnostické metody lékařské imunologie. Praha, Avicenum 1986, s. 186-190.

STREJČEK, J. — LOKAJ, J.: Imunologie v klinické praxi. 1. vyd. Praha, Avicenum 1985, 293 s.

SWALES, W. E. — ALBRIGHT, W. D. — FRASER, L. — MUIR, G. W.: Photosensitization produced in pigs by phenothiazine. Can. J. comp. Med. veter. Sci., 6, 1942, s. 169.

SACH, J. — ZAVÁZAL, V. — TOMŠÍKOVÁ, A. — BENEŠ, J. — TAUSLOVÁ, S.: Epidemiologie alergických chorob. III. Možnosti alergizace v současné živočišné výrobě. Prakt. Lékař, 59, 1979, s. 500-504.

ŠTÁVA, Z. — JIRÁSEK, L.: Dermatovenerologie. 1. vyd. Praha, Avicenum 1982, 504 s.

VÝMOLA, F. aj.: Stafylokokové infekce. 1. vyd. Praha, Avicenum 1983, 236 s.

WENKE, M. — MRÁZ, M. — HYNIE, S.: Farmakologie pro lékaře. 1. vyd. Praha, Avicenum 1984, 1316 s.

WESTON, W. L. — BOCK, G. — GOLD, M.: Skin tests: cause of induration. New Engl. J. Med., 295, 1976, s. 282.

ZAHRADNICKÝ, J.: Nosičství patogenních zárodků. In: KOL.: Lékařské repetitorium. Svazek II. 4. vyd. Praha, Avicenum 1982, s. 1199-1205.

Došlo dne 2. 9. 1983

РАСЗЫК, Й. — ПИЛЛИХ, Й. (Научно-исследовательский институт ветеринарии, Брно; Институт биофизики ЧСАН, Брно): Иммунологические тесты проводимые на коже поросят. Veter. Med. (Praha), 34, 1989 (5) : 275-286.

Иммунологические тесты проводимые на коже применяли 213 поросятам после отъема, их масса тела была 5—30 кг. Ранняя излишняя чувствительность оценивалась диагностическими аллергенами (плесневыми, дрожжевыми и бактериальными), поздняя излишняя чувствительность стафилококковым препаратом, клеточный иммунитет (тесты *de novo*) фитогемагглютинином и в качестве антигенов анамнеза использовали туберкулин, токоплазмин, конидиовый и тетановый антиген. Приведенные препараты применяли внутрикожно в хребтовую часть тела поросят. Для оценки неспецифического воспалительного ответа использовали додецил сульфат натрия, который применяли на поверхность кожи. Средняя реакция на диагностические аллергены (50 PNU в 0,05 мл) оценивалась после 20 минут, характеризовалась легкой кожной реакцией (папула величиной 3—5 мм); у 22% поросят установили среднюю реакцию кожи (папула величиной свыше 6 мм) на диагностический бактериальный аллерген (*Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*). После внутрикожного применения гистамина (50 мкг в 0,05 мл) папула после 20 минут измерялась средней величиной 13 мм. После применения 0,1 мл стафилококкового препарата (СТАВА) в течении 24 часов установили уплотнение размером свыше 10 мм у 13% поросят. После применения фитогемагглютина (100 мкг в 0,1 мл) установили уплотнение размером больше 5 мм в течении 24 часов у 93% поросят и в течении 48 часов у 59% поросят. Антигены анамнеза применялись в объеме 0,1 мл. В течении 48 часов после применения не установили уплотнение на ошун: у 91% поросят после применения туберкулина (2 TU PPD в 0,1 мл); у 75% поросят после токоплазмينا (по PNY 30—33—74); у 98% поросят после кандидового антигена (100 PNU в 0,1 мл) и у 86% поросят после тетанового антигена (0,03 I.f в 0,1 мл). На кожу применяемый додецил сульфат натрия (в 2,5% и 5% концентрации) у поросят после 24 часов не вызвал воспалительную реакцию кожи (эритему или уплотнение). У поросят наиболее надежным себя проявляет использование фитогемагглютина для оценки клеточного иммунитета, использование стафилококкового препарата для оценки поздней излишней чувствитель-

ности по отношению стафилококков и гистамина для получения информации по предрасположенности (склонности) поросят к аллергическим заболеваниям.

раная и поздняя излишняя чувствительность; диагностические аллергены; стафилококковый препарат; клеточный иммунитет; антигены анамнеза; фитогемагглютинин; неспецифические воспалительные реакции; додецил сульфат натрия; гистамин

RASZYK, J. — PILLICH, J. (Veterinary Research Institute, Brno; Biophysical Institute of the Czechoslovak Academy of Sciences, Brno): *Immunological Skin Tests in Piglets*. Veter. Med. (Praha), 34, 1989 (5) : 275-286.

Immunological skin tests were carried out in 213 weanling piglets at the weight of 5 to 30 kg. Immediate hypersensitivity was evaluated by help of diagnostic allergens (mould, yeast and bacterial ones), delayed hypersensitivity by help of staphylococcus lysate, cellular immunity (tests *de novo*) by help of phytohemagglutinin and as common recall antigens were used tuberculin, toxoplasmin, candidic and tetanic antigen. The above substances were applied intradermally to the back of the piglets. For an evaluation of non-specific inflammatory response, sodium lauryl sulphate applied epicutaneously was used. The average reaction to diagnostic allergens (50 PNU in 0.05 ml) evaluated after 20 minutes was characterized as light dermal reactions (the papule size of 3—5 mm); in 22 % of piglets moderate dermal reactions (the papule larger than 6 mm) to the diagnostic bacterial allergen (*Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*) were determined. After an intradermal implantation of histamine (50 µg in 0.05 ml) the average size of the papule was 13 mm in 20 minutes. After the application of 0.1 ml of staphylococcus lysate (STAVA), the induration exceeding 10 mm was observed in 13 % of piglets in 24 hours. After the application of phytohemagglutinin (100 µg in 0.1 ml), the induration exceeding 5 mm in 24 hours was determined in 93 % of piglets and in 48 hours in 59 % of piglets. Common recall antigens were applied at the volume of 0.1 ml. Forty-eight hours after the application no palpable induration was determined: in 91 % of piglets after the application of tuberculin (2 TU PPD in 0.1 ml); in 75 % of piglets after toxoplasmin (according to PNY 30-33-74); in 98 % of piglets after candidic antigen (100 PNU in 0.1 ml) and in 86 % of piglets after tetanic antigen implantations (0.03 Lf in 0.1 ml). The epicutaneously applied sodium lauryl sulphate (at 2.5 % and 5 % concentrations) caused no inflammatory dermal reactions (erythema or induration) after 24 hours. In piglets it is best to apply phytohemagglutinin for evaluating cellular immunity, staphylococcus lysate for evaluating delayed hypersensitivity to staphylococci and histamine for obtaining the information on a disposition of piglets to allergic diseases.

immediate and delayed hypersensitivity; diagnostic allergens; staphylococcus lysate; cellular immunity; common recall antigens; phytohemagglutinin; non-specific inflammatory reaction; sodium lauryl sulphate; histamine

Adresy autorů:

MVDr. Josef Rázyk, CSc., Výzkumný ústav veterinárního lékařství, Hudcova 70, 621 32 Brno
RNDr. Jiří Pillich, CSc., Biofyzikální ústav ČSAV, Královopolská 135, 612 65 Brno

AKTIVITA VYBRANÝCH DEHYDROGENÁZ A MONOAMINOXIDÁZY V TENKÉM STŘEVĚ GNTOBIOTICKÝCH SELAT INFIKOVANÝCH KOKCIDIÍ *ISOSPORA SUIIS*

M. Kudweis, Z. Lojda, J. Vítovec, B. Koudela

KUDWEIS, M. — LOJDA, Z. — VÍTOVEC, J. — KOUDELA, B. (Parazitologický ústav ČSAV, České Budějovice; Laboratoř pro histochemii při lékařské fakultě Univerzity Karlovy, Praha): *Aktivita vybraných dehydrogenáz a monoaminoxidáz v tenkém střevě gnotobiotických selat infikovaných kokcidií Isospora suis*. Veter. Med. (Praha), 34, 1989 (5) : 287-296.

V tenkém střevě 16 gnotobiotických selat infikovaných den po porodu (dále DPP) kokcidií *Isospora suis* jsme studovali aktivitu vybraných dehydrogenáz a monoaminoxidáz (O₂ oxidoreduktázy, MAOx, EC 1.4.3.4.). Z dehydrogenáz jsme věnovali pozornost sukcinát dehydrogenáze (SDH, EC 1.3.99.1.), glycerol-3-fosfát dehydrogenáze (glycerol-3-fosfát : menadion oxidoreduktáze, GPOX, EC 1.1.99.5.) a tetrazolium oxidoreduktáze (NADH, EC 1.6.99.3.). Zjistili jsme, že při vysoké infekční dávce oocyst *I. suis* (750 000) se ve srovnání s kontrolou již první den po infekci (dále DPI) snižuje aktivita NADH, GPOX a silněji aktivita MAOx. Úroveň SDH je téměř shodná s aktivitou MAOx. U selat infikovaných nízkou infekční dávkou oocyst *I. suis* (100 000) se v aktivitě NADH projevil dvojitý výrazný pokles (negativní až slabě pozitivní nálezy) v období od třetího do osmého dne po infekci (DPI). Podobný obraz s delším časovým intervalem mezi poklesy jsme zjistili u GPOX (4. až 11. DPI). U SDH a MAOx byl nálezy odlišný. SDH si udržuje aktivitu po celou dobu pozorování na stejné úrovni (++) a teprve 9. DPI je patrný pokles (+) přetrvávající do 11. DPI. Aktivita MAOx a její změna odpovídá aktivitě SDH, rozdíl je však v tom, že u druhé skupiny je značná počáteční úroveň (+++) a 11. DPI je ve srovnání s normou aktivita slabá až střední (0—++). Tato rozkolísanost je patrná již od 8. DPI.

tetrazoliumreduktázy; energetický metabolismus; diferenciace enterocytů

Klinická kokcidióza sajících selat vyvolaná kokcidií *Isospora suis* je popsána v různých zemích a také u nás (Koudela aj., 1986). Morfologickým podkladem průjemového onemocnění selat je experimentálně prokázána atrofie kličů a nekróza epitelu tenkého střeva (Harleman a Meyer, 1985). V tenkém střevě výrazně klesá počet pohárkových buněk a aktivita alkalické fosfatázy je značně snížena a nepravdivě rozložena (Kudweis aj., 1989a, b). Nejzávažněji je poškozena epitelální výstelka v oblasti dolního a středního jejunu a ileu (Harleman a Meyer, 1985; Kudweis aj., 1989a). Touto prací chceme přispět k objasnění otázek vyzrávání enteroblastů v enterocyty.

MATERIÁL A METODA

V pokusech s kokcidií *Isospora suis* na gnotobiotických selatech jsme použili hybridy plemen ušlechtilé bílé a landrase. Gnotobiotická selata jsme pro pokusy připravili podle metody, kterou uvedli Trávníček aj. (1975). Selata byla zís-

I. Přehled zpracovaného materiálu [* infekční dávka 750 000 oocyst; ** infekční dávka 100 000 oocyst; *** kontrolní zvířata; **** ISG — *Isospora suis* (IS) jako infekční agens použité na gnotobiotických selatech (G); označení ISG je doplněno pořadovým číslem použitého selete — ISG 11 až ISG 26] — A survey of the trial material [* infection dose of 750 000 oocysts; ** infection dose of 100 000 oocysts; *** control animals; **** ISG — *Isospora suis* as an infectious agent administered to gnotobiotic piglets (G); the ISG designation is added a serial number of the piglet — ISG 11 to ISG 26]

Skupina	Sele	Infekce v DPP	Utraceni v DPI	Věk
I*	ISG 14****	1	1	2
	ISG 16	1	2	3
	ISG 18	1	3	4
	ISG 22	1	4	5
II**	ISG 19	1	3	4
	ISG 20	1	3	4
	ISG 23	1	4	5
	ISC 11	1	5	6
	ISG 24	1	5	6
	ISG 25	1	6	7
	ISG 26	1	6	7
	ISG 12	1	7	8
	ISG 13	1	8	9
	ISG 15	1	9	10
	ISG 17	1	10	11
	ISG 21	1	11	12
III***	K 1	0	1	2
	K 2	0	2	3
	K 3	0	4	5
	K 4	0	6	7

kána hysterektomií, byla bezkolostránní, bezmikrobní. Před infekcí oocystami kokcidie *Isospora suis* byla inokulována nepatogenním kmenem *E. coli* a třemi kmeny streptokoků skupiny D. Tyto bakteriální kmeny jsme získali z Československé sbírky mikroorganismů v Praze. Selata byla inokulována kmenem *E. coli* (0 86 : 25) tři hodiny po hysterektomii a devět hodin po hysterektomii kmeny *Streptococcus fecalis*, *Streptococcus faecium* a *Streptococcus liquefaciens*. V průběhu pokusu byla selata pravidelně ve 24hodinových intervalech bakteriologicky vyšetřována. Byla prokázána pouze již uvedená známá střevní mikroflóra.

Při pokusech na gnotobiotických selatech jsme používali zařízení a vybavení Výzkumného ústavu veterinárního lékařství v Brně.

Vyšetřili jsme tenké střevo 16 gnotobiotických selat v období od 1. do 11. dne po infekci (DPI) ve věku 2 až 12 dnů. Čtyři selata byla infikována vysokou infekční dávkou 750 000 oocyst a vyšetřena v období od 1. do 4. DPI. Dvanáct selat bylo infikováno nízkou infekční dávkou 100 000 oocyst *I. suis* a vyšetřeno v období od 3. do 11. DPI. V období mezi 3. a 4. DPI jsme měli možnost srovnávat aktivitu enzymů u obou skupin.

Vyšetřili jsme celkem 64 vzorky tenkého střeva, a to tak, abychom získali přehled o enzymatické aktivitě studovaných enzymů v celém tenkém střevě. Každému seleti jsme odebírali vzorky ze čtyř úseků. První vzorek byl odebrán ve vzdálenosti do 5 cm od *ostium ileocecale* (ileum), druhý v hranicích 100 cm (dolní jejunum), třetí 250 cm (střední jejunum) a čtvrtý 300 až 500 cm od *ostium ileo-*

II. Stanovení dehydrogenáz — metodika — Dehydrogenase assays — methods

Enzym	Substrát mg	pH	Inkubace minut	Teplota °C
NADH EC 1.6.99.3.	NADH (DPNH) 2,0	7,2–7,8	15–45	37
SDH* EC 1.3.99.1	jantaran sodný; 30,0	7,4–7,8	15–45	37
GPOX** EC 1.1.99.5.	glycerol fosfo- rečnan sodný; 50,0	7,4–7,8	15–45	37

* přidat 0,1 mg na 1 ml média fenazinmetasulfát

** doplnit dvě až tři kapky 0,1% menadionu v acetonu (zvýšení výsledného zbarvení)

cecale (duodenum). Stejným postupem jsme odebrali vzorky střevní sliznice od čtyř kontrolních neinfikovaných selat starých dva až sedm dnů (Kudweis aj., 1989a, b). Přehled studovaného materiálu je uveden v tab. I.

Po utrácení byly tkáňové vzorky rychle zmrazeny na suchém ledu a do zpracování uloženy do mrazicího pultu s teplotou -60 až -70 °C (Lojda a Papoušek, 1978).

Z bločků byly pořízeny řezy na zmrazovacím mikrotomu o tloušťce do 8 μ m. Metodika zpracování řezů pro detekci studovaných dehydrogenáz je uvedena v tab. II. Pro průkaz aktivity MAOx jsme použili inkubační médium složené z 15 ml 0,1 M fosfátového pufru o pH 7,4 a 5 ml 0,1% roztoku nitroblutetrazoliové soli, ke kterému jsme přidávali 18 mg tryptaminhydrochloridu. Výsledné pH dosa-

III. Zjištěná aktivita NADH a GPOX — The NADH and GPOX activities

Skupina	Sele	Ileum		Dolní jejunum		Střední jejunum		Duodenum	
		A	B	A	B	A	B	A	B
I	ISG 14	++	++	+++	+++	++	+++	++	++
	ISG 16	++	++	++	+++	++	++	++	+++
	ISG 18	++	++	+	0	++	0	+	+
	ISG 22	+	0	0	0	0	0	+	+
II	ISG 19	+	0	+	0	++	+	+	+
	ISG 20	+	+	+	0	+	0	++	+
	ISG 23	++	+	+++	+	+++	++	+++	+
	ISG 11	++	+	++	++	+++	++	++	+
	ISG 24	++	++	++	++	+++	++	++	++
	ISG 25	+	++	0	+++	+	++	0	++
	ISG 26	0	++	0	++	+	++	+	+++
	ISG 12	0	++	+	++	+	+++	+	++
	ISG 13	0	++	+	++	+	++	+	+++
	ISG 15	0	++	+	++	0	+	0	+
	ISG 17	+	+	0	++	0	++	+	+
	ISG 21	+	+	+	++	0	+	0	+

A — NADH B — GPOX

IV. Zjištěná aktivita SDH a MAOx — The SDH and MAOx activities

Skupina	Sele	Ileum		Dolní jejunum		Střední jejunum		Duodenum	
		A	B	A	B	A	B	A	B
I	ISG 14	+	++	++	+	++	+	++	++
	ISG 16	++	++	++	+	+	++	++	+
	ISG 18	++	+	++	+	++	++	++	+
	ISG 22	++	+	+	++	++	++	+	+
II	ISG 19	++	+++	++	++	+	+++	++	++
	ISG 20	+	++	+	+++	++	+++	++	++
	ISG 23	++	++	++	++	+	+++	+	++
	ISG 11	+	++	++	+++	++	+++	++	++
	ISG 24	+	++	++	+++	++	++	+	+++
	ISG 25	++	+	++	++	++	++	+	++
	ISG 26	++	+	++	+	+	++	++	++
	ISG 12	++	++	+	+	++	+	+	++
	ISG 13	++	++	++	+	+	+	++	+
	ISG 15	+	+	+	+	++	+	+	++
	ISG 17	+	0	+	+	+	+	++	+
	ISG 21	++	0	+	0	+	+	+	+

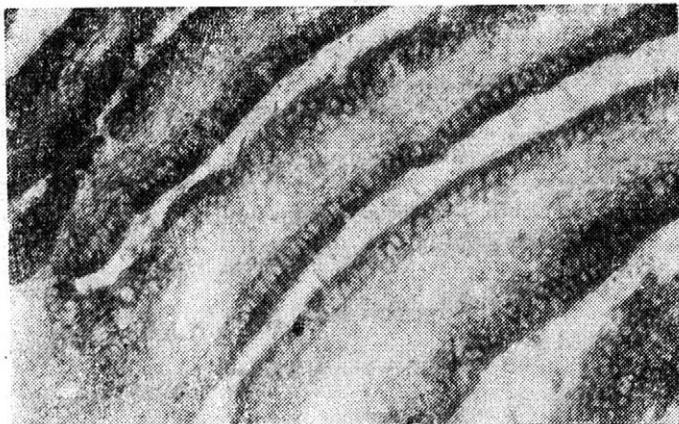
A — SDH B — MAOx

hovalo hodnoty 7,4 až 7,6, doba inkubace nepřesáhla 120 minut při teplotě 37 °C. Aktivita enzymů byla hodnocena na základě aktivity, kterou jsme zjistili u kontrol (celkem byly vyšetřeny 24 sériové řezy z každého úseku střeva) a kterou jsme nadále označili jako aktivitu na tři křížky (+++).

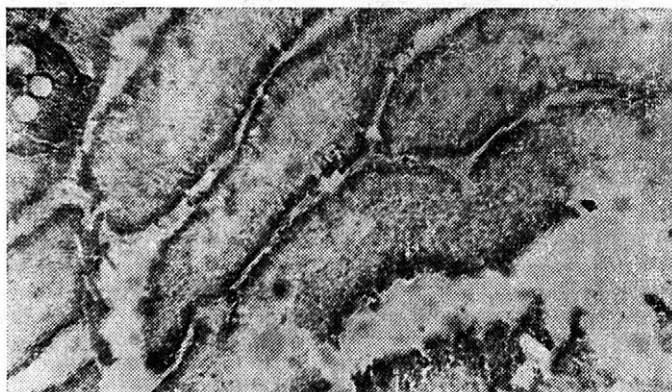
VÝSLEDKY

Výsledky pozorování jsou shrnuty v tab. III a IV. U kontrolních zvířat byla aktivita studovaných enzymů pravidelně rozložena, topograficky lokalizována intracelulárně. Aktivita NADH a GPOX měla podobný průběh. U selat infikovaných vysokou dávkou oocyst (750 000) byla výchozí aktivita NADH v 1. DPI v celém průběhu tenkého střeva od ++ do +++ (obr. 1). 3. DPI aktivita poklesla a 4. DPI byl nález dokonce negativní, a to v oblasti dolního a středního jejunu (obr. 2). U selat infikovaných nízkou dávkou oocyst (100 000) byla výchozí aktivita (3. DPI) +. Podstatně se zvýšila 4. DPI (až +++), ale 6. DPI opět poklesla (0 až +). Tento stav dokumentuje obr. 3. Tato úroveň aktivity byla zjištělná do 8. DPI, kdy nastal další pokles přetrvávající až do 11. DPI. V jednotlivých úsecích tenkého střeva jsme nezjistili výraznější rozdíly. Rozdílnost v aktivitě GPOX a NADH spočívá v tom, že výchozí aktivita byla u první skupiny v případě GPOX vyšší. Období přechodného zvýšení bylo mezi 5. a 10. DPI. Aktivita se 11. DPI neodlišovala od zjištěné aktivity v 10. DPI. U NADH je tedy pokles aktivity dvoustupňový, kdežto u GPOX se snižování dále neprohlubuje (obr. 4–6).

1. Aktivita NADH u kontrolního zvířete; věk selete pět dnů (K 3); pozitivita zachycena v dolním jejunu — NADH activity in the control animal; piglet age five days (K 3); the positivity localized in the lower jejunum



2. Aktivita NADH u selete ISG 18 (3. DPI) je značně snížena; pozitivita je zachycena v oblasti dolního jejunu — NADH activity in piglet ISG 18 (3rd DAI) is considerably lowered; the positivity is localized in the region of lower jejunum



Rovněž aktivity SDH a MAOx a jejich průběh byly podobné. Aktivita SDH byla u první skupiny v počátku pozorování (1. DPI) na střední úrovni (++) a trvala až do 4. DPI (obr. 7). Ve stejné výši byla výchozí aktivita u skupiny druhé (3. DPI), 9. DPI výrazněji poklesla a na této úrovni přetrvávala až do 11. DPI. Rozdíly mezi jednotlivými úseky tenkého střeva jsme nezaznamenali. Aktivita MAOx měla u první skupiny téměř shodný průběh s aktivitou SDH. Počáteční aktivita u druhé skupiny (4. až 5. DPI) odpovídala kontrolním zjištěním. Pokles nastal 6. až 7. DPI a trval až do 11. DPI (obr. 8). Nejnížší aktivita až negativní nález byl zjištěn v dolním jejunu a ileu. Ani u jednoho ze sledovaných enzymů nedošlo ve sledovaném období k normalizaci srovnatelné s kontrolou.

DISKUSE

V předkládané práci jsme se zaměřili na skupinu enzymů lokalizovaných v mitochondriích. Na základě aktivity těchto enzymů je možné posuzovat stav vyžívání enteroblastů v procesu jejich diferenciaci v enterocyty. Aktivita enzymů stoupá od vynoření enterocytů z germinativního centra v kryptách až na vrchol klků a právě sledování těchto aktivit je indikátorem procesu diferenciaci (Forlin — Magana aj., 1970). Nejdůležitějším znakem diferenciačního procesu je vytvoření mikrovilózní zóny a objevení aktivity alkalické fosfatázy a některých ji-



3. Aktivita NADH u selete ISG 11 (5. DPI); pozitivita je silnější v horní polovině klku; dolní polovina klku a báze klku je pouze slabě pozitivní až negativní (×) — NADH activity in piglet ISG 11 (5th DAI); the positivity is more expressive in the upper part of villus; the lower and basal parts of villus are only slightly positive to negative (×)

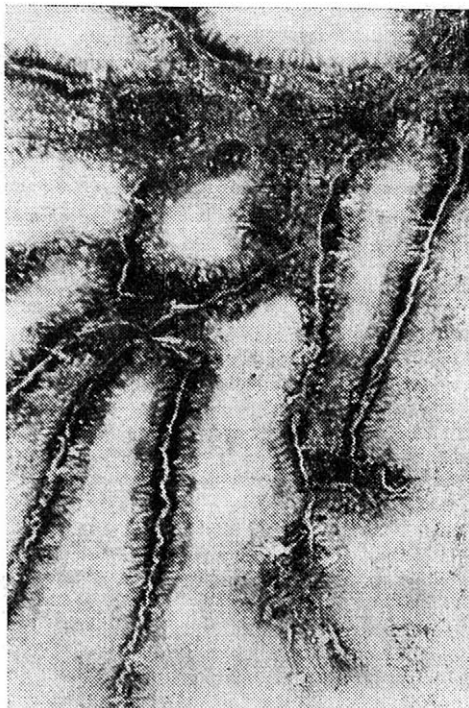
4. Aktivita GPOX u selete ISG 14 v oblasti dolního jejunu; zjištěná aktivita je srovnatelná s kontrolou — GPOX activity in piglet ISG 14 in the region of lower jejunum; the activity is comparable with the control



5. Pouze zbytková aktivita GPOX u selete ISG 22 (4. DPI) v oblasti duodena (×) — Only residual GPOX activity in piglet ISG 22 (4th DAI) in the duodenum region (×)

ných enzymů (Lojda, 1983). Aktivita alkalické fosfatázy je v případě infekce *I. suis* značně snížena, a tedy i diferenciační proces se odchyluje od normálního stavu (Kudweis aj., 1989b).

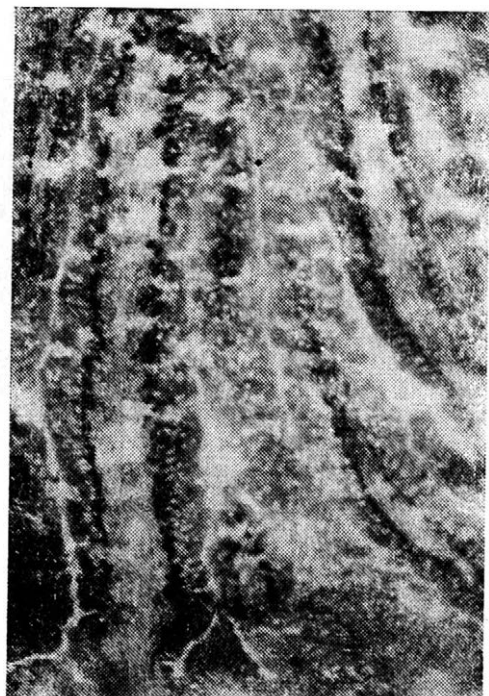
6. Aktivita GPOX u selete ISG 25 (6. DPI) v oblasti středního jejunu. Pozitivita je lokalizována převážně v horní třetině klku — GPOX activity in piglet ISG 25 (6th DAI) in the region of middle jejunum. The positivity is localized mostly in the upper third of villus



SDH je výrazný enzym Krebsova cyklu. Jeho deficit může značně ovlivnit triádu energetických funkcí mitochondrií. Domníváme se však, s ohledem na předchozí zjištění (K u d w e i s aj., 1989a, b), že v případě infekce kokcií *I. suis* nejde o deficit SDH, ale o patologickou organizaci mitochondrií. Deficit NADH úzce souvisí s energetickým metabolismem buňky. Na základě zjištění, že během infekce se zvyšuje její aktivita, lze usuzovat, že se NADH syntetizuje, ovšem do prostředí neorganizovaného na fyziologické úrovni. Další pokles aktivity NADH připisujeme tomu, že buňka v tomto období není zcela diferencována a enzym nemůže uplatnit svoji funkci. Podobné nálezy zjišťovali v případě expe-

7. Pozitivita SDH u selete ISG 22 (4. DPI); enzym je rozložen pravidelně po celém obvodu klku; oblast středního jejunum — SDH positivity in piglet ISG 22 (4th DAI); the enzyme is distributed regularly along the villus periphery; the region of middle jejunum





8. Aktivita MAOx u selete ISG 25 (6. DPI) v oblasti středního jejunu; pozitivita pravidelně rozložena po celém obvodu klku — MAOx activity in piglet ISG 22 (6th DAI) in the region of middle jejunum; the positivity is distributed regularly along the villus periphery

rimentální kokcidiózy králíků Elias a Meijer [1983]. Deficit GPOX úzce souvisí s procesem glukoneogeneze. Snížená aktivita nebo dokonce negativní nález svědčí o tom, že glycerol-3-fosfát není schopen měnit se na dihydroxyaceton fosfát a v této podobě se zúčastnit glukoneogeneze.

Lze uzavřít, že obecně deficit studovaných dehydrogenáz nepříznivě ovlivňuje úroveň energetického metabolismu enterocytů tím, že v případě jejich normální diferenciaci zpomaluje nebo blokuje jejich vyžrávací proces. Aktivita MAOx byla v našich zjištěních po výchozí aktivitě snížena. Má značnou úlohu při detoxikačních procesech [Laplane aj., 1962]. V návaznosti na uvedené závěry se domníváme, že nedostatečné vyžrávání enterocytů je způsobeno blokováním energetického metabolismu a hromaděním některých toxických produktů, např. aminů. Výsledky tohoto pozorování plně odpovídají našim dřívějším nálezům [Kudweis aj., 1989a, b] a potvrzují, že primárně není porušen proces obnovy mikrovilózní zóny, nýbrž proces vyžrávání enterocytů.

Poděkování

Autoři děkují vedení Výzkumného ústavu veterinárního lékařství v Brně, že umožnilo uskutečnit experimentální část práce na gnotobiotických selatech v prostorách ústavu. Současně děkují za velmi pečlivé technické zpracování zmrazených řezů Heleně Pulkrábové, pracovníci Parazitologického ústavu ČSAV v Českých Budějovicích.

Literatura

ELIAS, E. A. — MEIJER, A. E. F. A.: The increase in activity of the NADPH-regenerating enzymes of the pentose phosphate pathway in vitamin E deficiency induced myopathy in rabbits. A histochemical and biochemical study. Cell. molec. Biol., 29, 1983, s. 27-37.

FORLIN-MAGANA, R. — HURWITZ, R. — HERBST, J. J. — KRECHMER, N.: Intestinal enzymes: Indications of proliferation and differentiation in the jejunum. *Science*, 167, 1970, s. 1627-1629.

HARLEMAN, J. H. — MEYER, R. C.: Life cycle of *Isoospora suis* in gnotobiotic and conventionalized piglets. *Veter. Parasit.*, 17, 1985, s. 27-39.

KOUDELA, B. — VÍTOVEC, J. — ŠONKOVÁ, J. — VOBROVÁ, D.: Isoosporóza sajících selat v podmínkách velkochovu. *Veter. Med. (Praha)*, 31, 1986, s. 725-732.

KUDWEIS, M. — LOJDA, Z. — VÍTOVEC, J. — KOUDELA, B. — ŠTĚRBA, J.: Poměr enterocytů a pohárkových buněk ve sliznici tenkého střeva při experimentální infekci selat kokcií *Isoospora suis*. *Veter. Med. (Praha)*, 34, 1989a, s. 33-38.

KUDWEIS, M. — LOJDA, Z. — VÍTOVEC, J. — KOUDELA, B. — ŠTĚRBA, J.: Úroveň aktivity alkalické fosfatázy během infekce kokcií *Isoospora suis* u selat. *Veter. Med. (Praha)*, 34, 1989b, s. 159-164.

LAPLANE, R. — POLONOVSKI, C. — ETIENNE, M. — DEBRAY, P. — LODS, J. C.: L'intolérance aux sucres à transfer intestinal actif. *Arch. franc. Pediat.*, 19, 1962, s. 895-944.

LOJDA, Z.: Patologie trávicího traktu. In: BEDNÁŘ, B.: Patologie II. Praha, Avicenum 1983, s. 986-1032.

LOJDA, Z. — PAPOUSEK, F.: Základy histochemického průkazu enzymů. Ústav pro další vzdělávání středních zdravotnických pracovníků, Brno 1978. 120 s.

TRÁVNÍČEK, J. — KOVÁŘU, F. — MANDEL, L. — STOŽICKÝ, V. — KRUML, J.: The delivery of piglets for germfree rearing by caesarian section in closed system. *Acta Veter. (Brno)*, 44, 1975, s. 297-304.

Došlo dne 22. 7. 1988

КУДВАЙС, М. — ЛОЙДА, З. — ВИТОВЕЦ, Й. — КОУДЕЛА, Б. (Институт паразитологии ЧСАН, Чешске Будейовице; Лаборатория по гистохимии при медицинском факультете Карлова Университета, Прага): Активность выбранных дегидрогеназ и монооксидазы в тонком кишечнике гнотобиологических поросят инфицированных кокцидиозом *Isoospora suis*. *Veter. Med. (Praha)*, 34, 1989 (5) : 287-296.

В тонком кишечнике 16 гнотобиотических поросят инфицированных в день после родов (далее ДПР) кокцидиозом *Isoospora suis* изучали активность выбранных дегидрогеназ и моноаминоксидаз (Оз оксидоредуктазы, МАокс. ЕС 1.4.3.4.). Из дегидрогеназ уделяли внимание сукцинат дегидрогеназе (СДГ, ЕС 1.3.99.1), глицерол-3-фосфат дегидрогеназе (глицерол-3-фосфат : менадион оксидоредуктаза, ГПОокс., ЕС 1.1.99.5.) и тетразолиум оксидоредуктазе (НАДГ, ЕС 1.6.99.3.). Установили, что при высокой инфекционной дозе ооцист *I. suis* (750 000 ооцист) в сравнении с контролем уже первый день после инфекции (далее ДПИ) снижается активность НАДГ, ГПОокс и более умеренно активность МАокс. Уровень СДГ не изменен. У поросят инфицированных низкой инфекционной дозой ооцист *I. suis* (100 000 ооцист) в активности НАДГ проявилось двойное выразительное понижение (негативное — слабо положительное обследование) в период с третьего до восьмого дня после инфекции (ДПИ). Подобная картина с более длинным временным интервалом между понижениями была установлена у ГПОокс. (4.—11. ДПИ). У СДГ и МАокс. обследование было различным. СДГ поддерживает активность весь период наблюдения на одинаковом уровне (++) и только на девятый ДПИ видно не большое понижение (+), которое длится до 11. ДПИ. Активность МАокс. и ее изменение соответствует активности СДГ, однако разница в том, что у второй группы имеется начальный уровень (+++) и 11. ДПИ в сравнении с нормой активность слабая—средняя (0 — ++). Данная неустойчивость наблюдается уже на восьмой день ДПИ.

тетразолиумредуктазы: энергетический метаболизм; дифференциация энтероцитов

KUDWEIS, M. — LOJDA, Z. — VÍTOVEC, J. — KOUDELA, B. (Institute of Parasitology of the Czechoslovak Academy of Sciences, České Budějovice; Laboratory of Histochemistry at the Faculty of Medicine of Charles University, Praha): The Activities of Selected Dehydrogenases and Monoaminoxidases in the Small Intestine of Gnotobiotic Pigs Infected by *Isoospora suis* Coccidia. *Veter. Med. (Praha)*, 34, 1989 (5) : 287-296.

In the small intestine of 16 gnotobiotic piglets infected a day post partum (DPP) by *Isoospora suis* coccidia the activities were studied of selected dehydrogenases and

monoaminooxidase (O₂ oxidoreductase, MAOx, EC 1.4.3.4.). The following dehydrogenases were investigated: succinate dehydrogenase (SDH, EC 1.3.99.1.), glycerol-3-phosphate dehydrogenase (glycerol-3-phosphate: menadion oxidoreductase, GPOX, EC 1.1.99.5.) and tetrazolium oxidoreductase (NADH, ES 1.6.99.3.). The activities of NADH and GPOX were found to decrease, a decrease being somewhat milder in MAOx, at a high infection dose of *I. suis* oocysts (750 000 oocysts), in comparison with the control, already on the first day after infection (DAI). The SDH levels did not change. In piglets infected by a low infection dose of *I. suis* oocysts a double marked decrease (negative to slightly positive finding) was recorded in the period from the third to the eighth day after infection (DAI). A similar pattern with a longer time interval between the decreases was observed in GPOX (4th to 11th day after infection). The findings of SDH and MAOx activities were different. The SDH activity is maintained at the same level (++) for the whole period of investigation and there occurs a decrease (+) only on the 9th day after infection, persisting until 11 DAI. The MAOx activity and its change correspond to the SDH activity; the difference being that in the second group the starting level is high (+++) and on the eleventh day after infection it is low or medium (0—++), in comparison with the standard. This variability is discernible from 8th DAI.

tetrazolium reductases; energy metabolism; enterocyte differentiation

KUDWEIS, M. — LOJDA, Z. — VÍTOVEC, J. — KOUDELA, B. (Parasitologisches Institut der Tschechoslowakischen Akademie der Wissenschaften, České Budějovice; Laboratorium für Histochemie der Medizinischen Fakultät der Karlsuniversität, Praha): *Aktivität ausgewählter Dehydrogenasen und der Monoaminooxidase im Dünndarm gnotobiotischer, durch Kokzidien Isospora suis infizierter Ferkel*. Veter. Med. (Praha), 34, 1989 (5) : 287-296.

Im Dünndarm von 16, einen Tag nach der Geburt durch Kokzidien *Isospora suis* infizierten gnotobiotischen Ferkeln untersuchten wir die Aktivität ausgewählter Dehydrogenasen und der Monoaminooxidase (O₂ Oxidoreduktase, MAOx, EC 1.4.3.4.). Unter den Dehydrogenasen orientierten wir uns auf die Sukzinat-Dehydrogenase (SDH, EC 1.3.99.1.), die Glycerin-3-phosphat-dehydrogenase (Glycerin-3-phosphat : Menadion-oxidoreduktase, GPOX, EC 1.1.99.5.) und die Tetrazolium-Oxidoreduktase (NADH, EC 1.6.99.3.). Wir stellten fest, daß bei einer hohen Infektionsdosis von Oozyten *I. suis* (750 000 Oozysten) im Vergleich mit der Kontrolle am ersten Tag nach der Infektion (weiter p. i.) die Aktivität der NADH und GPOX und mäßiger die der MAOx zurückgeht. Das SDH-Niveau bleibt unverändert. Bei den mit einer niedrigen Infektionsdosis der Oozysten *I. suis* (100 000 Oozysten) infizierten Ferkeln machte sich bei der NADH-Aktivität zweierlei markante Senkung (negativer bis schwach positiver Befund) im Zeitraum zwischen dem dritten bis achten Tag p. i. bemerkbar. Ein analoges Bild, mit längerem Zeitintervall zwischen den Senkungen, stellten wir bei GPOX (am 4.—11. Tag p. i.) fest. Bei SDH und MAOx war der Befund anders. Die SDH hielt ihre Aktivität während der ganzen Beobachtungszeit auf unverändertem Niveau aufrecht (++) und erst am neunten Tag p. i. war seine Senkung (+), die bis zum 11. Tag p. i. überdauerte, bemerkbar. Die MAOx-Aktivität und ihre Änderung entspricht der SDH-Aktivität, der Unterschied beruht jedoch darin, daß bei der zweiten Gruppe ein hohes Anfangsniveau (+++) zu verzeichnen ist, am 11. Tag p. i. ist dann im Vergleich mit der Norm die Aktivität schwach bzw. mittelmäßig (0—++). Diese Unbeständigkeit macht sich bereits vom achten Tag p. i. an bemerkbar.

Tetrazoliumreduktasen; energetischer Stoffwechsel; Enterozytendifferenzierung

Adresy autorů:

MVDr. Miloš Kudweis, MVDr. Jiří Vítovec, CSc., MVDr. Břetislav Koudela, CSc., Parazitologický ústav ČSAV, Branišovská 31, 370 05 České Budějovice
Prof. MUDr. Zdeněk Lojda, DrSc., člen koresp. ČSAV, Laboratoř pro histochemii, lékařská fakulta UK, Studničkova 2, 128 00 Praha 2

OBSAH ŤAŽKÝCH KOVŮ V PEČENI OVIEC PO EXPERIMENTÁLNE VYVOLANEJ INTOXIKÁCIÍ OXIDOM MEĎNATÝM Z PRIEMYSELNEJ EMISIE

L. Vrzgula, J. Bíreš, A. Hojerová, N. Vrzgulová

VRZGULA, L. — BÍREŠ, J. — HOJEROVÁ, A. — VRZGULOVÁ, N. (Vysoká škola veterinárská, Košice; Ústav experimentálnej veterinárnej medicíny, Košice; Ústredná veterinárna nemocnica, Košice): *Obsah ťažkých kovov v pečeni oviec po experimentálnej vyvolanej intoxikácii oxidom meďnatým z priemyselnej emisie*. Veter. Med. (Praha), 34, 1989 (5) : 297-306.

Sledovali sme dĺžku života a kumuláciu ťažkých kovov v pečeni 12 bahníc plemena zošlachtená valaška v závislosti od skrmovania emisie zo závodu na výrobu medi. Celkový príjem medi, železa, zinku, arzenu, kadmia a olova činil 466,8; 1253,93; 111,67; 34,75; 0,091; 2,13 mg na pokusné zviera a deň. Priemerná dĺžka života bahníc experimentálnej skupiny bola 77 dní. Rozdiel medzi prvým a posledným zvieraťom uhynutým na intoxikáciu meďou bol 18 dní. Koncentrácia medi v pečeni oviec uhynutých na otravu týmto kovom ($2138,28 \pm 1090,96 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ v sušine) bola oproti kontrole preukazne vyššia ($p < 0,01$) ($212,9 \pm 58,33 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ sušiny). V priebehu sledovania sa potvrdila priama závislosť medzi hladinou medi v pečeni a dĺžkou života zvieraťa v experimente. Obsah železa a zinku v pečeni pokusných zvierat sa pohyboval v referenčnom rozpätí, pričom rozdiel zinku bol v porovnaní s kontrolou štatisticky významný ($p < 0,01$). Príjem emisie zo závodu na výrobu medi významne zvýšil koncentráciu arzenu a olova v pečeni pokusných zvierat ($p < 0,01$) oproti kontrolnej skupine. Množstvo kadmia v pečeni experimentálnych bahníc bolo $0,304 \pm 0,22 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ a u kontrolných bahníc $0,285 \pm 0,10 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ v sušine, pričom sa nezistila preukazná významnosť.

priemyselný exhalát; intoxikácia meďou; pečeň

Dosiaľ existujú rozdielne údaje o maximálne prípustnom množstve medi v kŕmnej dávke oviec, ale i o jej koncentrácii v pečeni oviec uhynutých na chronickú intoxikáciu meďou.

Všeobecne sa udáva druhová citlivosť oviec na zvýšený diétny príjem medi, pričom chronická otrava meďou bola popísaná už na pastvinách, z ktorých tráva obsahovala meď v sušine v množstve 10 až $20 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ (Bull, 1949). Obdobne sa zistila veková i plemenná predispozícia oviec k intoxikácii meďou (Solí, 1980; Schee a i., 1983). Toxická fáza otravy sa pozorovala už pri množstve medi $337,25 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ sušiny pečene (Chrobocinská a i., 1979).

U doteraz popísaných chronických intoxikácií oviec meďou sa hodnotila predovšetkým jej koncentrácia v pečeni. Solí (1980) predpokladá pri kumulatívnej otrave meďou u oviec najvýznamnejšie interakčné vzťahy medzi meďou, molybdénom a sírou. Sileo a Bayer (1985) doporučujú v pečeni zvierat žijúcich pri závode na výrobu medi a zinku stanovovať meď, zinok, olovo a kadmium. V Chile Parada a i. (1987) zistili v pečeni hovädzieho dobytku uhynutého v oblasti priemyselného centra na spracovanie medi najvyššiu závislosť u medi, zinku, olova a kadmia. V Nórsku Froslioe a i. (1985) doporučili na zá-

klade obsahu pevných exhalátov ťažkých kovov v ovzduší pri centre na výrobu medi a zinku sledovať v pečeni jahniat meď, zinok, arzén, selén, molybdén, kadmium, ortuť a olovo. Sawicka — Kapusta a i. [1986] predpokladajú v priemyselne exponovaných oblastiach determinovať v biologickom materiáli hlavne kadmium, olovo, meď, zinok a železo. Vrzgula a Bíreš [1987] udávajú v pečeni oviec uhynutých pri závode na výrobu medi okrem medi aj množstvá železa, zinku, arzénu, kadmia a olova.

Z uvedeného vyplýva, že i keď pri kumulatívnych intoxikáciách meďou v pečeni dominantne vystupuje koncentrácia medi, predsa sa doporučuje sledovať aj ostatné ťažké kovy. Obsah železa, zinku, molybdénu, síry, kadmia, arzénu a olova v pečeni oviec poukáže na možné interakčné vzťahy ťažkých kovov pri vývoji otravy meďou (Bíreš, 1987).

Cieľom práce bolo zistiť dĺžku života a kumuláciu ťažkých kovov v pečeni bahníc v závislosti od skrmovania exhalátu s obsahom oxidu meďnatého zo závodu na výrobu medi.

MATERIÁL A METÓDA

Sledovania prebehli počas rokov 1986 až 1987 na klinike Katedry vnútorných chorôb prežúvavcov a ošipaných u 12 bahníc plemena zošlachtená valaška vo veku 1,5 roka.

Pokusné zvieratá (7 kusov) dostávali denne po raňajšom nakŕmení perorálne (naliatím s 0,5 l vody) exhalát zo závodu na výrobu medi. Denný príjem ťažkých kovov z exhalátu na pokusné zviera podľa východzej živej hmotnosti udáva tab. I.

I. Príjem ťažkých kovov z emisie na kus a deň (mg) — The intake of heavy metals from pollutants per head/day (mg)

Živá hmotnosť	Cu	Fe	Zn	As	Cd	Pb
43,75 ± 6,56	437,5	384,2	105,2	29,15	0,041	1,62

Exhalát bol podávaný až do úhynu zvierata.

Kontrolnú skupinu tvorilo päť bahníc s počiatočnou živou hmotnosťou 43,6 ± 5,02 kg.

Kŕmenie a ošetrovanie pokusnej a kontrolnej skupiny bolo rovnaké. Denný príjem sledovaných prvkov z krmiva u obidvoch skupín zvierat uvádza tab. II.

II. Príjem ťažkých kovov v diéte na kus a deň (mg) — The intake of heavy metals in diet per head/day (mg)

Denná spotreba	Cu	Fe	Zn	As	Cd	Pb
Lúčne seno (1,50 kg)	9,37	750,00	0,87	4,45	0,043	0,420
KZ BAK (0,20 kg)	17,50	118,78	4,38	1,15	0,0072	0,090
Pitná voda (5 litrov)	2,43	0,954	1,22	stopy	stopy	stopy
Spolu	29,30	869,32	6,47	5,60	0,050	0,510

Celkový príjem ťažkých kovov z exhalátu a krmiva u pokusných bahníc je zaznamenaný v tab. III.

III. Celkový príjem ťažkých kovov na pokusné zviera a deň (mg) — Total intake of heavy metals per head/day (mg)

Zdroj príjmu	Cu	Fe	Zn	As	Cd	Pb
Krmivo	29,3	869,73	6,47	5,60	0,050	0,51
Exhalát	437,5	384,20	105,20	29,15	0,041	1,62
Spolu	466,8	1253,93	111,67	34,75	0,091	2,13

Vzorky pečenej tkaniva o hmotnosti 15 až 20 g sa získali pri pitve zvierat z pravého pečenej laloku.

Meď, železo, zinok, arzén, kadmium a olovo boli stanovené atómovou absorpčnou spektrofotometriou na prístroji Perkin Elmer 306. Príprava vzoriek pečene spočívala v sušení, mineralizácii mokrou cestou a spaľovaní. Obsah železa, medi a zinku sa stanovil plameňovou metódou, obsah arzénu, kadmia a olova za použitia grafitovej kvety HGA 500. Koncentrácia ťažkých kovov v pečeni sa udáva v mg. kg^{-1} sušiny.

Získané výsledky boli spracované metódou stredných hodnôt a testovania významnosti rozdielov (Roth a i., 1962).

VÝSLEDKY A DISKUSIA

Dĺžka života pokusných bahníc je uvedená v tab. IV.

IV. Dĺžka života pokusných bahníc — The life span of experimental ewes

Označenie bahnice	19	17	12	5	2	3	14	
Počet dní	79	65	81	69	84	78	83	$\bar{x}$ 77 $\pm$ 6,70

Prvá bahnica uhynula v 65. dni. Najdlhšie v pokuse pretrvávalo zviera č. 2 (84 dní). Priemerná dĺžka života oviec pokusnej skupiny bola 77 dní.

Tait a i. (1971) zaznamenali kumulatívnu otravu meďou u oviec po 16 týždňoch skrmovania kŕmnej dávky s obsahom medi 27 mg kg^{-1} v sušine. Príjem medi 20 mg kg^{-1} v sušine krmiva vyvolal intoxikáciu v 20. týždni (Adams a i., 1969).

Dávku medi 466,8 mg na kus a deň znášali bahnice v našom experimente v priemere 77 dní. Rozdiel medzi prvým a posledným zvieraťom uhynutým na intoxikáciu bol 18 dní, čo poukazuje na značnú individuálnu predispozíciu.

Obsah medi, železa, zinku, kadmia, arzénu a olova v pečeni uvádzajú tab. V. a VI.

Koncentrácia medi zaznamenaná u oviec uhynutých na klinické príznaky intoxikácie bola oproti kontrolným bahniciam na konci experimentu štatisticky významná na hladine významnosti $p < 0,01$ ($2138,28 \pm 1090,96$, resp. $212,9 \pm 58,33$ mg kg^{-1} sušiny). Rozptyl hodnôt medi u pokusnej skupiny kolísal od 1083 do 4562 mg kg^{-1} a u kontroly od 131,2 do 284,4 mg kg^{-1} sušiny. V priebehu sledovania sa nepotvrdila priama závislosť medzi hladinou medi v pečeni a dĺžkou života zvieraťa.

V. Koncentrácia ťažkých kovov v pečeni pokusných oviec (mg.kg⁻¹ sušiny) — Concentrations of heavy metals in the liver of experimental ewes (mg per kg in dry matter)

Označenie zvieráťa	Cu	Fe	Zn	Cd	As	Pb
19	2187	421,9	125,0	0,057	2,44	2,60
17	1268	943,7	143,7	0,368	3,77	5,41
12	4562	659,4	237,5	0,658	10,60	5,10
5	2519	218,7	168,7	0,183	9,09	3,89
2	1740	268,7	143,7	0,599	5,54	4,05
3	1083	234,4	134,4	0,076	5,37	5,83
14	1609	434,2	139,0	0,191	14,20	1,21
$\bar{x}$	2138,28 ^a	454,42	156,0 ^a	0,304	7,29 ^a	4,01 ^a
$\pm s$	1090,96	245,34	35,50	0,220	3,86	1,52

VI. Koncentrácia ťažkých kovov v pečeni kontrolných oviec (mg.kg⁻¹ sušiny) — Concentrations of heavy metals in the liver of control ewes (mg per kg in dry matter)

Označenie zvieráťa	Cu	Fe	Zn	Cd	As	Pb
10	131,2	334,4	93,7	0,244	1,100	0,192
1	171,9	218,7	112,5	0,277	0,808	0,301
18	271,9	400,0	112,5	0,348	0,872	0,238
6	284,4	231,2	78,1	0,429	0,843	0,142
7	205,1	318,7	112,5	0,131	1,050	0,110
$\bar{x}$	212,9	300,58	101,86	0,285	0,934	0,916
$\pm s$	58,326	67,637	13,933	0,100	0,117	0,067

^a = $p < 0,01$

raťa v experimente. Podľa autorov Hidiroglou a i. (1984) sa koncentrácia medi v pečeni vyššia ako 800 mg.kg⁻¹ sušiny spája s toxickou fázou intoxikácie meďou. MacLachlan a Johnston (1982) zistili v pečeni oviec uhynutých na chronickú otravu meďou obsah tohto kovu 1378,7 až 2281 mg.kg⁻¹ sušiny. Ross (1983) zaznamenal v pečeni jahniat odporazených v hemolytickej kríze meď v množstve 350 mg.kg⁻¹ čerstvého tkaniva, čo predstavovalo 1600 mg.kg⁻¹ sušiny. Súčasne tento autor považuje hladinu medi 1000 mg.kg⁻¹ za dostatočnú pre potvrdenie otravy. Bremner a i. (1976) prirovnávajú obsah medi v pečeni jahniat s príznakmi intoxikácie 394 mg.kg⁻¹ čerstvého tkaniva k 1300 mg.kg⁻¹ sušiny.

Po skrmovaní exhalátu zo závodu na výrobu medi priemerná koncentrácia medi v pečeni oviec v hemolytickej kríze (117,37 mg.kg⁻¹ čerstvého tkaniva) zodpovedala 2138,28 mg.kg⁻¹ sušiny (Vrzgula a Bíreš, nepublikované). Súčasne hladina medi zaznamenaná v pečeni uhynutých pokusných oviec bola oproti referenčným hodnotám,

ktoré zistili Underwood (1977), Vrzgula a i. (1982), Fletcher (1983), Bíreš (1986), štvornásobne až sedemnásobne vyššia a v porovnaní s kontrolnými zvieratmi desaťkrát vyššia.

Buckley a Tait (1981) pozorovali u jahniat s diétnym príjmom medi 37,3 mg . kg⁻¹ sušiny úhyn na intoxikáciu v 77. dni, pričom v pečeni ju zaznamenali v množstve 1108 mg . kg⁻¹ sušiny. Príjem medi z exhalátu (437,5 mg na kus a deň) a z diéty (29,3 mg na kus a deň) vyvolal úhyn pokusných zvierat taktiež v 77. dni, ale kumulované množstvo tohto kovu v pečeni bolo v porovnaní s predchádzajúcim experimentom o 100 % vyššie.

Vrzgula a Bíreš (1987) zistili v pečeni oviec uhynutých na hospodárstvach vzdialených 300 m až 10 km od závodu na výrobu medi, z ktorého pochádza aj exhalát použitý v experimente, 1762,3 až 4120 mg medi na kilogram sušiny. Bíreš (1986) v pečeni desiatich oviec z oblasti priemyselného centra na výrobu medi zaznamenal priemerne 1919,3 mg uvedeného kovu na kilogram sušiny. Obdobne Vrzgula a i. (1988) udávajú v pečeni bahníc uhynutých v priebehu rokov 1983 až 1987 v rovnakej lokalite rozptyl priemerných hodnôt medi 937,15 až 3245,9 mg . kg⁻¹ sušiny. Najvyššia koncentrácia (4120 ± 3688 mg . kg⁻¹ sušiny) však bola zaznamenaná v pečeni oviec na hospodárstve vzdialenom od priemyselného centra 300 m (Vrzgula a i., 1984).

Nami zaznamenaná priemerná koncentrácia medi v pečeni pokusných oviec na konci experimentu bola polovičná (2138,28 mg . kg⁻¹ sušiny). Rozdiel pravdepodobne ovplyvnila dĺžka podávania exhalátu ako i množstvo prijatej medi. Vrzgula a i. (1984) udávajú v blízkosti výrobného závodu príjem 83 až 124,64 mg medi na kus a deň a vek bahníc dva až štyri roky.

Rozptyl železa v pečeni pokusných bahníc činil 218,7 až 943,7 mg . kg⁻¹ a kontrolných zvierat 218,7 až 400 mg . kg⁻¹ sušiny. Koncentrácia železa v pečeni experimentálnych zvierat bola 454,42 ± 245,34 mg . kg⁻¹ a kontroly 300,58 ± 67,64 mg . kg⁻¹ sušiny, pričom rozdiel medzi obidvo ma skupinami nebol štatisticky významný.

Nepreukazné rozdiely v množstve železa v pečeni medzi skupinou bahníc s diétnym príjmom 8 mg . kg⁻¹ sušiny a zvieratmi s dávkou medi 40 mg . kg⁻¹ sušiny krmiva potvrdili tiež Rosa a i. (1986). Jones a i. (1984) evidovali v pečeni oviec uhynutých na intoxikáciu meďou obsah železa 235 ± 39,6 mg . kg⁻¹ sušiny a v pečeni kontroly 138,8 ± 17,8 mg . kg⁻¹. V oblasti závodu na výrobu medi udávajú Vrzgula a Bíreš (1987) v pečeni uhynutých, resp. naliehavo zabitých 39 oviec hladinu železa 836,1 až 1786,8 mg . kg⁻¹ sušiny. Vrzgula a i. (1988) zistili rozptyl priemerných hodnôt železa v pečeni uhynutých bahníc pri priemyselnom centre na výrobu medi počas rokov 1983 až 1987 668,82 až 1100,4 mg . kg⁻¹ sušiny.

Príjem 869,73 mg železa na kus a deň u kontrolných bahníc a 1253,93 mg u pokusných zvierat sa v priebehu 77 dní neprejavil na štatisticky významnom rozdieli koncentrácie tohto kovu medzi obidvo ma skupinami. Obsah medi v pečeni bahníc zistený na konci experimentu tak u kontroly, ako aj u pokusu, sa pohyboval v rámci referenčných hodnôt, ako ich udávajú Underwood (1977) aj Allen a i. (1983).

Množstvo zinku v pečeni pokusných oviec bolo oproti kontrolnej skupine preukazne vyššie ($p < 0,01$). Individuálne hladiny zinku v pe-

čení experimentálnych zvierat sa pohybovali od 125,0 do 237,5 mg . kg⁻¹ sušiny.

Barge a Mazzocco (1982) zistili u oviec s adekvátnym príjmom zinku v pečeni $128,25 \pm 13,78$ mg . kg⁻¹ sušiny. Kirk a i. (1985) zaznamenali u jahniat s diétnym príjmom zinku 78,9 mg . kg⁻¹ sušiny priemerné množstvo tohto kovu v pečeni 142 mg . kg⁻¹ sušiny. Olson a i. (1984) považujú u oviec za referenčné hodnoty zinku v pečeni 122,3 až 220,7 mg . kg⁻¹ sušiny.

V našom experimente sa príjem 111,67 mg zinku u pokusnej skupiny a 6,47 mg na kus a deň u kontroly potvrdil signifikantne vyšším obsahom v pečeni pokusných bahníc. Súčasne sa koncentrácia zinku v pečeni experimentálnych zvierat podľa údajov, ktoré uviedli Underwood (1977) a Bíreš (1986), pohybovala v referenčnom rozpätí. Taktiež sa zhodovala s hodnotami, ktoré v pečeni bahníc uhynutých na intoxikáciu oxidom meďnatým z priemyselného exhalátu udáva Bíreš (1986) — $174,8 \pm 101,42$ mg zinku na kilogram sušiny. Obdobne Vrzgula a Bíreš (1987) zistili v pečeni bahníc uhynutých na hospodárstvach vzdialených od závodu na výrobu medi 300 m až 10 km tento kov v množstve od 120,3 do 206,0 mg . kg⁻¹ sušiny. Sileo a Beyer (1985) evidovali v pečeni jeleňov z lokalít vzdialených od priemyselného centra na výrobu zinku 8 až 100 km obsah zinku 132 až 256 mg . kg⁻¹ sušiny. Allen a i. (1983) zaznamenali v pečeni oviec s diétnym príjmom zinku 800 až 2000 mg . kg⁻¹ sušiny pri úhyne v 49. až 72. dni 1671 mg . kg⁻¹ sušiny. Allen a Masters (1985) evidovali u oviec s príjmom zinku 2000 až 3000 mg . kg⁻¹ sušiny počas dvoch až štrnástich týždňov v pečeni priemerný obsah tohto kovu 1725,7 mg . kg⁻¹ sušiny. V našom pokuse sa pri danom diétnom príjme v priebehu 77 dní koncentrácia zinku v pečeni pohybovala v rámci fyziologických hraníc.

Množstvo kadmia v pečeni pokusných oviec bolo $0,304 \pm 0,22$ mg . kg⁻¹ a kontroly $0,285 \pm 0,10$ mg . kg⁻¹ sušiny, pričom sa nepotvrdila preukazná závislosť. Rozptyl hodnôt kadmia v pečeni experimentálnych zvierat činil 0,057 až 0,658 mg . kg⁻¹ a u kontrolnej skupiny 0,131 až 0,429 mg . kg⁻¹ sušiny.

Vrzgula a Bíreš (1987) udávajú v pečeni 30 oviec, ktoré uhynuli na intoxikáciu meďou, množstvo kadmia $0,317 \pm 0,089$ mg . kg⁻¹ sušiny. Sullivan a i. (1984) zaznamenali u experimentálnych zvierat zafažených ¹⁰⁹Cd v pečeni obsah kadmia $0,361 \pm 0,077$ mg . kg⁻¹ sušiny. Wentink a i. (1985) udávajú v pečeni zvierat vo veku 14 až 18 mesiacov pri priemyselnom centre na spracovanie zinku 0,1 až 0,3 mg kadmia v kilograme sušiny. Froslie a i. (1984) zistili v ôsmich priemyselných lokalitách Nórska v pečeni jeleňov obsah kadmia 0,04 až 1,32 mg . kg⁻¹ čerstvého tkaniva. V Austrálii Koh a Judson (1986) zaznamenali v pečeni 73 oviec chovaných 6 km od závodu na výrobu olova a zinku 1,62 mg . kg⁻¹ a v chove vzdialenom 40 km 0,02 mg kadmia na kilogram sušiny. Sileo a Beyer (1985) pozorovali vo vzdialenosti 8 km od závodu na výrobu zinku v pečeni jeleňov, u ktorých histologicky potvrdili poškodenie obličiek ťažkými kovmi, obsah kadmia 6,6 až 20,1 mg . kg⁻¹ sušiny. Bencko a i. (1984) uviedli, že koncentráciu kadmia nižšiu ako 30 mg . kg⁻¹ čerstvého tkaniva dokáže pečenie vylúčiť naviazaním na metallothioneín, ale pri prekročení množstva 40 mg . kg⁻¹ čerstvého tkaniva sa objavujú klinické príznaky toxicity.

Diétny príjem kadmia u kontrolných, ale i u pokusných bahníc (0,05, resp. 0,091 mg.kg⁻¹ na kus a deň) neprekračoval najvyššie prípustné množstvo v krmivách (0,3 mg.kg⁻¹ čerstvého tkaniva) (Právna úprava veterinárnej starostlivosti, 1988). Súčasne hladiny kadmia v pečeni experimentálnych zvierat neprevyšovali koncentrácie tohto kovu, ktoré zistili Underwood (1977) a Piskač a Kačmár (1985).

Obsah arzenu v pečeni pokusných oviec bol $7,29 \pm 3,86$ mg.kg⁻¹ a u kontrolných zvierat $0,934 \pm 0,117$ mg.kg⁻¹ sušiny, pričom sa súčasne potvrdila signifikantná závislosť ($p < 0,01$). Najnižšia hladina zaznamenaná u experimentálnej skupiny bola $2,44$ mg.kg⁻¹ a u kontroly $0,808$ mg.kg⁻¹, najvyššia $14,2$, resp. $1,10$ mg.kg⁻¹ sušiny.

Podľa údajov, ktoré uviedli Piskač a Kačmár (1985), možno o intoxikácii arzénom uvažovať, keď sa obsah arzenu v pečeni pohybuje od $2,5$ do 10 mg.kg⁻¹ sušiny. Thatcher a i. (1985) zaznamenali u zvierat s klinickými príznakmi arzenovej otravy v pečeni $13,9$ mg arzenu na kilogram čerstvého tkaniva. V Austrálii Robertson a i. (1984) udávajú v súvislosti s intoxikáciou arzénom v pečeni 15 mg.kg⁻¹ sušiny, pritom podľa týchto autorov by obsah tohto kovu v pečeni nemal prekročiť 1 mg.kg⁻¹ sušiny. Froslie a i. (1984) v priemyselných oblastiach Nórska zistili v pečeni jeleňov množstvo arzenu $0,8$ až 46 mg.kg⁻¹ čerstvého tkaniva. Vrzgula a Bíreš (1987) evidovali v pečeni 30 oviec z oblasti závodu na výrobu medi obsah arzenu $1,354 \pm 0,281$ mg.kg⁻¹ sušiny.

Diétny príjem arzenu u experimentálnych zvierat ($34,75$ mg na kus a deň) a kontroly ($5,6$ mg na kus a deň) prevyšil najvyššie prípustné množstvo tohto kovu v krmivách ($2,0$ mg.kg⁻¹ čerstvého krmiva) (Právna úprava veterinárnej starostlivosti, 1988), čo sa prejavilo na signifikantnom rozdieli koncentrácie arzenu v pečeni medzi pokusnými a kontrolnými bahnícami ($p < 0,01$). Súčasne však jeho hladina v pečeni pokusných zvierat — $7,29 \pm 3,86$ mg.kg⁻¹ sušiny — nevyvolala príznaky otravy.

Koncentrácia olova v pečeni kontrolných bahníc ($0,196 \pm 0,067$ mg.kg⁻¹ sušiny) bola v porovnaní s koncentráciou u experimentálnej skupiny ($4,01 \pm 1,52$ mg.kg⁻¹ sušiny) štatisticky nižšia ($p < 0,01$). Rozptyl hodnôt olova v pečeni pokusných zvierat činil $1,21$ až $5,83$ mg.kg⁻¹ a u kontroly $0,110$ až $0,301$ mg.kg⁻¹ sušiny.

Koh a Judson (1986) zaznamenali v Austrálii u oviec pasúcich sa 6 km od závodu na výrobu olova a zinku v pečeni obsah olova $4,16$ mg.kg⁻¹ a u oviec 30 km od priemyselného centra $0,43$ mg.kg⁻¹ sušiny. Ani u jednej skupiny zvierat sa pritom nepozorovali príznaky otravy. V Pensylvánii koncentrácia olova v pečeni jeleňov chovaných vo vzdialenosti 8 až 100 km od závodu na výrobu zinku kolísala od $0,1$ do $1,8$ mg.kg⁻¹ sušiny (Sileo a Beyer, 1985). Parada a i. (1987) zistili v pečeni výkrmového hovädzieho dobytku v oblasti priemyselného závodu na výrobu medi $25,0$ až $28,5$ mg olova na kilogram sušiny. Vrzgula a Bíreš (1987) udávajú v pečeni 30 oviec bez klinických príznakov intoxikácie olovom a ktoré súčasne pochádzali z blízkosti exponovanej oblasti na výrobu medi množstvo olova $3,902 \pm 2,82$ mg.kg⁻¹ sušiny. Froslie a i. (1984) zaznamenali v ôsmich priemyselných oblastiach Nórska v pečeni divokožijúcej zveri obsah olova $0,07$ až $1,8$ mg.kg⁻¹ čerstvého tkaniva. Podľa Underwooda (1977) diétny príjem olo-

va vyšší ako 3 mg na deň pre ovcu a koncentrácia presahujúca 10 mg . kg⁻¹ v sušine pečeni je diagnosticky významná pre otravu. Piskač a Kačmár (1985) považujú hornú hranicu tolerancie olova v krmive prežúvavcov 250 mg . kg⁻¹ sušiny za predpokladu skrmovania maximálne jeden týždeň. K intoxikácii dochádza podľa týchto autorov pri množstve olova v pečeni 4 mg . kg⁻¹ sušiny a vyššom.

V našom experimente bol diétny príjem olova u pokusných oviec podstatne nižší (2,13 mg na kus a deň). Koncentrácia tohto kovu v pečeni experimentálnych bahníc (4,01 ± 1,52 mg . kg⁻¹ v sušine) však nebola spojená s klinickými prejavmi intoxikácie olovom.

V experimente sa zistilo, že diétny príjem 466,8 mg medi na kus a deň bahnice znášali 77 ± 6,70 dní. Úhyn zvierat na klinické príznaky intoxikácie medou, tak ako ich v blízkosti závodu na výrobu medi popisali Vrzgula a i. (1986), sa objavili pri množstve medi 2138,28 ± 1090,96 mg . kg⁻¹ sušiny pečene. Preukazne vyššie množstvá zinku, arzenu a olova v pečeni experimentálnych zvierat oproti kontrole poukazujú na diagnostický význam ich stanovenia, ako i na možné interakčné vzťahy kovov v pečeni oviec žijúcich v oblasti závodu na výrobu medi.

Literatúra

- ADAMSON, A. H. — VALKS, D. A. — APPLETON, M. A. — SHAW, B. W.: Copper toxicosis in housed lambs. *Veter. Rec.*, 85, 1969, s. 368-369.
- ALLEN, J. G. — MASTERS, H. G.: Renal lesions and tissue concentrations of Zn, Cu, Fe and Mn in experimentally zinc intoxicated sheep. *Res. veter. Sci.*, 39, 1985, s. 249-251.
- ALLEN, J. G. — MASTERS, H. G. — PEET, R. L. — MULLINS, K. R. — LEWIS, R. D. — SKIRROW, S. Z. — FRY, J.: Zinc toxicity in ruminants. *J. comp. Path.*, 93, 1983, s. 363-377.
- BARGE, M. T. — MAZZOCCO, P.: The functional activity of zinc in the feeding of ruminants of economic importance — 2nd Part — Experimental deficiency by full-grown ewes. *Z. Tierphysiol. Tierernähr. Futtermittelkde.*, 48, 1982, s. 36-46.
- BENCKO, V. — CIKRT, M. — LENER, J.: Toxické kovy v pracovnom a životnom prostredí človeka. Praha, Avicenum 1984.
- BÍREŠ, J.: Riešenie deficiencie zinku pri prežúvavcoch a ošípaných injekčným prípravkom. [Kandidátska dizertačná práca.] Košice 1986. — Vysoká škola veterinárska.
- BÍREŠ, J.: Interakčné vzťahy Cu a Zn u oviec parenterálne ošetrovaných oxidom zinočnatým. *Veter. Med. (Praha)*, 32, 1987, s. 105-111.
- BREMNER, I. — YOUNG, B. W. — MILLS, C. F.: Protective effect of zinc supplementation against copper toxicosis in sheep. *Brit. J. Nutr.*, 36, 1976, s. 551-561.
- BUCKLEY, W. T. — TAIT, R. M.: Chronic copper toxicity: a survey of blood constituents responses. *Can. J. anim. Sci.*, 61, 1981, s. 613-624.
- BULL, L. B.: Chronic copper poisoning in Australia. 14th Internat. Veter. Congr., London, 3, 1949, s. 39-42.
- FETCHER, A.: Liver diseases of sheep and goats. *Veter. Clin. North Amer.: Large anim. Pract.*, 5, 1983, s. 525-538.
- FROSLIE, A. — NORHEIM, G. — RAMBAEK, J. P. — STEINNERS, E.: Levels of trace elements in liver from norwegian moose, reindeer and deer in relation to atmospheric deposition. *Acta veter. scand.*, 25, 1984, s. 333-345.
- FROSLIE, A. — NORHEIM, G. — RAMBAEK, J. P. — STEINNERS, E.: Heavy metals in lamb liver: Contribution from atmospheric fallout. *Bull. envir. Contam. Toxicol.*, 34, 1985, s. 175-182.
- HIDIROGLOU, M. — HEANEY, D. P. — HARTIN, K. E.: Copper poisoning in a flock of sheep. Copper extraction patterns after treatment with Mo and S or penicillamine. *Can. veter. J.*, 25, 1984, s. 377-382.
- CHROBOCINSKA, M. — DZIERZAWSKI, A. — ZMUDSKI, J. — LUBIARZ, J.: Przypadek przewlekłego zatrucia miedzią u owiec. *Med. wet.*, 35, 1979, s. 164-165.
- JONES, H. B. — GOONERATNE, S. R. — HOWELL, J. Mc C.: X-ray microanalysis

- of liver and kidney in copper leaded sheep with and without thiomolybdate administration. *Res. veter. Sci.*, 37, 1984, s. 273-282.
- KIRK, D. J. — GREENE, L. W. — SCHELLING, G. T. — BYERS, F. M.: Effects of monensin on Mg, Ca, P and Zn metabolism and tissue concentrations in lambs. *J. anim. Sci.*, 60, 1985, s. 1485-1490.
- KOH, T. S. — JUDSON, G. J.: Trace elements in sheep grazing near a lead-zinc smelting complex at Pore, Pirie, South Australia. *Bull. envir. Contam. Toxicol.*, 37, 1986, s. 87-95.
- MACLACHLAN, G. K. — JOHNSTON, W. S.: Copper poisoning in sheep from North Ronaldsday maintained on a diet of terrestrial herbage. *Veter. Rec.*, 25, 1982, s. 299-301.
- OLSON, K. J. — FONTENOT, J. P. — FAILLA, M. L.: Influence of molybdenum and sulfate supplementation and withdrawal of diets containing high copper broiler litter on tissue copper levels in ewes. *J. anim. Sci.*, 59, 1984, s. 210-216.
- PARADA, R. — GONZALES, S. — BERQUIST, E.: Industrial pollution with copper and other heavy metals in a beef cattle ranch. *Veter. hum. Toxicol.*, 29, 1987, s. 122-126.
- PISKAČ, A. — KAČMÁR, P.: Veterinární toxikologie. Praha, Státní zemědělské nakladatelství 1985, s. 70.
- Právna úprava veterinárnej starostlivosti. Bratislava, 1988, príloha, s. 1-9.
- ROBERTSON, I. D. — HARMS, W. E. — KETTERER, P. J.: Accidental arsenical toxicity of cattle. *Austral. veter. J.*, 61, 1984, s. 110.
- ROSA, I. V. — AMMERMAN, C. B. — HENRY, P. R.: Interrelationships of dietary Cu, Zn and Fe on performance and tissue mineral concentration in sheep. *Nutr. Rep. Inst.*, 34, 1986, s. 893-902.
- ROSS, CH. E.: Chronic copper poisoning in lambs. The compendium on continuing education. *Case Rep.*, 5, 1983, s. 599-561.
- ROTH, Z. — JOSÍFKO, M. — MALÝ, V. — TRČKA, V.: Statistické metody v experimentální medicíně. Praha, SZN 1962, s. 172-175.
- SAWICKA-KAPUSTA, K. — KOZŁOWSKI, J. — SOKOŁOWSKA, T.: Heavy metals in tits from polluted forests in southern Poland. *Envir. Poll.*, 42, 1986, s. 297-310.
- SCHEE, W. — ASSEM, G. H. — BERG, R.: Breed differences in sheep with respect to the interaction between zinc and the accumulation of copper in the liver. *Veter. Quart.*, 5, 1983, s. 171-174.
- SILEO, L. — BEYER, W. N.: Heavy metals in white-tailed deer living near a zinc smelter in Pennsylvania. *J. Wildl. Dis.*, 21, 1985, s. 289-296.
- SOLI, N. E.: Chronic copper poisoning in sheep. *Nord. Veter. Sci.*, 32, 1980, s. 75-89.
- SULLIVAN, M. F. — MILLER, B. M. — GOEBEL, J. C.: Gastrointestinal absorption of metals (^{51}Cr , ^{65}Zn , ^{95m}Tc , ^{109}Cd , ^{113}Sn , ^{147}Pm and ^{238}Pu) by rats and swine. *Envir. Res.*, 35, 1984, s. 439-453.
- TAIT, R. M. — KRISHNAMURTI, C. R. — GILCHRIST, E. W. — MacDONALD, K.: Chronic copper poisoning in feeder lambs. *Can. veter. J.*, 12, 1971, s. 73-75.
- THATCHER, C. D. — MELDRUM, J. B. — WIKSE, S. E. — WHITTIER, W. D.: Arsenic toxicosis and suspected chromium toxicosis in a herd of cattle. *J. Amer. veter. med. Assoc.*, 187, 1985, s. 179-181.
- UNDERWOOD, J. E.: Trace elements in human and animal nutrition. New York, San Francisco, London, Academic Press 1977.
- VRZGULA, L. a kol.: Poruchy látkového metabolismu hospodárskych zvierat a ich prevencia. Bratislava, Príroda 1982.
- VRZGULA, L. — BÍREŠ, J.: Koncentrácia Cu, Fe, Zn, As, Cd a Pb v parenchymatóznych orgánoch oviec pri priemyselnej otrave meďou. In: Zbor. ŠVS, 20, 1987, s. 41-47.
- VRZGULA, L. — BÍREŠ, J. — KONRÁD, V.: Prvý výskyt priemyselnej intoxikácie meďou pri ovciach — klinika, patológia. *Živoč. Výr.*, 31, 1986, s. 463-468.
- VRZGULA, L. — BÍREŠ, J. — HÚSKA, M. — JENČÍK, F.: Prevencia priemyselnej intoxikácie meďou u oviec molybdenom amónnym a síranom sodným. *Živoč. Výr.*, 33, 1988, s. 609-616.
- VRZGULA, L. — LAZAR, J. — JENČÍK, F. — BÍREŠ, J.: Výskum príčin vysokých strát a ich objasnenie v chove oviec v exponovanej priemyselnej oblasti. [Záverečná správa.] Košice, Vysoká škola veterinárska 1984.
- WENTINK, G. H. — SPIERENBURG, Th. J. — GRAAF, G. J. — EXSEL, A. C. A.: A case of chronic zinc poisoning in calves fed with zinc-contained roughage. *Veter. Quart.*, 7, 1985, s. 153-157.

Došlo dňa 16. 5. 1988

БРЗГУЛА, Л. — БИРЕШ, Й. — ГОЙЕРОВА, А. — ВРЗГУЛОВА, Н. (Ветеринарный институт, Кошице; Институт экспериментальной ветеринарии, Кошице; Центральная ветеринарная больница, Кошице): Содержание тяжелых металлов в печени овец после экспериментально вызванной интоксикации окисью меди из промышленного спада. *Veter. Med. (Praha)*, 34, 1989 (5) : 297-306.

Изучали продолжительность жизни и накопление тяжелых металлов в печени 12 овцематок породы улучшенная валашка в зависимости от скармливания спада из завода, производящего медь. Общее поступление меди, железа, цинка, арсена кадмия и свинца составляло 466,8; 1253,93; 111,67; 34,75; 0,091; 2,13 мг на опытное животное и день. Средняя продолжительность овцематок экспериментальной группы составляла 77 дней. Разница между первым и последним животным, которое погибло от интоксикации медью была 18 дней. Концентрация меди в печени овец, погибших от отравления данным металлом ($2138,28 \pm 1090,96$ мг. кг⁻¹ в сухом веществе) была в противоположность контрольным овцематкам ($212,9 \pm 58,33$ мг. кг⁻¹ в сухом веществе) доказуемо высшая ($p < 0,01$). В ходе наблюдения подтвердилась прямая зависимость между уровнем меди в печени и продолжительностью жизни животного в эксперименте. Содержание железа и цинка в печени опытных животных находилось в интервале сравнения. Разница цинка в сравнении с контролем была статистически значимой ($p < 0,01$). Поступление спада из завода на производство меди сигнификантно увеличило концентрацию арсена и свинца в печени опытных животных ($p < 0,01$) в противоположность контрольной группе. Количество кадмия в печени экспериментальных овцематок составляло $0,304 \pm 0,22$ мг. кг⁻¹ и у контрольных овцематок $0,285 \pm 0,10$ мг. кг⁻¹ в сухом веществе, не установили доказуемую значимость.

промышленный спад; интоксикация медью; печень

VRZGULA, L. — BÍREŠ, J. — HOJEROVÁ, A. — VRZGULOVÁ, N. (University of Veterinary Medicine, Košice; Institute of Experimental Veterinary Medicine, Košice; Central Veterinary Hospital, Košice): *The Content of Heavy Metals in the Liver of Ewes after Experimentally Induced Intoxication by Copper Oxide from Industrial Air Pollution*. *Veter. Med. (Praha)*, 34, 1989 (5) : 297-306.

The life span and cumulation of heavy metals in the liver of 12 ewes of the Improved Wallachian breed were investigated in relation to feeding pollutants from a copper works. The total intake of copper, iron, zinc, arsenic, cadmium and lead was 466.8; 1253.93; 111.67; 34.75; 0.091; 2.13 mg per experimental animal/day, respectively. The average life span of ewes in the experimental group was 77 days. The difference between the first and the last animal which died from copper intoxication was 18 days. The concentration of copper in the liver of sheep who died from intoxication by this metal (2138.28 ± 1090.96 mg. kg⁻¹ in dry matter) was significantly higher ($p < 0.01$) if compared with the control ewes (212.9 ± 58.33 mg. kg⁻¹ in dry matter). In the course of observations no direct dependence between the concentration of copper in the liver and the life span of experimental animals was confirmed. The content of iron and zinc in the liver of experimental animals was within the reference range; the difference in zinc was statistically significant when compared with the control group ($p < 0.01$). The intake of pollutants from the copper works increased significantly the concentration of arsenic and lead in the liver of experimental animals ($p < 0.01$) if compared with the control group. The amount of cadmium in the liver of experimental ewes was 0.304 ± 0.22 mg. kg⁻¹ and in the control ewes 0.285 ± 0.10 mg. kg⁻¹ in dry matter; no significant difference was determined at the same time.

industrial pollutants; copper intoxication; liver

Adresy autorov:

Prof. MVDr. Leopold Vrzgula, DrSc., Vysoká škola veterinárska, Komenského 73, 041 81 Košice

MVDr. Jozef Bíreš, CSc., Ústav experimentálnej veterinárnej medicíny, Dukelských hrdinov 1/A, 040 01 Košice

MVDr. Andrea Hojerová, MVDr. Naděžda Vrzgulová, Ústredná veterinárna nemocnica, Komenského 73, 041 81 Košice

SCHOPNOST BENTONITU A PŘÍRODNÍHO ZEOLITU ADSORBOVAT AFLATOXIN Z TEKUTÝCH PROSTŘEDÍ

M. Dvořák

DVOŘÁK, M. (Výzkumný ústav veterinárního lékařství, Brno): *Schopnost bentonitu a přírodního zeolitu adsorbovat aflatoxin z tekutých prostředí*. Veter. Med. (Praha), 34, 1989 (5) : 307-316.

U dvou vzorků bentonitu, dvou vzorků přírodního zeolitu a tří druhů adsorpčního uhlí přidávaných do vody, fyziologického roztoku, krevního séra prasat, žaludeční tekutiny prasat nebo do bachorové tekutiny krav v množství 5 až 50 g.l⁻¹ byla zjišťována adsorpce aflatoxinu (AF) B₁ obsaženého ve vodném prostředí nebo v syntetickém médiu po kultivaci *Aspergillus parasiticus* NRRL 2999. Ve srovnání s retinol-propionátem a beta karoténem byl AF *in vitro* dobře adsorbovatelný. Výchozí hladina 3,6 mg nebo 18 mg AFB₁ v litru byla při působení 50 g adsorbentu redukována na 0,3 až 27 %, více při použití AFB₁ v kultivačním médiu, nejvíce při účasti adsorpčního uhlí. Účinnost zeolitu byla nižší v prostředí s dusíkatými látkami a při jeho menších dávkách. Průměrná retenční AF v adsorbentech, vypočítaná po určení desorpce jejich extrakcí chloroformem, byla u adsorpčního uhlí 72 %, u bentonitu 66 % a u zeolitu 60 % původního obsahu v prostředích.

montmorilonit; klinoptilolit; adsorpční uhlí; prevence aflatoxikózy

Pro své příznivé účinky na produkční, ekonomické i zdravotní ukazatele jsou zeolit a bentonit ve formě různých směsí široce užívány ve výživě skotu a prasat (Hronek a Kučera, 1986). V letech 1983 a 1984 bylo v SSR použito jako doplňku do krmných směsí pro prasata 16 tisíc tun přírodního zeolitu (Kováč, 1985). Zeolit a bentonit nacházejí široké uplatnění i v jiných oblastech, včetně zařízení pro ochranu životního prostředí, při odstraňování polutantů z vod, půd a průmyslových odpadů (Hoeck aj., 1987).

Bentonity a zeolity jsou přírodní hlinitokřemičitany. Podstatnou součástí bentonitů, stejně jako valchářské a bělicí hlíny, je montmorilonit, jehož krystalky mají nejmenší rozměry z jílových minerálů. Zeolity se vyznačují krystalickou strukturou se spárami molekulárních rozměrů. Hlavním minerálem zeolitových tufů u nás těžených je klinoptilolit. Je známo 41 druhů zeolitů přírodních, pro průmyslové využití jsou připravovány také synteticky (Kopín, 1985; Newsam, 1986).

Uplatnění v živočišné výrobě je potvrzováno kladnými výsledky experimentálních prací posledních let s použitím bentonitu nebo zeolitu u skotu (Bartoš aj., 1982; Jacobí aj., 1984), přírodního, ne však syntetického zeolitu u ovcí (Pond, 1984), zeolitu u prasat (Bartko aj., 1983; Pond a Yen, 1987) a syntetického zeolitu u slepic (Miles aj., 1986). Jejich účinnost, zejména působení na růst, není ve všech pozorováních jednoznačná, což je vysvětlováno druhem a vlastnostmi použitého přípravku v krmivu. Rovněž názory na mechanismy působení se liší. Jejich povaha je asi komplexní. U prasat mohou spočívat v re-

dukované absorpci amoniaku vznikajícího deaminací proteinů v průběhu digestivních procesů nebo v redukované absorpci toxických produktů intestinální mikrobiální degradace (Shurson aj., 1984). Prokázané výhodné použití zeolitu nebo bentonitu v ochraně zdraví novorozených telat (Bartoš a Habrda, 1974; Vrzgula, 1986) nabízí další výklad pravděpodobného působení. Adsorpční schopnosti bentonitu i zeolitu byly prokázány v prevenci T-2 toxikózy a intoxikace dichlórvosem (Carson a Smith, 1983; Ništiar aj., 1984). Někdy, např. při adsorpci herbicidů nebo bóru v půdě (Goldberg a Glaubig, 1986; Sanchez — Martin a Sanchez — Camazano, 1987), jsou jejich účinky nežádoucí. Jindy naopak přítomnost klinoptilolitu snižuje obsah určité látky a např. v kultivačním médiu zvyšuje množství kyseliny mykofenolové, produkované kmenem *Penicillium* (Ozaki aj., 1987).

Bohatá naleziště zeolitu i bentonitu na Slovensku a bentonitu v Čechách, umožňující širokou aplikaci těchto minerálních látek v živočišné výrobě, nabízejí jejich použití i v prevenci mykotoxikóz. Bylo referováno o adsorpčním působení blíže nedefinovaných látek v krmných směsích na snížení výskytu aflatoxinu (AF) v orgánech zvířat (Ehebruster, 1980) a snížení toxicity AFB₁ u kuřat adsorpčním uhlím (Dalvi a Ademoyero, 1984). Předpokladem použitelnosti bentonitu nebo zeolitu těžného v ČSSR k prevenci této choroby je především průkaz vysoké schopnosti adsorbovat AF. To je cílem předložené studie, ve které jsou uvedené nemetalické sorbenty testovány *in vitro* v různém tekutém prostředí včetně spolupůsobení jiných adsorbovatelných látek ve srovnání s účinkem adsorpčního uhlí.

MATERIÁL A METODY

Byly testovány tyto adsorbenty: 1. bentonit (původ nezjištěn), 2. bentonit (Bentovet pro dojnice, Rudné bane Hnúšťa), 3. přírodní zeolit (původ nezjištěn), 4. přírodní zeolit (Nižný Habrovec), 5. Carbosorb prášek (Imuna, Šarišské Michaľany), 6. Carbovent (Imuna, Šarišské Michaľany), 7. Nuclear attaclay (Analabs, USA). Osmou, neadsorbující látkou, byl rozdrcený mořský písek. Jako adsorbovatelné látky byly použity: roztok 7,2 mg aflatoxinu B₁ (Calbiochem, USA) připravený rozpouštěním v dimethylsulfoxidu a doplněním vodou v poměru 2:48; tekuté syntetické médium GV obsahující po sedmidenní kultivaci *Aspergillus parasiticus* NRRL 2999 v jednom litru 36 mg AFB₁ stanoveného testem RIA (předala MVDr. A. Láňková, VÚVeL Brno); vodný roztok vitamínu A (retinol propionátu) připravený z Combinalu A (Galena) a roztok krystalického syntetického beta karoténu (Hoffmann-La Roche, Švýcarsko) připravený po jeho rozpouštění v acetonu a zředění vodou v poměru 2:48.

Roztok vitamínu A sloužil k modifikaci prostředí, ve kterém byla adsorpce AF na použité látky testována. K téměř účelu jsme používali destilovanou vodu, fyziologický roztok, masopeptonový bujón, krevní sérum prasat, žaludeční tekutinu prasat (žaludeční obsah filtrovaný přes gázu, pH 4,1) a bachorovou tekutinu krav (po filtraci přes gázu, pH 6,9). Testační systém spočíval v krátkém protřepání 10 až 100 mg adsorbentů č. 1—7 (bentonity rozmísleny mechanicky), či neadsorbujícího písku s 1 ml tekutiny tvořící prostředí; po přidání 1 ml roztoku AF byly zkumavky s obsahem, pokud není ve výsledcích uvedeno jinak, vloženy na půl hodiny do třepačky. Po odstředění byla v supernatantu stanovena koncentrace AF, popřípadě vitamínu A nebo karoténu. Ta byla stanovena i v kontrolním vzorku bez adsorbentu. V pěti pokusech byl obsah AF zjišťován také v sedimentu, aby mohla být posouzena možná desorpce.

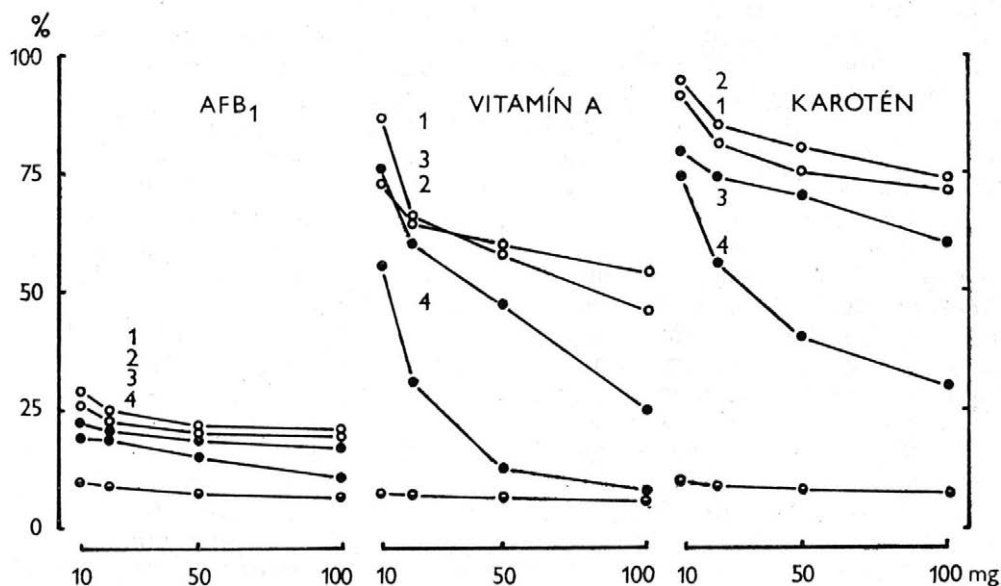
Ke kvantitativní analýze AF bylo 0,2 ml tekutého prostředí po adsorpci přeneseno do zkumavky se zabroušenou zátkou a extrahováno se 6 ml chloroformu intenzivním třepáním po dobu jedné minuty. Po ustání byla vodná fáze odsáta a po přidání špetky bezvodého síranu sodného a protřepání byl extrakt přefiltro-

ván. Intenzita fluorescence byla měřena na fluorescenčním spektrofotometru Perkin-Elmer při excitaci 365 nm a emisi 420 nm. Obdobně byl stanoven obsah AF v sedimentu. Koncentrace vitamínu A byla určována fluorimetrickou metodou, kterou popsali Thompson aj. (1973). Koncentraci beta karoténu jsme měřili v hexanových extraktech na spektrofotometru VSU 2 Zeiss při 450 nm. Testy se dělaly v duplikátech. Výsledky jsou udávány v procentech ve vztahu k obsahu v kontrolním vzorku. Retenci AF v adsorbentu jsme vypočítali tak, že jsme odečetli zbytek AF v tekutém prostředí a množství v extraktu ze sedimentu od obsahu AF v kontrolním vzorku.

VÝSLEDKY

V první sérii s použitím AFB₁ v roztoku bylo prokázáno, že všech sedm adsorbentů v množství 10, 20, 50 a 100 mg (5–50 g.l⁻¹) v testačním dvoumililitrovém systému snižuje jeho obsah ve vodném prostředí na 7 až 29 % výchozích 3,6 mg.l⁻¹. Nejúčinnější byl Carbosorb (obr. 1). Schopnost Carboventu a Attlaclaye se při dávce 100 mg podstatně nelišila od bentonitu 1 a 2 nebo zeolitu 3 a 4 (tab. I). Ve srovnání s AFB₁ byly vitamín A (1,48 mg.l⁻¹) i beta karotén (20 mg.l⁻¹) ve stejném testačním systému adsorbovány na bentonit málo. Lepší schopnost měl ve větší dávce zeolit 4. Nejlepší účinnost měl Carbosorb (obr. 1) i další dva druhy adsorpčního uhlí, a to bez zřetelného rozdílu v použitém množství.

Závislost adsorbce AFB₁ na prostředí byla zjištěna po záměně 1 ml destilované vody za 1 ml masopeptonového bujónu, ve kterém byly testované látky před přidáním AFB₁ rozmíchány. Výrazně nižší byla schopnost zeolitů redukovat obsah AFB₁ i při použití 100 mg (tab. I). Při dáv-



1. Působení 10, 20, 50 a 100 mg bentonitu (1, 2 — prázdné značky), zeolitu (3, 4 — vyplněné značky) a Carbosorbu (půl značky vyplněno) na relativní obsah aflatoxinu B₁, vitamínu A a beta-karoténu ve 2 ml vodného prostředí — The effect of 10, 20, 50 and 100 mg bentonite (1, 2 — open marks), zeolite (3, 4 — solid marks), and Carbosorb (half-open marks) upon the relative contents of aflatoxin B₁ vitamin A and beta-carotene in 2 ml of aqueous medium

I. Relativní obsah aflatoxinu B₁ zůstávající v tekutých prostředích po působení adsorbentů a písku v množství 50 g.l⁻¹ (procento výchozí hladiny) — Relative contents of aflatoxin B₁ remaining in liquid media after exposure to adsorbents and sand at a quantity of 50 g per litre (percentage of the original content)

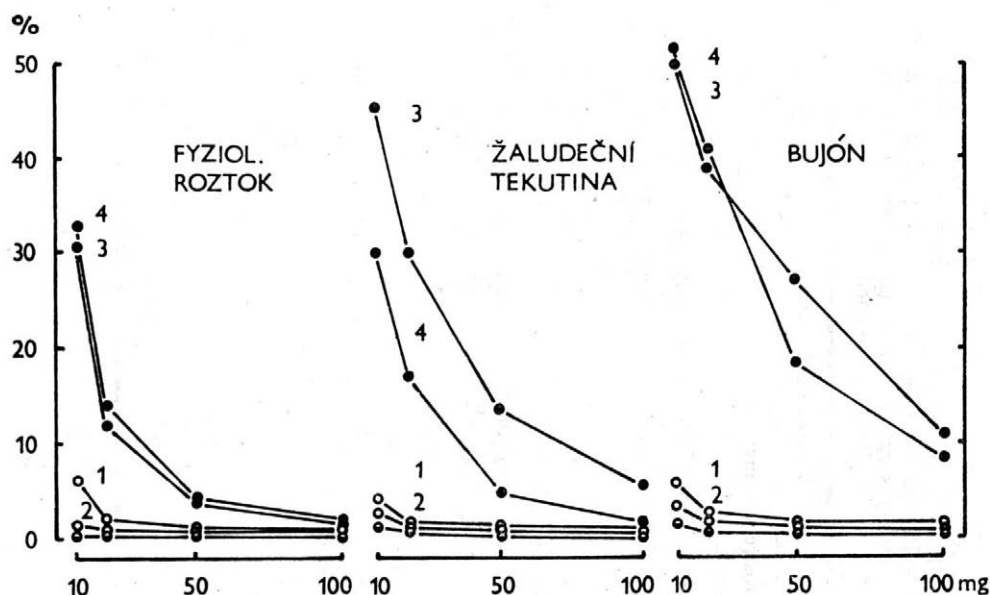
Prostředí	Bento- nit 1	Bento- nit 2	Zeolit 3	Zeolit 4	Carbo- sorb	Carbo- vent	Attac- lay	Písek
AFB ₁ — 7,2 mg.l ⁻¹ v roztoku přidán k prostředí v poměru 1 : 1								
Voda	21	20	18	11	7	20	13	87
Voda + vitamín A	19	20	13	12	9	17	13	88
Bujón	19	17	25	27	9	11	11	87
AFB ₁ — 36 mg.l ⁻¹ v kultivačním médiu přidán k prostředí v poměru 1 : 1								
Voda	5	3	2	1	0,3	0,2	0,3	90
Voda + vitamín A	4	2	2	2	0,6	0,5	0,4	87
Fyziologický roztok	2	1	2	2	0,3	1	0,7	89
Bujón	2	1	11	8	0,6	1	0,8	90
Sérum	4	1	7	3	0,7	0,3	0,6	89
Bachorová tekutina	7	6	6	5	2	2	2	88
Žaludeční tekutina	1	1	6	5	0,3	4	1	90

ce 10 mg byl obsah AFB₁ snížen u zeolitu 3 na 48 %, u zeolitu 4 na pouhých 54 % výchozí hladiny. Naproti tomu adsorpční schopnost bentonitu 1 a 2 a také Carboventu byla při všech dávkách lepší. Přidání vitamínu A nepřineslo ve srovnání s čistě vodným prostředím podstatné odchylky (tab. I). Pouze u zeolitu 3 a 4 a Carbosorbu v nejnižších dávkách byla redukce hladiny AFB₁ v přítomnosti vitamínu A poněkud menší.

Další pokusy byly konány s AFB₁, který byl spolu s dalšími sekundárními metabolity v živném médiu po kultivaci *A. parasiticus*. Přestože médiem obsahovalo více AFB₁ než při jeho předcházejícím použití v roztoku, snížila se hladina 18 mg.l⁻¹ po působení 100 mg všech sledovaných adsorbentů ve stejných prostředích i dalších čtyřech prostředích několikanásobně více (tab. I). Ve srovnání s čistě vodným prostředím byla adsorpční schopnost jednoznačně horší v přítomnosti bachorové tekutiny skotu. U bentonitu 1 a 2 byla v ostatních prostředích vždy lepší, u zeolitu 3 a 4 byla horší v bujónu, v krevním séru a v žaludeční tekutině prasat. Při použití mořského písku byla redukce hladiny AF nepatrná a vlivem prostředí se neměnila (tab. I).

Rozdíly mezi účinností bentonitu, zeolitu a adsorpčního uhlí byly větší při použití malých dávek těchto látek v testacím systému. Jednoznačně nejlepší byla u Carbosorbu, Carboventu a Attaclaye. Při působení 10 mg bentonitu 1 a 2 zůstalo v prostředí maximálně 6 % z kontrolního obsahu AFB₁. Při působení 10 mg zeolitu 2 a 3 jej zůstalo v prostředí s fyziologickým roztokem 31 a 33 %, s vitamínem A 24 a 23 %, s bujónem 50 a 54 %, s bachorovou tekutinou 30 a 33 % a s žaludeční tekutinou 45 a 30 %. Také při působení 20 a 50 mg zeolitu 3 a 4 se množství AFB₁ zbývajících v prostředí výrazně snižovalo (obr. 2).

Doba, po kterou adsorbenty v množství 100 mg působily v prostředí s AFB₁, neměla na jeho zbývajících obsah rozhodující vliv. Rozdíly v jeho relativních hodnotách v prostředí vodném, s vitamínem A, s bujónem



2. Snížení relativního obsahu aflatoxinu B₁ přidaného v kultivačním médiu do fyziologického roztoku, žaludeční tekutiny prasat nebo do masopeptonového bujónu s rozdílným množstvím bentonitu (1, 2 — prázdné značky), zeolitu (3, 4 — vyplněné značky) nebo Carbosorbu (půl značky vyplněno) — Decrease of the relative content of aflatoxin B₁ added in the cultivation medium to saline, to the stomach fluid of pigs, or to meat-peptone broth with different contents of bentonite (1, 2 — open marks), zeolite (3, 4 — solid marks), or Carbosorb (half-open marks)

a s bachorovou tekutinou mezi vzorky třepanými 30 minut a pouze krátce důkladně promísenými byly malé. Při zkrácené době působení byly vyšší u bentonitu 1 o 4 až 5 %, u bentonitu 2 o 1,4 až 6,5 %, u zeolitu 3 o 0 až 3,8 %, u Carbosorbu o 0,5 až 1,3 % a u zeolitu 4 nebyly zaznamenány.

Desorpce AFB₁, stanovená v pěti pokusech extrakcí sedimentovaných adsorbentů, umožnila vypočítat jeho retenci. Byla ve všech případech větší než množství AFB₁ uvolněného ze 100 mg adsorbentů [tab. II]. Retence v bentonitu 1 byla 66,5 % [55,2—86,7], v bentonitu 2 65,9 % [52,2—85,0], v zeolitu 3 59,5 % [55,2—61,8], v zeolitu 4 60,5 % [59,1—65,0], v Carbosorbu 83,2 % [79,8—86,9], v Carboventu 63,5 % [53,3—74,0] a v Attaclay 70,0 % [63,0—77,6] původního obsahu AFB₁ v prostředí. U bentonitů, Carboventu a Attaclay byla retence vyšší při použití AFB₁ v kultivačním médiu než ve vodném roztoku. Při sumarizování výsledků činila retence AFB₁ v bentonitech 66 %, v zeolitech 60 % a v použitých druzích adsorpčního uhlí 72 %.

DISKUSE

Adsorpce je obecně ovlivňována vlastnostmi adsorbované látky, strukturální charakteristikou adsorbentu a podmínkami prostředí převažujícími v průběhu procesu. Aflatoxiny, vitamín A i karotén jsou bezusíkaté látky ve vodě téměř nebo zcela nerozpustné. Bylo žádoucí přizpůsobit podmínky testování *in vitro* vodnému prostředí v gastrointestinálním traktu. Bylo to možné u AF použitím tekutého média po kultivaci aflatoxinogenního kmene *A. parasiticus*, u vitamínu A použitím jeho

II. Schopnost bentonitu, zeolitu a adsorpčního uhlí (50 g.l^{-1}) adsorbovat a zadržet aflatoxin B₁ ($3,6 \text{ mg.l}^{-1}$ u pokusu 1 až 3 nebo 18 mg.l^{-1} u pokusu 4 a 5) z prostředí — The ability of bentonite, zeolite and adsorption coals (50 g per litre) to adsorb and fix aflatoxin B₁ (3.6 mg per litre in trials 1 to 3 or 18 mg per litre in trials 4 and 5) from the medium

Pokus	Prostředí*)	Bentonit 1	Bentonit 2	Zeolit 3	Zeolit 4	Carbosorb	Carbovent	Attaclay
neadsorbováno z prostředí — mg.l^{-1}								
1	voda	0,77	0,77	0,63	0,42	0,28	0,84	0,49
2	voda + vitamín A	0,70	0,70	0,49	0,42	0,35	0,63	0,49
3	bujón	0,70	0,63	0,91	0,98	0,35	0,42	0,42
4	fyzilogický roztok	0,19	0,13	0,22	0,22	0,05	0,22	0,13
5	bujón	0,18	0,15	1,98	1,59	0,11	0,71	0,17
uvolněno z adsorbentu extrakcí — mg.l^{-1}								
1	voda	0,56	0,95	0,77	0,84	0,19	0,84	0,84
2	voda + vitamín A	0,91	0,98	0,98	1,05	0,14	0,77	0,70
3	bujón	0,91	0,91	0,70	0,56	0,35	1,12	0,73
4	fyzilogický roztok	4,73	3,13	6,90	6,60	3,08	4,84	4,56
5	bujón	2,20	2,54	4,89	5,77	3,52	3,96	3,85
retence v adsorbentu — mg.l^{-1}								
1	voda	2,27	1,88	2,20	2,34	3,13	1,92	2,27
2	voda + vitamín A	1,99	1,92	2,13	2,13	3,11	2,20	2,41
3	bujón	1,99	2,06	1,99	2,06	2,90	2,06	2,45
4	fyzilogický roztok	13,08	14,74	10,88	11,18	14,87	12,94	13,31
5	bujón	15,62	15,31	11,13	10,64	14,37	13,33	13,98

*) k prostředí přidán AFB₁ v roztoku u pokusu 1–3, nebo v kultivačním médiu u pokusu 4 a 5, vždy v poměru 1 : 1

vodorozpustné formy. Vzhledem k tomu, že použitý sbírkový kmen *A. parviticus* produkuje vedle AFB₁ také B₂, G₁ a G₂, bylo třeba prokázat i adsorbilitu nejtoxičtějšího AFB₁. Převedli jsme jej do vodného prostředí po rozpuštění v malém množství dimetylsulfoxidu. Obdobně jsme postupovali při přípravě roztoku karoténu rozpuštěného v acetonu. Použité koncentrace vitamínu A i beta karoténu odpovídají přirozenému výskytu v krmných dávkách. Na bentonit byly adsorbovány poměrně málo a jen vitamín A byl použit jako potenciálně konkurenční látka k modifikaci prostředí při testaci adsorpce AF.

Koncentrace AFB₁ v testačním prostředí byla relativně vysoká. V této výši by se mohla vyskytnout zejména v dovážené kukuřici, podzemnicových nebo bavníkových pokrutinách. V našich klimatických podmínkách a technologiích je takový výskyt v krmných směsích nepravděpodobný. Výsledky ukázaly, že i při hladinách 3,6 mg . l⁻¹ roztoku nebo 18 mg . l⁻¹ kultivačního média je bentonit i zeolit schopen jeho převážnou část adsorbovat. Při použití kultivačního média hrály při hodnocení vedle AFB₁ roli také další sekundární metabolity s přirozenou fluorescencí. Ta je u AFG₁ a G₂ v chloroformu třicetkrát intenzivnější než u AFB₁ (Pons a Goldblatt, 1969). V takovém komplexu pak mohou být i v kontaminovaném krmivu. Při hodnocení byla redukce fluorescence po adsorpci propočtena na AFB₁ a jeho nízké hodnoty byly namátkově ověřeny a potvrzeny testem RIA. Zároveň byly redukovány i všechny další metabolity, na něž se intenzita fluorescence vztahuje.

U všech testovaných látek s výjimkou mořského písku se projevovala schopnost redukovat AF v různých prostředích na 0,3 až 27 % původního obsahu při dávce 50 g . l⁻¹. Rozdíly mezi jednotlivými druhy lze charakterizovat takto: Všechny tři typy adsorpčního uhlí zaujímaly za všech podmínek prioritní postavení; nejúčinnější byl Carbosorb. Velmi dobrá adsorpční schopnost obou bentonitů se navzájem příliš nelišila, projevovala se i v dávce 5 a 10 g na litr prostředí a také při účasti dusíkatých látek v masopeptonovém bujónu a krevním séru. Při spolupůsobení žaludeční tekutiny prasat se téměř vyrovnala adsorpčnímu uhlí. U zeolitů měl většinou poněkud lepší účinek zeolit z Nižného Hrabovce, určený pro hovězí žír. U obou byla uspokojivá adsorpce až při dávkách 25 a 50 g na litr prostředí, v přítomnosti dusíkatých látek byla redukována.

Důležitou funkcí adsorbentů je redukovat obsah sledované látky v prostředí *in vitro*, neméně důležitou funkcí je však i schopnost udržet redukci v průběhu dalších procesů. Přiblížit se situaci adsorpce AF z kontaminovaného krmiva v průběhu trávení je obtížné a výsledky získané *in vitro* i při použití podobných prostředí nemusí být totožné se stavem *in vivo*. Je však téměř nemožné napodobit situaci v procesech probíhajících v průchodu zažítiny střevy. Přistoupili jsme k odhadu retence AF v adsorbentu po určené desorpce způsobem, k jehož intenzitě *in vivo* asi nedochází, a to extrakcí chloroformem. Tak bylo z adsorbentů uvolněno zpravidla více AF než zůstalo po adsorpci v tekutém prostředí. Takto zjištěná retence byla podle očekávání nejvyšší u adsorpčního uhlí, ale ani u bentonitu a zeolitu v jednotlivých pokusech neklesla pod 52 % původního obsahu AF v prostředí.

V dostupné literatuře jsme našli pouze jeden údaj o schopnosti bobtnavých hlín adsorbovat AF z chloroformového roztoku. Masimango aj. (1979) použili devět vzorků bentonitu nebo montmorilonitu různého původu a zjistili fixaci v rozsahu 93 až 100 % a desorpci v rozsahu

5 až 57 % pošátečního obsahu AF. Zdůraznili význam zrnitosti a tepelné aktivace. V našich experimentálních podmínkách byla počáteční redukce hladiny AF v některých případech menší, desorpce však nedosahovala tak vysokého stupně. Jestliže je adsorpční účinnost závislá na vysušení bentonitu i zeolitu, pak mohla být negativně ovlivněna jejich smáčením použitými vodnými prostředky s případnými konkurenčními látkami před kontaktem s AF. Ani při působení *in vivo* tomu však nemůže být jinak. U přírodních zeolitů byly *in vitro* studovány jejich účinky hlavně vzhledem k vazbě amoniových iontů v bachorové tekutině (Jacobi aj., 1984; Dvořák aj., 1985). Je považována za málo efektivní, desorpce činí asi 54 % (Čerešňáková aj., 1984). Protože z hlediska iontoměniče mohou hrát konkurenční ionty významnou úlohu, bude tomu tak asi i při posuzování žádoucí nebo i nežádoucí schopnosti adsorbovat určité látky. Ani u adsorpčního uhlí, již dlouho v terapii používaného, nejsou spolehlivě známy interakce s jinými látkami současně přijímanými: absorpci aspirinu může redukovat asi o 50 % (Neuvonen a Olkkola, 1986).

Z dosavadních poznatků o použití adsorbentů v prevenci toxikóz a jejich účinnosti v adsorpci a schopnosti retence AF lze usuzovat, jaká je použitelnost tuzemského bentonitu i zeolitu jako přídatku do krmiva kontaminovaného AF. Může pravděpodobně redukovat jeho absorpci ze střev v rozsahu asi 50 %. To znamená, že aplikaci bentonitu a zeolitu lze indikovat v krmivu, ve kterém obsah AF nepřevyšuje dvojnásobek jeho hladiny působící toxicky pro určitý živočišný druh. Jako účinnou dávku je možné považovat u zeolitu 50 g.kg⁻¹ (která je často používána pro zvýšení parametrů užitkovosti), u bentonitu pak dávku poloviční. Přestože adsorpční uhlí by mohlo být v prevenci aflatoxikózy efektivnější, nelze jeho déletrvající podávání doporučit pro potenciálně větší schopnost redukovat absorpci nutričně významných látek, jako je karotén a vitamín A. Přednost bentonitů spočívá i v jeho desikačních vlastnostech umožňujících odnímat vlhkost ze zrní na svůj povrch (Watts aj., 1987). Tato vlastnost by se mohla uplatnit zejména při současném nálezu aflatoxinogenních kmenů *Aspergillus flavus* a *A. parasiticus* v krmivu, protože by se tím zabránilo růstu těchto kmenů podmíněného zvýšenou vlhkostí.

Literatura

- BARTKO, P. — CHABADA, J. — VRZGULA, L. — SOLÁR, I. — BLAŽOVSKÝ, J.: Obohacenie kŕmnej dávky prasiat zeolitom pri klieťkovom odchove. Veter. Med. (Praha), 28, 1983, s. 429-435.
- BARTOŠ, J. — HABRDA, J.: Bentonit v prevenci a léčbě průjemových onemocnění novorozených telat. Veter. Med. (Praha), 19, 1974, s. 707-716.
- BARTOŠ, S. — MAROUNEK, M. — PETRŽÍK, J. — KOPEČNÝ, J. — KOLOUCH, F. — KALAČNÍK, G. I.: Působení bentonitu na bachorovou fermentaci a hospodaření dusíkem u přežvýkavců. Biol. Chem. Vet., Praha, 18, 1982, s. 333-346.
- CARSON, M. S. — SMITH, T. K.: Role of bentonite in prevention of T-2 toxicosis in rats. J. anim. Sci., 57, 1983, s. 1498-1506.
- ČEREŠŇÁKOVÁ, Z. — SOMMER, A. — BAČOVÁ, G.: Adsorpční a desorpční schopnost zeolitu v podmínkách *in vitro*. Biol. Chem. Vet., Praha, 20, 1984, s. 473-479.
- DALVI, R. R. — ADEMOYERO, A. A.: Toxic effects of aflatoxin B₁ in chickens given feed contaminated with *Aspergillus flavus* and reduction of the toxicity by activated charcoal and some chemical agents. Avian Dis., 28, 1984, s. 61-69.
- DVOŘÁK, R. — VOSPÁL, O. — JAGOŠ, P. — SKŘIVÁNEK, M. — ZENDULKA, I.

- HRADILOVÁ, M.: Studium vazebné schopnosti zeolitu v podmínkách *in vitro*. Předneseno na semináři Potencionální možnosti využití přírodního zeolitu v živočišné výrobě. Jeseník nad Odrou 1985.
- EHEBRUSTER, J.: Versuche zur Detoxifikation von mykotoxinkontaminierten Futtermitteln durch Toxinadsorption. Wien. tierärztl. Mschr., 67, 1980, s. 36.
- GOLDBERG, S. — GLAUBIG, R. A.: Boron adsorption and silicon release by the clay minerals kaolinite, montmorillonite, and illite. Soil Sci. Soc. Amer. J., 50, 1986, s. 1442-1448.
- HOEKS, J. — GLAS, H. — HOFKAMP, J. — RYHINER, A. H.: Bentonite liners for isolation of waste disposal sites. Waste Manag. Res., 5, 1987, s. 93-105.
- HRONEK, J. — KUČERA, J.: Zeolity v interakci s močovinou při intoxikaci žirných býků. Veterinářství, 36, 1986, s. 500-501.
- JACOBI, U. — VRZGULA, L. — BLAŽOVSKÝ, J. — HAVASSY, I. — LEDECKÝ, V. — BARTKO, P.: Štúdium vplyvu zeolitu (klinoptilolitu) na dynamiku niektorých ukazovateľov N-metabolizmu po nakŕmení vo *V. portae*, *V. jugularis* a v bachorovej tekutine. Veter. Med. (Praha), 29, 1984, s. 207-216.
- KOPÍN, R.: Úprava zeolitu pre využitie v živočišnej výrobe. [Výskumná správa.] Michalovce, Výskumno-vývojová základňa keramiky a perlitu, 1985. 28 s.
- KOVÁČ, G.: Slozoe 84. Veterinářství, 35, 1985, s. 185-186.
- MASIMANGO, N. — REMACLE, J. — RAMANT, J.: Élimination, par des argilles gonflantes, de l'aflatoxine B₁ des milieux contaminés. Ann. Nutr. Aliment., 33, 1979, s. 137-147.
- MILES, R. D. — HARMS, R. H. — LAURENT, S. M.: Influence of sodium zeolite A (Ethacal) on laying hen performance. Nutr. Rep. int., 34, 1986, s. 1097-1103.
- NEUVONEN, P. J. — OLKKOLA, K. T.: Effect of purgatives on antidotal efficacy of oral activated charcoal. Hum. Toxicol., 5, 1986, s. 255-263.
- NEWSAM, J. M.: The zeolite cage structure. Science, 231, 1986, s. 1093-1099.
- NIŠTIAR, F. — HRUŠOVSKÝ, J. — MOJŽIŠ, J. — MIŽÍK, P.: Distribúcia dichlórovosu v organizme krys a vplyv klinoptilolitu na intoxikáciu. Veter. Med. (Praha), 29, 1984, s. 689-698.
- OZAKI, H. — KUBOTA, K. — TAKAHASHI, H.: Effects of various adsorbents on mycelium formation and mycophenolic acid production by *Penicillium brevicompactum*. Agric. biol. Chem., 51, 1987, s. 2503-2508.
- POND, W. G.: Response of growing lambs to clinoptilolite or zeolite NaA added to corn-fish meal and corn-soybean meal diets. J. anim. Sci., 59, 1984, s. 1320-1328.
- POND, W. G. — YEN, J. T.: Effect of supplemental carbadox, an antibiotic combination, or clinoptilolite on weight gain and organ weights of growing swine fed maize or rye as the grain sources. Nutr. Rep. int., 35, 1987, s. 801-809.
- PONS, W. A. — GOLDBLATT, L. A.: Physicochemical assay of aflatoxins. In: GOLDBLATT, L. A. (Ed.): Aflatoxin. N. York and London, 1969, s. 77-105.
- SANCHEZ-MARTIN, M. J. — SANCHEZ-CAMAZANO, M.: Adsorption of chloridazone by montmorillonite. Chemosphere, 16, 1987, s. 937-944.
- SHURSON, G. C. — KU, P. K. — MILLER, E. R. — YOKOYAMA, M. T.: Effects of zeolite A or clinoptilolite in diets of growing swine. J. anim. Sci., 59, 1984, s. 1536-1545.
- THOMPSON, J. N. — ERDODY, P. — MAXWELL, W. B.: Simultaneous fluorometric determinations of vitamins A and E in human serum and plasma. Biochem. Med., 8, 1973, s. 403-414.
- VRZGULA, L.: The effect of natural zeolite (clinoptilolite) on the state of health and the indices of the intestinal environment of calves during the first 15 days of postnatal development. Nutr. Rep. int., 34, 1986, s. 1105-1113.
- WATTS, K. C. — BILANSKI, W. K. — MENZIES, D. R.: Simulation of adsorption drying of corn, wheat, barley and oats using sodium bentonite. Can. agric. Engng, 29, 1987, s. 173-178.

Došlo dne 19. 5. 1988

ДВОРЖАК, М. (Научно-исследовательский институт ветеринарной медицины, Брно): Способность бентонита и природного цеолита адсорбировать афлатоксин из жидкой среды. Veter. Med. (Praha), 34, 1989 (5) : 307-316.

У двух образцов бентонита, двух образцов природного цеолита и трех видов активного угля, применяемого для адсорбции, вносящихся в воду, физиологический раствор, плазму крови свиней, жидкость желудка свиней или жидкость бахора коров в количестве 5—50 г/л определялась адсорбция афлатоксина (АФ) В₁ содержащегося в вод-

ной среде или в синтетическом медиум после культивации *Aspergillus parasiticus* NRRL 2999. По сравнению с ретинол-пропионатом и с бета-каротином был АФ *in vitro* хорошо адсорбируемым. Исходный уровень 3,6 мг или 18 мг АФ В₁ в литре был под действием 50 г адсорбента редуцирован на 0,3—27 %, больше при использовании АФ В₁ в культивационной среде, больше всего при участии активного угля. Эффективность цеолита была более низкой в среде с азотистыми веществами и при его более маленьких дозах. Среднее удерживание АФ в адсорбентах, высчитанное по назначению десорбции их экстракции хлороформом, было у активного угля 72 %, у бентонита 66 % и у цеолита 60 % первоначального содержания в среде.

монтмориллонит; клиноптиллолит; активный уголь, применяемый для адсорбции; предупреждение афлатоксикоза

DVOŘÁK, M. (Veterinary Research Institute, Brno): *Ability of Bentonite and Natural Zeolite to Adsorb Aflatoxin from Liquid Media*. Veter. Med. (Praha), 34, 1989 (5) : 307-316.

The adsorption of aflatoxin (AF) B₁, contained in aqueous medium or in synthetic medium left after the cultivation of *Aspergillus parasiticus* NRRL 2999, was studied in two samples of bentonite, two samples of natural zeolite, and three kinds of adsorption coal added to water, to saline, to the blood serum of pigs, to the stomach fluid of pigs or rumen fluid of cows at concentrations of 5 to 50 mg per litre. Unlike retinol-propionate and beta-carotene, AF was readily adsorbable *in vitro*. The initial concentration of 3.6 mg or 18 mg AFB₁ per litre was reduced to 0.3—27 % after exposure to 50 g of adsorbent; this reduction was greater when the AFB₁ was tested in the cultivation medium and the maximum reduction was recorded when adsorption coals was involved. The effectiveness of zeolite was lower in media containing nitrogen compounds and in those cases when its doses were low. The average AF retention in the adsorbents, calculated after the determination of desorption by chloroform extraction, was 72 % of the original content in the medium in the case of adsorption coals, 66 % in bentonite, and 60 % in zeolite.

montmorillonite; clinoptilolite; adsorption coals; aflatoxicosis prevention

DVOŘÁK, M. (Forschungsinstitut für Veterinärmedizin, Brno): *Fähigkeit von Bentonit und natürlichem Zeolith Aflatoxin aus flüssigen Medien zu adsorbieren*. Veter. Med. (Praha), 34, 1989 (5) : 307-316.

Bei zwei Bentonitproben, zwei Proben natürlichen Zeoliths und drei Arten von Adsorptionskohle, die zu Wasser, zu physiologischer Kochsalzlösung, Blutserum und Magensaft von Schweinen oder zur Pansenflüssigkeit von Kühen in Mengen von 5 bis 50 g.l⁻¹ hinzugefügt wurden, untersuchten wir die Adsorption des in Wasserlösung oder synthetischem Medium nach Kultivation von *Aspergillus parasiticus* NRRL 2999 enthaltenen Aflatoxin (AF) B₁. Im Vergleich mit Retinol-Propionat und mit Beta-Karotin war das AF *in vitro* gut adsorbierbar. Das Anfangsniveau von 3,6 mg oder 18 mg AF B₁ in 1 Liter wurde unter der Einwirkung von 50 g des Adsorbens auf 0,3 bis 27 % reduziert, stärker bei Anwendung von AF B₁ im Kultivationsmedium, am stärksten unter Mitwirkung der Adsorptionskohle. Die Wirksamkeit des Zeoliths war in Milieus mit stickstoffhaltigen Substanzen und bei dessen geringeren Dosen niedriger. Die mittlere AF-Retention in den Adsorbentien, berechnet nach der Desorptionsbestimmung ihrer Extraktionen durch Chloroform, betrug bei der Adsorptionskohle 72 %, beim Bentonit 66 % und beim Zeolith 60 % des ursprünglichen Gehalts in den Medien.

Montmorillonit; Klinoptillolit; Adsorptionskohle; Aflatoxikoseprävention

Adresa autora:

MVDr. Miroslav Dvořák, CSc., Výzkumný ústav veterinárního lékařství Hudcova 70, 621 32 Brno

VÝSKYT VÍRUSOVÝCH ČASTÍC VTÁČIEHO SARKÓMOVÉHO VÍRUSU V SARKÓMOVOM TKANIVE

M. Levkut, F. Lešník, R. Škarda

LEVKUT, M. — LEŠNÍK, F. — ŠKARDA, R. (Vysoká škola veterinárska, Košice): *Výskyt vírusových častíc vtáčieho sarkómového vírusu v sarkómovom tkanive*. Veter. Med. (Praha), 34, 1989 (5) : 317-320.

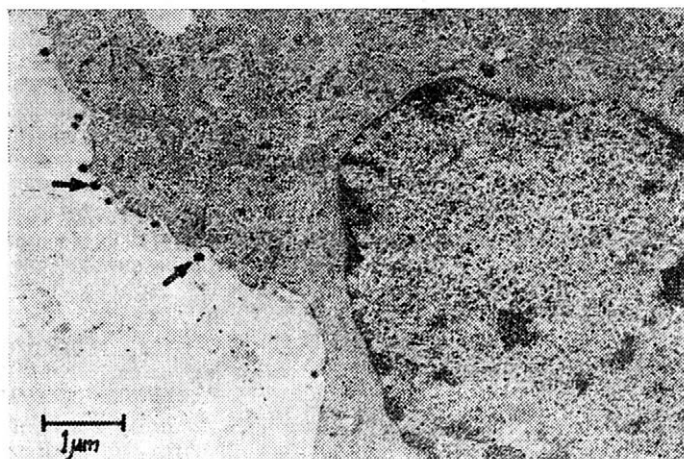
Elektrónovomikroskopickým vyšetrením fibrosarkómu kurčiat spôsobeného vtáčim sarkómovým vírusom (ASV) kmeň B 77 sme pozorovali pučanie a uvoľnenie vírusov cez cytoplazmatickú membránu. Vírusové častice typu C- boli 90 až 100 nm veľké s elektrónopticky hustejším nukleoidom zreteľne diferencovaným od vonkajšej membrány.

vtáci sarkómový vírus kmeň B 77; fibrosarkóm; vírusová častica typu C-; maturácia vírusu

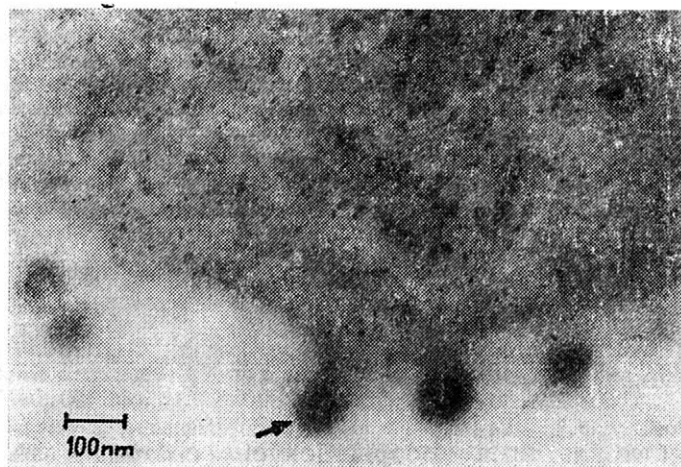
Onkovírusy spôsobujú rôzne formy neoplastických ochorení a sú značne rozšírené medzi stavovcami (Rapp, 1980). Všeobecne známy cyklus vírusovej replikácie onkovírusov je v základe rozdelený do piatich fáz (Lowy, 1985). Elektrónovou mikroskopiou sa rozlišujú štyri morfológické typy vírusových častíc (typy A, B, C, D) (Fine a Schochetman, 1978). Prevažná väčšina týchto vírusov (ako napríklad ASV, MuLV a HTLV) majú morfológiu typu C-. Vírusové častice tejto skupiny sa vyvíjajú pučaním z cytoplazmatickej membrány. Zrelé mimobunkové častice typu C- sú 80 až 110 nm veľké s centrálnou uloženým nukleoidom (Lowy, 1985). V práci sme sledovali výskyt vírusových častíc ASV v sarkómovom tkanive.

MATERIÁL A METÓDY

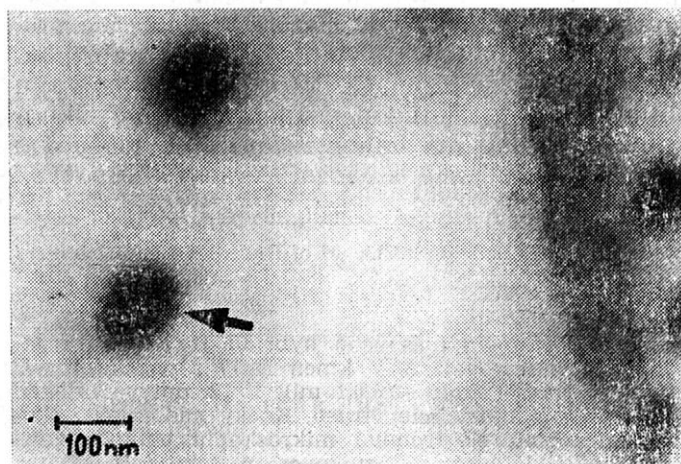
K štúdiu sme použili komerčné kurčatá mäsového hybridu HYBRO. Uvedeným kurčatám vo veku 18 dní sme inokulovali ASV kmeň B 77 z podskupiny C v dávke 0,2 ml na kus do krídlovej riasy (ID₅₀ 10—2,5/0,1 ml). V 12. dni po injekcii sme excidovali nádory ($n = 6$) z miesta inokulácie vírusu. Kocky nádorového tkaniva s objemom 1 mm³ pre transmisnú elektrónovú mikroskopiu boli fixované 2,5% glutaraldehydom v 0,1 mol kakodylátovom nárazníkovom roztoku (pH 7,2) pri



1. Charakteristické pučanie cez cytoplazmatickú membránu sarkómovej bunky do intracelulárneho priestoru — Typical virus budding through the cytoplasmic membrane of a sarcoma cell into extracellular space



2. Detail obr. 1 — Detail of Fig. 1



3. Voľný vírus vtáčieho sarkómu v extracelulárnom priestore — Free virus of avian sarcoma in extracellular space

teplote 4 °C po dobu dvoch hodín, prepraté kakodylátovým nárazníkovým roztokom a postfixované 1% kyslíčnikom osmičelým v kakodylátovom nárazníkovom roztoku pri teplote 4 °C po dobu dvoch hodín. Vzorky boli dehydratované stúpajúcou radou etanolu a zaliate do epoxidovej živice Durcupan ACM. Ultratenké rezy boli robené na ultramikrotóme LKB III, kontrastované uranylacetátom (Watson, 1958) a citrátom olova (Reynolds, 1963) a prezerané v elektrónovom mikroskope Jeol 1200 MX pri urýchľovacom napätí 80 KW.

VÝSLEDKY A DISKUSIA

Pri elektrónovomikroskopickej štúdií fibrosarkómu kurčiat vyvolaného vtáčím sarkómovým vírusom kmeň B 77 sme pozorovali typické pučanie vírusových častíc typu C- z cytoplazmatickej membrány (obr. 1, 2) a ich uvoľnenie do extracelulárneho priestoru (obr. 3). Veľkosť týchto častíc bola 90 až 100 nm. Ich centrálné uložený elektrónopticky hustejší nukleotid je zreteľne diferencovaný do vonkajšej membrány ako počas pučania, tak aj v zrelých vírusových časticiach.

Takáto morfológia je typická pre všetky onkovírusy typu C-. Získané poznatky poukazujú na možnosť využitia elektrónovej mikroskopie pri určovaní pôvodcov nádorov hydiny.

Podakovanie

Ďakujeme ing. M. Kodardovej z Centrálného laboratória elektrónovej mikroskopie za technickú pomoc.

Literatúra

- FINE, D. — SCHOCHETMAN, G.: Type D primate retroviruses. A review. *Cancer Res.*, 38, 1978, s. 3123-3139.
LOWY, D. F.: Transformation and oncogenesis. Retroviruses. In: FIELDS, B. N. et al.: (Eds): *Virology*. New York, Raven Press 1985, s. 235-261.
RAPP, F.: Viral carcinogenesis. *Canc. Chemother.*, 1, 1980, s. 197-217.
REYNOLDS, E. S.: The use of lead citrate at high pH as an electronopaque stain in electron microscopy. *J. Cell Biol.*, 17, 1963, s. 208-212.
WATSON, M. L.: Staining of tissue section for electron microscopy with heavy metals. *J. biophys. biochem. Cytol.*, 4, 1958, s. 475-478.

Došlo dňa 16. 9. 1988

ЛЕВКУТ, М. — ЛЕШНИК, Ф. — ШКАРДА, Р. (Ветеринарный институт, Кошице): Появление вирусных частиц птичьего саркомового вируса в саркомовой ткани. *Veter. Med. (Praha)*, 34, 1989 (5) : 317-320.

Электронномикроскопическим обследованием фибросаркомы цыплят вызванной птичьим саркомовым вирусом (ASV) штамм В 77 обследовали почкование и высвобождение вирусов через цитоплазматическую мембрану. Вирусные частицы типа С- были 90—100 нм шириной с электроноптически более густым нуклеоидом отчетливо дифференцированным от внешней мембраны.

птичий саркомный вирус штамма В 77; фибросарком; вирусная частица типа С-; созревание вируса

LEVKUT, M. — LEŠNÍK, F. — ŠKARDA, R. (University of Veterinary Medicine, Košice): *The Occurrence of Virus Particles of Avian Sarcoma Virus in Sarcomatous Tissue*. *Veter. Med. (Praha)*, 34, 1989 (5) : 317-320.

An electron-microscopic examination was performed of chicken fibrosarcoma caused by avian sarcoma virus (ASV), strain B 77, to investigate virus budding and release through the cytoplasmic membrane. The virus particles of type C- were 90—100 nm in size, the electron-optically denser nucleoids being clearly differentiated from the outer membrane.

avian sarcoma virus, strain B 77; fibrosarcoma; virus particle of type C-; virus maturation

LEVKUT, M. — LEŠNÍK, F. — ŠKARDA, R. (Veterinärmedizinische Hochschule, Košice): *Vorkommen von Viruspartikeln des aviären Sarkomvirus im Sarkomgewebe*. Veter. Med. (Praha), 34, 1989 (5) : 317-320.

Mittels elektronenmikroskopischer Untersuchungen eines auf aviären Sarkomvirus (ASV), Stamm B 77, zurückzuführenden Fibrosarkoms von Küken konnten wir ein Sprießen und eine Freigabe der Viren durch die zytoplasmatische Membrane beobachten. Die Viruspartikel des Typs C- waren 90 bis 100 nm groß, mit einem von der äußeren Membran klar differenzierten elektronenoptisch dichteren Nukleoid.

aviäres Sarkomvirus Stamm B 77; Fibrosarkom; Viruspartikel Typ C-; Virusreifung

Adresa autorov:

MVDr. Mikuláš Levkut, CSc., prof. MVDr. František Lešník, DrSc., prof. MVDr. Rudolf Škarda, CSc., Vysoká škola veterinárska, Komenského 73, 041 81 Košice

Raszyk J., Pillich J.: Immunological Skin Tests in Piglets	275
Kudweis M., Lojda Z., Vítovec J., Koudela B.: The Activities of Selected Dehydrogenases and Monoaminooxidases in the Small Intestine of Gnotobiotic Pigs Infected by <i>Isospora suis</i> Coccidia	287
Vrzgula L., Bíreš J., Hojerová A., Vrzgulová N.: The Content of Heavy Metals in the Liver of Ewes after Experimentally Induced Intoxication by Copper Oxide from Industrial Air Pollution	297
Dvořák M.: Ability of Bentonite and Natural Zeolite to Adsorb Aflatoxin from Liquid Media	307
Levkut M., Lešník F., Škarda R.: The Occurrence of Virus Particles of Avian Sarcoma Virus in Sarcomatous Tissue	317

INHALT

Škardová O.: Isolierung und Eigenschaften einer Nutritionsvariante von Streptokokken animalischer Herkunft	257
Brouček J., Kíca J., Sommer A., Szakács J.: Hormonreaktion bei Bullen auf Verabreichung von Zeranol und Rumensin	267
Raszyk J., Pillich J.: Immunologische Hauttests bei Ferkeln	275
Kudweis M., Lojda Z., Vítovec J., Koudela B.: Aktivität ausgewählter Dehydrogenasen und der Monoaminooxidase im Dünndarm gnotobiotischer durch Kokzidien <i>Isospora suis</i> infizierter Ferkel	287
Vrzgula L., Bíreš J., Hojerová A., Vrzgulová N.: Gehalt der Schafleber an Schwermetallen nach der experimentell hervorgerufenen Intoxikation durch Kupferoxid aus Industrieemissionen	297
Dvořák M.: Fähigkeit von Bentonit und natürlichem Zeolith Aflatoxin aus flüssigen Medien zu adsorbieren	307
Levkut M., Lešník F., Škarda R.: Vorkommen von Viruspartikeln des aviären Sarkomvirus im Sarkomgewebe	317

Rukopisy odevzdány k tisku 31. 1. 1989 — Podepsáno k tisku 4. 4. 1989

Vědecký časopis VETERINÁRNÍ MEDICÍNA • Vydává Československá akademie zemědělská — Ústav vědeckotechnických informací pro zemědělství • Vychází měsíčně • Redaktorka ing. Jovanka Václavíčková • Redakce: 120 56 Praha 2, Slezská 7, telefon 257541 • Vytiskl MÍR, Novinářské závody, n. p., závod 6, tř. Lidových milicí 22, 120 00 Praha 2 • © Ústav vědeckotechnických informací pro zemědělství, Praha 1989

Rozšiřuje PNS. Informace o předplatném podá a objednávky přijímá každá administrace PNS, pošta, doručovatel a PNS-ÚED Praha, ACT, Kafkova 19, 160 00 Praha 6; PNS-ÚED Praha, závod 02, Obránců míru 2, 656 07 Brno; PNS-ÚED Praha, závod 03, Gottwaldova tř. 206, 709 90 Ostrava 9. Objednávky do zahraničí vyřizuje PNS — ústřední expedice a dovoz tisku Praha, administrace vývozu tisku, Kovpalkova 26, 160 00 Praha 6.