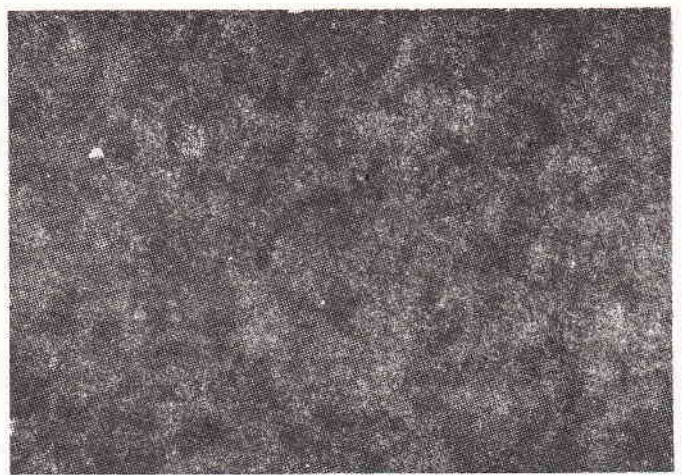


Ryc. 1. Dodatni wynik IF — intensywne świecenie antygeny w cytoplazmie

i cytoplazmie zakażonych komórek. Świecenia antygeny w cytoplazmie były bardziej intensywne. W niektórych komórkach obserwowano świecenia antygeny wyłącznie w cytoplazmie. W miarę upływu czasu, od 60 godziny po zakażeniu, świecenia w jądrach komórek słabły i zanikały, a intensywne świecenia w cytoplazmie utrzymywały się. Najprawdopodobniej replikujące się w jądrze cząstki wirusowe uwalniały się z komórki przez cytoplazmę, powodując w niej swoiste świecenia. Ostatecznym potwierdzeniem swoistości odczynu IF było uzyskanie zahamowania immunofluorescencji nieznakowanymi przeciwciałami przeciwko wirusowi CPV-2 oraz koniugatu w rozcieńczeniach 1:7 i 1:14 (ryc. 2). W próbie kontrolnej ujemnej, to jest wirus IBR/IPV z koniugatem przeciwko wirusowi panleukopenii kotów w rozcieńczeniach 1:7 i 1:14, nie stwierdzono swoistych świeceń.

Reasumując należy stwierdzić, że świecenie antygeny parwowirusowego CPV-2 w cytoplazmie komór-



Ryc. 2. Zahamowanie IF nieznakowanym przeciwciałem

rek FC należy uznać za swoisty, dodatni odczyn immunofluorescencyjny.

Piśmiennictwo

1. Appel M. J. G., Cooper B. J., Greisen H., Scott F., Carmichael L. E.: *Cornell Vet.* 69, 123, 1979.
2. Carmichael L. E., Joubert J. C., Pollock R. V. H.: *Am. J. vet. Res.* 41, 784, 1980.
3. Eugster A. K., Bendele R. A., Jones L. P.: *J. Am. vet. Ass.* 173, 1340, 1978.
4. Klingeborn B., Moreno-Lopez J.: *Zentbl. VetMed. B.* 27, 483, 1980.
5. Macartney L., McCandlish I. A. P., Thompson H., Cornwell H. J. C.: *Vet. Rec.* 115, 533, 1984.
6. Macartney L., McCandlish I. A. P., Thompson H., Cornwell H. J. C.: *Vet. Rec.* 115, 453, 1984.
7. Malicki K.: Przewodnik do ćwiczeń z mikrobiologii weterynaryjnej. Cz. III. Riketsjologia i wirusologia. Skrypty AR w Warszawie. Warszawa 1975.
8. Mengeling W. L.: *Am. J. vet. Res.* 39, 323, 1978.
9. Osterhaus A. D. M. E., Van Steenis G., De Kreek P.: *Zentbl. Vet. Med. B.* 27, 11, 1980.

Adres autora: dr Cezariusz Hulas, ul. Grochowska 272, 03-849 Warszawa

ZYGMUNT KOSACKI, EWA SITARSKA, KRYSTYNA TOPA, WŁODZIMIERZ KLUCIŃSKI

Stężenie hydroksyproliny w moczu oraz inne wskaźniki przemian metabolicznych świń po podaniu witaminy D

Katedra Chorób Wewnętrznych z Kliniką Wydziału Weterynaryjnego SGGW-AR, ul. Grochowska 272, 03-849 Warszawa

Summary

The level of hydroxyproline in urine and other metabolic indices in pigs after the administration of vitamin D

The diagnostic value of the level of hydroxyproline in urine, compared with the set of mineral, protein and lipid metabolic indices, was assessed in case of experimental hypervitaminosis D in piglets. During two weeks of the experiment statistically significant changes in the expressed by the hydroxyproline/creatinine coefficient, were found after a single administration of 10 000 IU/kg vitamin D. At the same time a transitory significant increase of the level of total calcium and a decrease of inorganic phosphorus and the activity of alkaline phosphatase in the serum were observed. No differences were found in the concentration of total protein, urea, creatinine and cholesterol in the serum. Out of the parameters determining the bone-mineral balance, the concentration of hydroxyproline in urine was of great importance; this

index was sensitive and displayed smaller standard deviations and longer lasting possibilities to evaluate any changes due to hypervitaminosis D compared with the concentration of total calcium, inorganic phosphorus and the activity of alkaline phosphatase in the serum.

Profilaktyka chorób metabolicznych i częste nieprawidłowości w żywieniu trzody chlewnej w chowie przemysłowym stwarzają konieczność kontrolowania podstawowych przemian metabolicznych. Założeniem badań było opracowanie zestawu parametrów laboratoryjnych do oceny profilu metabolicznego świń. Zestaw wskaźników oznaczanych w surowicy: stężenie wapnia całkowitego, fosforu nieorganicznego, aktywność fosfatazy zasadowej, stężenie białka całkowitego, mocznika, kreatyniny i cholesterolu postanowiono

uzupełnić określeniem poziomu hydroksyproliny w moczu. Parametr ten stanowiłby wykładnik dynamiki przemian tkanki łącznej, użyteczny w ocenie gospodarki wapniowo-fosforowej i procesów kostnienia (1, 6).

Oznaczenie hydroksyproliny w moczu mogłoby uzupełniać, a może nawet zastąpić takie parametry, jak: stężenie wapnia całkowitego, fosforu nieorganicznego i aktywność fosfatazy zasadowej, wymagających pobierania krwi i obarczonych znaczną zmiennością w zależności od wielu czynników, takich jak: żywienie, warunki utrzymania, pora roku, wiek, rasa (3). W dostępnym piśmiennictwie nie znaleziono wartości referencyjnych, ani opracowań na temat poziomu hydroksyproliny w moczu świń.

W poprzedniej pracy (4) sprawdzano diagnostyczną przydatność oznaczania stężenia hydroksyproliny w moczu świń w tuczu przemysłowym w porównaniu z innymi wskaźnikami przemian metabolicznych. Wykazano różnice w zależności od wieku zwierząt. Istotnie wyższe wydalanie hydroksyproliny w moczu stwierdzono u warchlaków o średniej masie ciała 25 kg w porównaniu do stężenia hydroksyproliny w moczu loch wysokoprosnych i loch remontowych. W stężeniu omawianego parametru w grupach loch w różnych stanach fizjologicznych (loch prośne, lochy luźne) nie stwierdzono różnic. W grupie warchlaków najwyższemu współczynnikowi hydroksyprolina-kreatynina w moczu towarzyszyła najwyższa aktywność fosfatazy zasadowej i najwyższe stężenie fosforu nieorganicznego. Stężenie wapnia całkowitego w surowicy było wyrównane, niezależnie od stanu fizjologicznego i wieku zwierząt (4).

Stężenie hydroksyproliny w moczu jest obiecującym wskaźnikiem diagnostycznym przemian kolagenowych związanych z procesami kostnienia i gospodarką mineralną u świń. Zagadnienie to wymaga jednak wszechstronnego opracowania zarówno wartości referencyjnych, jak wartości diagnostycznych w różnych stanach patologicznych.

Celem podjętych badań była ocena wpływu jednorazowej wysokiej dawki wit. D₃ na wydalanie hydroksyproliny w moczu z jednoczesną kontrolą stężenia wapnia całkowitego, fosforu nieorganicznego, aktywności fosfatazy zasadowej, kreatyniny, stężenia mocznika i cholesterolu w surowicy szybko rosnących świń. Badania służyły ocenie wartości diagnostycznej stężenia hydroksyproliny w moczu w zestawieniu z podstawowymi wskaźnikami przemian kostno-mineralnych w warunkach przejściowej hiperwitaminozy D.

Materiał i metody

Badaniem przeprowadzonym w okresie zimowym (marzec) objęto 14 warchlaków rasy wbp o masie ciała ok. 25 kg, żywionych mieszanką przemysłową w systemie *ad libitum*. Kliniczna ocena stanu zdrowia oraz wyniki analizy moczu wraz z oceną osadu i podstawowe wskaźniki hematologiczne nie wykazywały odchylenia od normy. Po wstępnych badaniach zwierzęta otrzymały domięśniowo witaminę D w jednorazowej iniekcji 10 000 IU/kg, stanowiącej stukrotną zalecaną dawkę leczniczą. Preparat Vigantol-Merck, *ad us. vet.* 1 ml zawierał 90 000 IU wit. D₃. Materiał pobierano bezpośrednio przed oraz w 3, 7, i 14 dni po iniekcji witaminy.

Stężenie hydroksyproliny w moczu oznaczano metodą Sandberga i Zederfeldta z użyciem standardu 4-HP Koch-Light (10). Stężenie kreatyniny w moczu określano za

pomocą zestawu do kolorymetrycznego oznaczania kreatyniny w surowicy i moczu. Stężenie hydroksyproliny w moczu wyrażano we współczynniku hydroksyprolina/kreatynina (5, 7).

W surowicy oznaczano stężenie wapnia całkowitego metodą miareczkową (odeczyt na aparacie Calcium Analyzer Corning 940), stężenie fosforu nieorganicznego metodą kolorymetryczną w reakcji barwnej z molibdenianem amonu (technicor MT II), aktywność fosfatazy zasadowej metodą kinetyczną (odeczyt na aparacie Analizator Contifichem 400), stężenie mocznika — przy użyciu ureazy, elektrodą różnicową potencjałów na aparacie Beckman Analyzer II, stężenie cholesterolu metodą kolorymetryczną (CHOD-PAP), stężenie białka całkowitego metodą biuretową, stężenie kreatyniny metodą Jaffa z kwasem pikrynowym przy użyciu aparatu Analyzer II. Wyniki poddano analizie testem t-Studenta.

Wyniki i omówienie

Po otrzymaniu dawki 270 000 IU wit. D/szt. zwierzęta zachowały apetyt i nie wykazywały objawów zatrucia. Dawka ta spowodowała jednak istotne ($p \leq 0,001$) obniżenie wartości współczynnika hydroksyprolina/kreatynina w 7 dniu oraz obniżenie $p \leq 0,01$ wartości współczynnika hydroksyprolina/kreatynina w 14 dniu po podaniu wit. D. (tab. 1). Jednocześnie stwierdzono istotny ($p \leq 0,01$), przejściowy wzrost stężenia wapnia całkowitego, spadek ($p \leq 0,05$) stężenia fosforu nieorganicznego rejestrowany w 3 i 14 dniu (tab. 2) oraz istotne obniżenie ($p \leq 0,05$) aktywności fosfatazy zasadowej w 14 dniu po podaniu preparatu Vigantol (tab. 2). Nie obserwowano różnic w stężeniach białka całkowitego, mocznika, kreatyniny i cholesterolu w surowicy, a także w stężeniach kreatyniny i hydroksyproliny w moczu oznaczanej w mmol/l bez odniesienia do ilości wydalanej kreatyniny (tab. 1, 3).

Analiza wyników wskazuje na mierne nasilenie zmian w stężeniach podstawowych pierwiastków mineralnych kości w okresie 14 dni od podania witaminy D. Zmiany w stężeniach wapnia całkowitego i fosforu nieorganicznego miały charakter przejściowy. Hi-

Tab. 1. Stężenie hydroksyproliny i kreatyniny w moczu warchlaków po podaniu witaminy D₃ ($\bar{x} \pm s$; n=7)

Dni po-brań	Stężenie hydroksyproliny w moczu $\mu\text{mol/l}$	Stężenie kreatyniny w moczu $\mu\text{mol/l}$	Współczynnik $\frac{\text{kreatynina}}{\text{hydroksyprolina}}$
0	640,58 \pm 116,45	3898,0 \pm 1743,0	0,171 \pm 0,035
3	627,94 \pm 83,39	3842,09 \pm 998,92	0,163 \pm 0,03
7	417,6 \pm 181,05	5471,96 \pm 1982,97	0,075 \pm 0,017 ***
14	421,56 \pm 114,26	4687,0 \pm 1323,0	0,095 \pm 0,012 **

Objaśnienia: ** — istotność różnic $p \leq 0,01$, *** — istotność różnic $p \leq 0,001$.

Tab. 2. Wskaźniki przemian mineralnych w surowicy warchlaków po podaniu witaminy D₃ ($\bar{x} \pm s$; n=7)

Dni po-brań	Stężenie wapnia całkowitego w surowicy $\mu\text{mol/l}$	Stężenie fosforu nieorganicznego w surowicy mmol/l	Aktywność fosfatazy — zasadowej w surowicy U/l
0	2,53 \pm 0,14	3,60 \pm 0,29	477 \pm 127
3	2,84 \pm 0,15 **	3,05 \pm 0,51 *	451,14 \pm 105,74
7	2,58 \pm 0,16	3,64 \pm 0,30	433,14 \pm 111,76
14	2,42 \pm 0,91	3,09 \pm 0,37 *	295,43 \pm 86,42

Objaśnienia: * — istotność różnic $p \leq 0,05$, ** — istotność różnic $p \leq 0,01$.

Tab. 3. Wskaźniki przemian białkowych i tłuszczowych w surowicy warchlaków po podaniu witaminy D₃ ($\bar{x} \pm s$; n=7)

Dni pobrań	Stężenie białka całkowitego w surowicy g/l	Stężenie mocznika w surowicy mmol/l	Stężenie kreatyniny w surowicy $\mu\text{mol/l}$	Stężenie cholesterolu w surowicy mmol/l
0	44,86 \pm 4,6	67,34 \pm 17,53	63,14 \pm 13,91	25,56 \pm 2,99
3	43,29 \pm 7,63	56,67 \pm 13,73	66,93 \pm 13,36	24,18 \pm 3,48
7	48,71 \pm 3,35	4837 \pm 1578	56,07 \pm 20,46	28,52 \pm 2,26
14	47,29 \pm 4,99	52,88 \pm 189,4	56,83 \pm 12,35	25,60 \pm 2,84

perkalcemia po podaniu wit. D jest krótkotrwała (w praktyce trudna do uchwycenia), dlatego też diagnostyczna wartość tego parametru wydaje się być dyskusyjna (8).

Brak klinicznych objawów hiperwitaminozy D i stosunkowo niewielkie zmiany w stężeniach wapnia całkowitego, fosforu nieorganicznego i aktywności fosfatazy zasadowej można wyjaśnić pewną bezwładnością w biologicznym działaniu witaminy D, ulegającej magazynowaniu w wątrobie, transformacji w nerkach i skórze, tym bardziej, iż w zimowym sezonie wychowu istniało duże prawdopodobieństwo hiperwitaminozy D (9); także fakt niepowtarzania iniekcji i niepodawania w paszy preparatów zawierających ten czynnik wzrostu mógł wpłynąć na nietoksyczność dawki. Przypadki zatrucia preparatami wit. D występują po stosowaniu znacznie mniejszych dawek, lecz powtarzanych przez dłuższy okres czasu (2). Warchlaki w sezonie zimowym wykazują znaczną tolerancję na jednorazowe przedawkowanie witaminy D.

Analizując wyniki parametrów określających przemiany kostno-mineralne w porównaniu ze współczynnikiem hydroksyprolina/kreatynina w moczu należy stwierdzić, że stężenie wapnia całkowitego i fosforu nieorganicznego w surowicy ulega stosunkowo krótkotrwałym istotnym zmianom. Aktywność fosfatazy zasadowej obniża się wyraźnie dopiero w drugim tygodniu po przedawkowaniu wit. D. Parametry te są obciążone dużymi zmianami osobniczymi do 30% średnich wartości. Różnice we współczynniku hydroksyprolina/kreatynina są istotne statystycznie, a średnie cechują się niewielkimi odchyleniami standardowymi, co świadczy o małej zmienności wyników w obrębie badanej populacji.

Na podstawie przeprowadzonych badań weryfikujących czułość porównywanych parametrów na zmiany w metabolizmie kostno-mineralnym w hiperwitaminozie D u warchlaków można wnioskować, że współczynnik hydroksyprolina/kreatynina w moczu jest dobrym wskaźnikiem diagnostycznym.

Piśmiennictwo

1. Doubek J., Jagoš P., Illek J.: Veterinarství 33, 461, 1983.
2. Dzanis D. A., Kalfelz F. A.: Vitamin D. Molecular Cellular and Clinical Endocrinology. Norman A. W., Schafer K., Grigoleit H. G., Herrath D. V. (wyd.), Walter de Gruyter, Berlin 1988, s. 797-798.
3. Golebiowski S., Bratkowski A., Smolarz M.: Medycyna Wet. 35, 335, 1979.
4. Kosacki Z., Sitarz E., Topa K., Kluciński W.: Medycyna Wet. (w druku).
5. Kukari M., Kligore L.: J. Clin. Nutr. 26, 1069, 1973.
6. Laitinen O.: Acta Med. Scand. Supplement 577, 1966.
7. Lanoe-Moroz E., Serwin E.: Płodność: Diagn. Lab. 16, 19, 1980.
8. Kociba G. J., Menten P. J., Chew D. J., Capen C. C.: J. Am. vet. med. Ass. 180, 1, 1982.
9. Poltillart A., Reach J.: Porcine France 335, 1980.

Adres autora: lek. wet. Zygmunt Kosacki, ul. Dickensa 43/59, 03-382 Warszawa

JACEK SZCZAWIŃSKI, MAŁGORZATA SZCZAWIŃSKA, MARCIN SZULC

Wpływ napromieniowania mięsa peklowanego na dynamikę wzrostu pałeczek *Salmonella* (wprowadzonych po napromieniowaniu)

Katedra Higieny Żywności Wydziału Weterynaryjnego SGGW-AR,
ul. Nowourynowska 161, 02-975 Warszawa

Summary

Effect of irradiation of cured meat on the growth rate of *Salmonella*

The purpose of the work was to compare the growth rate of *Salmonella* cells in unirradiated and irradiated samples of cured meat, inoculated following irradiation, and stored under room temperature. The samples of pork were cured with the addition of 0 and 156 mg/kg sodium nitrate, pasteurized for 30 min at 70°C, irradiated with 0, 10, 20, 30, 40, and 50 kGy, inoculated with *S. enteritidis* or *S. typhimurium* and incubated at 20°C. The number of the bacteria was determined after 0, 1, 2 and 3 days of storage. The findings demonstrated that: a) Sodium nitrate at a dose of 156 mg/kg decreased the growth rate of the bacterial cells in cured meat, b) Irradiation of cured meat without NaNO₂ had no effect on the growth rate of salmonellae, c) A high dose of irradiation (10-50 kGy) of cured meat with the addition of 156 mg/kg sodium nitrate led to a faster multiplication of the bacterial cells in the samples under study.

We wcześniejszych badaniach własnych stwierdzono, że wysokie dawki promieniowania jonizującego (10-50 kGy) powodują znaczną, proporcjonalną do

dawki redukcję azotynu sodowego w próbkach peklowanego mięsa (17). Uzyskane wyniki wykazały, że radapertyzacja przetworów mięsnych peklowanych z dodatkiem 156 mg/kg NaNO₂ obniża stężenie tego związku do poziomu, przy którym nie obserwuje się jego bakteriostatycznego oddziaływania na *C. botulinum*. Ponieważ stężenie azotynu sodowego jest nie tylko jednym z podstawowych czynników warunkujących rozwój *C. botulinum*, ale wywiera również istotny wpływ na wzrost innych bakterii (1, 2, 11, 14), wydaje się, że promieniowanie jonizujące, powodując rozkład tego związku, może w pewnych warunkach zmieniać podatność peklowanych przetworów mięsnych na rozkład gnilny i być może ułatwiać rozwój niektórych bakterii, jeżeli dojdzie do skażenia nimi produktu już po obróbce radiacyjnej.

W tej sytuacji uzasadnione wydaje się podjęcie badań nad określeniem możliwości namnażania się w peklowanym i napromieniowanym wysokimi dawkami mięsie pałeczek *Salmonella*, które należą do drobnoustrojów najczęściej wywołujących zatrucia pokarmowe w naszym kraju (9), zwłaszcza, że w dostępnym piśmiennictwie nie spotkano informacji na ten temat.