

VĚDECKÝ ČASOPIS



VETERINÁRNÍ MEDICÍNA

4

ROČNÍK 24 (LII)
PRAHA
DUBEN 1979
CENA 10 Kčs

ČESKOSLOVENSKÁ AKADEMIE ZEMĚDĚLSKÁ
ÚSTAV VĚDECKOTECHNICKÝCH INFORMACÍ
PRO ZEMĚDĚLSTVÍ

VETERINÁRNÍ MEDICÍNA

Řídí redakční rada:

prof. MVDr. Antonín Holub, DrSc. (předseda), prof. MVDr. Koloman Boda, DrSc., doc. MVDr. Jan Čarvaš, CSc., prof. MVDr. Jaroslav Dražan, CSc., MVDr. Miroslav Dvořák, CSc., MVDr. Miloš Halaša, CSc., doc. MVDr. Jozef Hrušovský, DrSc., prof. MVDr. Emanuel Král, doc. MVDr. Ladislav Polák, CSc., MVDr. Josef Raszyk, CSc., MVDr. Antonín Tesař, CSc., akademik Jaroslav Vrtiak, DrSc.

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

Redaktorka ing. Jovanka Václavíková

© Ústav vědeckotechnických informací pro zemědělství, Praha 1979

■

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

■

Научный журнал VETERINÁRNÍ MEDICÍNA публикует обзоры, анализы и научные статьи о разрешенных задачах по научному исследованию в области ветеринарии. Издает Чехословацкая сельскохозяйственная академия — Институт научно-технической информации по сельскому хозяйству. — Выход в свет ежемесячно. Редакция 120 56 Прага 2, Слезка 7.

■

The scientific journal VETERINÁRNÍ MEDICÍNA publishes studies, analyses and scientific treatises about the solved research tasks in the line of the veterinary medicine. Published by the Czechoslovak Academy of Agriculture — Institute of Scientific and Technical Information for Agriculture. Issued monthly. Editorial office 120 56 Prague 2, Slezská 7.

■

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

REZISTENCIA SLIZNÍC HORNÝCH CIEST DÝCHACÍCH U DOBYTKA PROTI INFEKCII VÍRUSOM IBR VO VZŤAHU K OBSAHU HUMORÁLNYCH A SEKRETORICKÝCH PROTILÁTKO A LOKÁLNEJ PRODUKCII INTERFERONU

A. Žuffa, A. Brányik, J. Salaj

ŽUFFA, A. — BRÁNYIK, A. — SALAJ, J. (Výskumné a vývojové pracovisko, Bioveta, Nitra): *Rezistencia slizníc horných ciest dýchacích u dobytká proti infekcii vírusom IBR vo vzťahu k obsahu humorálnych a sekretorických protilátok a lokálnej produkcie interferonu*. Vet. Med., Praha, 24, 1979 (4) : 193-207.

I. nas. aplikácia troch avirulentných kmeňov vírusu IBR vnímavým teľatám v dávkach $10^{6.5}$ až $10^{6.6}$ TKID₅₀ nevyvolala narušenie ich zdravotného stavu, hoci sme vírus dokázali vo vysokých množstvách v nosných sekrétoch do 9. až 11. dňa. Replikácia vírusu vyvolala syntézu interferonu, ktorého obsah bol priamo závislý od titrov vírusu. Sekretorické protilátky sa objavili oneskorene (za 28 dní), nepravidelne a v nízkych titroch, ale sérové protilátky sme zistili u všetkých zvierat za 14 dní. Neutralizačné protilátky sa v krvnom sére dokazovali za prítomnosti komplementu už za sedem dní, pričom v ranom období primárnej imunitnej odpovede boli ich titry štyri až osemkrát vyššie ako bez komplementu. Očkované teľatá ostali po infekcii virulentným vírusom zdravé a vylučovali menšie množstvo vírusu a po kratší čas ako vnímavé kontroly. Zníženej replikácii vírusu odpovedala aj slabšia produkcia interferonu; sekretorické protilátky sme dokázali u všetkých zvierat za dva týždne a pri sérových protilátkach sme zaznamenali rýchly vzostup do vysokých titrov. Po ďalšej infekcii sme v nosných sekrétoch nedokázali vírus ani interferon; sekretorické protilátky pretrvávali v nízkych titroch, ale pri sérových došlo k ich miernemu vzostupu. Úplnú rezistenciu slizníc horných ciest dýchacích proti infekcii sme zaznamenali u zvierat, ktorým sme podali okolo 10^7 TKID₅₀ vírus *i. nas.*, nie však u zvierat, ktoré prekonalí prirodzenú a následne experimentálnu infekciu. V práci diskutujeme o úlohe jednotlivých imunitných mechanizmov pri vyvolaní rezistencie slizníc proti infekcii vírusom IBR.

bovínny herpesvírus 1; respiračná infekcia; lokálna imunita

Imunoprofylaxia infekčnej bovinej rinotracheitídy (IBR) hovädzieho dobytká sa doposiaľ robí, pre nedostatok účinných inaktivovaných vakcín [Schipper a Kelling, 1974], prevažne živými očkovacími látkami [Casselberry, 1968; Straub a i., 1973]. Živé vakcíny sa aplikujú parenterálne alebo nazálne, rozchádzajú sa však názory, ktorý z obidvoch spôsobov je efektívnejší. Mc Kercher a Crenshaw (1971) odporúčajú parenterálne podanie živej vakcíny s odôvodnením, že tento spôsob vyvolá pri menšej záťaži zvierat rovnaký stupeň chránenosti ako nazálne podanie vírusu. Naproti tomu Todd a i. (1971) uprednostňujú nazálnu aplikáciu vakcíny, ktorá popri navodení systémovej imunitnej odpovede vyvolá lokálnu produkciu interferonu, inhi-

bujúceho replikáciu nielen vírusu IBR, ale aj ďalších na interferon vnímavých vírusov.

V predchádzajúcom oznámení sme referovali o tom, že aj po *i. nas.* aplikácii živej IBR-vakcíny ostatnú sliznicu horných ciest dýchacích vnímavé na infekciu a replikujú virulentný vírus, ktorý sa vo veľkých množstvách vylučuje v nosných sekrétoch; ziveratá sú chránené len proti klinickému ochoreniu (Žuffa a i., 1974). V ďalších pokusoch, o výsledkoch ktorých referujeme v tejto práci, sme zisťovali priebeh množenia viacerých avirulentných kmeňov vírusu IBR na slizniciach horných ciest dýchacích a stupeň ich rezistencie na infekciu virulentným vírusom, a to vo vzťahu k lokálnej produkcii interferonu a k tvorbe sekrektorických a sérových protiátok. Ďalej sme porovnávali chránenosť slizníc horných ciest dýchacích proti experimentálnej infekcii u teliat očkovaných *i. nas.* živou vakcínou a zvierat, ktoré prekonal prirodzenú infekciu.

MATERIÁL A METÓDY

VÍRUSY

Avirulentný kmeň IBR-BK5-TOB100-JOB50 prekonal 100 sériových pasáží na skúmavkových kultúrach z teľacích obličiek a 50 pasáží na jahňacích obličkových kultúrach, z čoho 20 pasáží pri teplote 30 °C (Žuffa a i., 1977). Vírusy IBR-C a IBR-R predstavovali izoláty z bivalentnej IBR-PI-3 vakcíny RESBOVAC fy Norden Lab., resp. bivalentnej IBR-PI-3 vakcíny fy Jensen – Salisbury Lab. Jednotlivými kmeňmi sme infikovali jahňacie obličkové kultúry narastené v Rouxových fľašiach, tekutiny po špecifickej degenerácii tkaniva a po pridaní vhodných protekčných látok sme lyofilizovali a udržiavali v ampulkách zatavených pod vákuom.

Vyvolávajúce infekcie sme robili kmeňom IBR-BK5 v ôsmej pasáži na teľacích obličkových bunkách (Žuffa a i., 1970).

Pre dôkaz interferonu sme použili vírus VSV, kmeň Indiana, ktorý sme získali zo zbierky Virologického ústavu SAV v Bratislave.

BUNKOVÉ KULTÚRY

Bunkové kultúry z fetálnych boviných obličiek (FBO) sme pripravovali už opísaným spôsobom (Žuffa a Chumchal, 1972). Pre titráciu vírusu a proti látok sme skúmavkové kultúry FBO v prvej alebo druhej subpasáži zakladali do Earlovho média s 0,3 % LAH-U (EM) a 2 % fetálneho boviného séra (FBS). Infikovali sme ich po 24 až 48 hodinách inkubácie pri teplote 37 °C bez výmeny média.

NOSNÉ SEKRETY

Nosné sekrety pre vyšetrovanie na obsah interferonu a protilátok sme získali pomocou vatových tampónov zasúvaných pozdĺž ventrálnej steny do nosných dutín. Po 30 minútach sme tampóny vytiahli a sekrety získané vytlačením do sterilných skúmaviek odstredením vyčírili, pridali antibiotiká a skladovali pri teplote -70 °C. Sediment získaný odstredením sme resuspendovali v 2 ml pufrovaného fyziologického roztoku a po zmrazení a rozmrazení vyšetrovali na prítomnosť hemoglobínu pomocou benzidínovej skúšky. Vzorky sekretov, slúžiace pre dôkaz protilátok, sme predtým inaktivovali.

Pre dôkaz vírusu sme robili stery nosnej sliznice pomocou vatových tampónov, ktoré sme ponorili do 3 ml EM s 5 % konského séra a počas 24 hodín eluovali pri chladničovej teplote.

SÉRA

Krvné vzorky sme získali punkciou *v. jugularis*, séra po vyčírení odstredením inaktivovali pri teplote 56 °C počas 30 minút a až do vyšetrenia skladovali pri -20 °C.

TITRÁCIA VÍRUSU

Obsah vírusu vo výluhoch z nosných výterov, vyjadrený v TKID₅₀, sme zisťovali z titrácií na skúmavkových kultúrach FBO očkovaných desaťnásobnými riedeniami vírusu, s použitím najmenej štyroch skúmaviek na jedno riedenie. TKID₅₀ sme vypočítali podľa formuly Reeda a Muencha.

TITRÁCIA INTERFERONU

Nosné sekrety nariadené v EM v pomere 1 : 5 sme odstredili pri 3000 obrátkach za minútu počas 30 minút, pridali antibiotiká a dialyzovali počas šiestich hodín proti citrátovému pufru o pH 2,5. pH vzoriek sme upravili na neutrálnu hodnotu pomocou 1N NaOH a vzorky sme dialyzovali proti Earlovmu roztoku (ER) cez noc a až do vyšetrenia skladovali pri teplote -70°C . Dobré narastené skúmavkové kultúry FBO sme po zliatí rastového média prepláklí ER a zaliali 1 ml dvojnásobných riedení vyšetrovaných sekreťov, pripravených v bazálnom Eaglovom médiu (BEM) s 2 % FBS, po dvoch skúmavkách na každé riedenie. Po 24 hodinách inkubácie pri teplote 37°C sme kultúry po zliatí vyšetrovaných materiálov dvakrát prepláklí ER a zaliali BEM s 2 % FBS s obsahom 10^2 TKID₅₀ vírusu VSV. Kontrolnú titráciu VSV sme robili očkovaním skúmavkových kultúr FBO desaťnásobnými riedeniami, po štyroch skúmavkách na jedno riedenie. Odčítanie výsledku podľa CPE sme robili po 24 hodinách inkubácie kultúr pri teplote 37°C . Titer interferonu vyjadrovalo najvyššie riedenie vyšetrovaného materiálu, pri ktorom očkované kultúry vykazovali 50 % inhibíciu CPE.

TITRÁCIA PROTILÁTKO

K dvojnásobným riedeniam sér, resp. sekreťov, pripraveným v množstve po 0,5 ml, sme pridali 0,5 ml vírusu s obsahom okolo 2×10^2 TKID₅₀ na 0,1 ml. Po jednej hodine inkubácie pri teplote 37°C sme každým riedením očkovali vždy dve skúmavkové kultúry FBO dávkou po 0,2 ml. Výsledok sme podľa CPE odčítali po sedemdnovej inkubácii kultúr pri teplote 37°C . Za titer protilátok sme považovali to riedenie séra, ktoré úplne neutralizovalo vírus aspoň v jednej z dvoch očkovaných skúmaviek.

Pri vyšetrovaní sér na obsah protilátok závislých od komplementu sme postupovali takto: Komplement, morčacie sérum nariadené v pomere 1 : 3 v EM, sme skladovali rozplnený v skúmavkách pri teplote -70°C . K dvojnásobným riedeniam sér, pripraveným v dvoch radoch v EM so 4 % inaktivovaného telacieho séra bez protilátok proti vírusu IBR v množstve po 0,25 ml, sme pridali 0,25 ml vírusu s obsahom cca 5×10^2 TKID₅₀ na 0,1 ml a po 0,25 ml aktívneho, resp. inaktivovaného komplementu. Zmes riedení sér, vírusu a komplementu sme inkubovali jednu hodinu pri teplote 37°C a každým riedením séra s obsahom aktívneho, resp. inaktivovaného komplementu sme očkovali vždy dve skúmavkové kultúry FBO dávkou po 0,2 ml. Výsledok sme odčítali rovnako ako pri bežnom neutralizačnom teste.

KLINICKÉ POZOROVANIA

Klinická kontrola zahŕňovala denné meranie telesnej teploty, sledovanie celkového zdravotného stavu zvierat, chuti k prijímaniu potravy, zmien na sliznici nosa a výtoku z nosa.

USPORIADANIE POKUSOV

Pokus 1: Vychádzajúc zo zistení, že teľatá očkované *i. nas.* živou IBR vakcínou z kmeňa IBR-BK5-TOB100 pomnožovali po infekcii virulentný vírus na slizniciach ciest dýchacích (Žuffa a i., 1974), chceli sme porovnať stupeň chránenosti vyvolaný našou živou vakcínou so stupňom ochrany vyvolaným očkovaním vakcinačnými kmeňmi zahraničného pôvodu. Vždy štyrom teľatám vo veku štyroch až piatich mesiacov, bez protilátok proti vírusu IBR, sme do každého nosného otvoru aplikovali po 2 ml vírusovej suspenzie pripravovanej rehydrovaním dvoch ampulí lyofilizátov kmeňov IBR-BK5-TOB100-JOB50, IBR-C a IBR-R v 20 ml ER; pripra-

vené suspenzie obsahovali $10^{6.3}$ TKID₅₀, $10^{6.0}$ TKID₅₀, resp. $10^{6.6}$ TKID₅₀ vírusu v 1 ml. Vírusy sme aplikovali do nosných otvorov do hĺbky cca 10 cm injekčnou striekačkou opatrenou pryžovou hadičkou. Štyri teľatá ostali neošetrené ako kontroly.

Za dva mesiace od očkovania sme zvieratá, vrátane kontrolných, infikovali *i. nas.* virulentným vírusom IBR-BK5 s infekčným titrom $10^{6.5}$ TKID₅₀ na 1 ml a za dva mesiace všetky rovnakým spôsobom reinfikovali. Výtery dutiny nosnej pre dôkaz vírusu sme robili vždy pred očkovaním, infekciou a reinfekciou a potom v 1., 2., 3., 4., 7., 9., 11. a 14. dni. Sekréty pre dôkaz interferonu sme odoberali pred očkovaním, infekciou a reinfekciou a potom v 1., 2., 3., 4., 7., a 9. dni. Nosné sekréty a krvné vzorky pre dôkaz NP sme pokusným zvieratám odoberali pred očkovaním, infekciou a reinfekciou a potom v týždňových až mesačných intervaloch.

Pokus 2: V druhom pokuse sme porovnávali chránenosť teliat očkovaných *i. nas.* vírusom IBR-BK5-TOB100-JOB50 a teliat, ktoré prekonali prirodzenú infekciu. Štyri teľatá pochádzajúce z chovu, v ktorom prebehlo akútne respiračné ochorenie vírusom IBR (infekcia vírusom IBR bola potvrdená zistením špecifických protilátok v krvných sérach odobratých v rekonvalescencii, v porovnaní s negatívnymi nálezmi v sérach v akútnom štádiu choroby), boli podrobené infekcii vírusom IBR-BK5 súčasne so štyrmi teľatami očkovanými *i. nas.* živou IBR-vakínou. Medzi očkovaním a umelou infekciou uplynulo šesť týždňov. Za dva mesiace sa všetky zvieratá podrobili ďalšej experimentálnej infekcii.

Nosné výtery pre dôkaz vírusu a sekréty pro dôkaz protilátok sme po infekcii a reinfekcii odoberali v rovnakých časových intervaloch ako v predchádzajúcom pokuse.

Odbor krvných vzoriek sme u očkovaných zvierat uskutočnili za 7, 14, 21, 28 a 42 dní, po infekcii v obidvoch skupinách za 7, 14, 28 a 56 dní a po ďalšej infekcii za 7 a 14 dní.

VÝSLEDKY

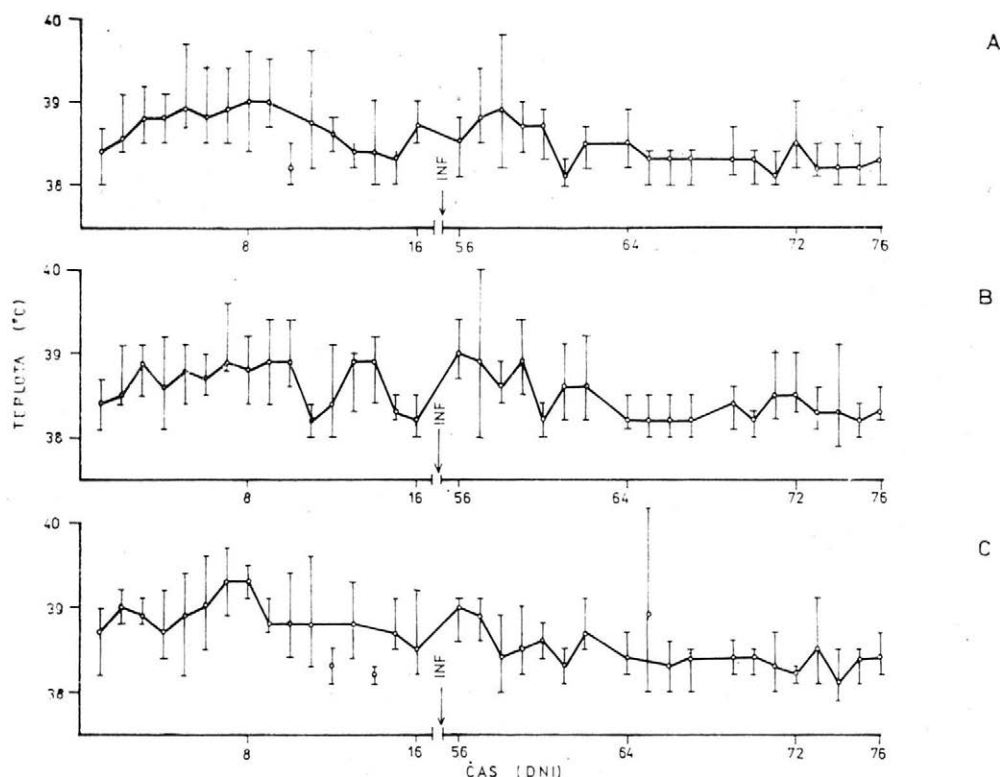
POKUS I: MNOŽENIE VÍRUSU, TVORBA INTERFERONU, SEKRETORICKÝCH A SÉROVÝCH PROTILÁTK U TELIAT PO *i. nas.* OČKOVANÍ, INFEKЦИИ A REINFEKЦИИ VÍRUSOM IBR

U teliat očkovaných *i. nas.* tromi avirulentnými kmeňmi vírusu IBR sme v pozorovacom čase 21 dní nezistili žiadne poruchy celkového zdravotného stavu. V období od tretieho do siedmeho dňa *p.v.* došlo k miernemu zmnoženiu serózneho výtoku z nosa.

Priemerná telesná teplota sledovaných zvierat bola v čase očkovania 38,5 °C. Priemerné denné hodnoty telesných teplôt boli v jednotlivých skupinách podobné, pričom súhrnný počet dní s horúčkou (39,3 °C a viac) bol pri skupinách očkovaných kmeňom IBR-BK5-TOB100-JOB50 päť dní, kmeňom IBR-C tri dni a kmeňom IBR-R šesť dní (obr. 1).

Na infekciu reagovali zvieratá opäť zmnožením serózneho nosného výtoku s trvaním od tretieho do šiesteho dňa, avšak bez febrilných a akýchkoľvek klinických reakcií. U kontrolných zvierat vyvolala infekcia klinické ochorenie charakterizované horúčkou (až do 40,5 °C), miernou depresiou (od tretieho do siedmeho dňa) a silným seróznym hlienovitým, neskôr hlienovito-hnisavým výtokom z nosa (od 10. do 12. dňa). Reinfekcia ostala bez akýchkoľvek lokálnych či celkových reakcií.

Rastové krivky vírusu na slizniciach horných ciest dýchacích vykazovali pri všetkých troch kmeňoch jednovrcholový charakter, pričom však obsah vírusu za 24 hodín *p.v.* aj pretrvávanie horných titrov vírusu v nosných sekrétoch boli v jednotlivých skupinách rozdielne. U zvierat ošetrených kmeňom IBR-BK5-TOB100-JOB50 sa najvyššie hodnoty infekčných titrov zisťovali medzi druhým až siedmym dňom, u zvierat



1. Priebek telesných teplôt po *i. nas.* očkovaní teliat tromi avirulentnými kmeňmi, A — IBR-BK5-PTOB100-JOB50, B — IBR-C, C — IBR-R a infekcií virulentným kmeňom IBR-BK-5 — The course of body temperatures after intranasal inoculation of calves with three avirulent strains, A — IBR-BK5-PTOB100-JOB50, B — IBR-C, C — IBR-R, and after infection with the virulent strain IBR-BK-5

ošetrených IBR-C medzi druhým až piatym dňom a u zvierat ošetrených IBR-R medzi prvým a štvrtým dňom. Malé množstvá infekčného vírusu sa u jednotlivých zvierat dokázali do 9. až 11. dňa, pričom neboli preukazné rozdiely u zvierat jednotlivých skupín.

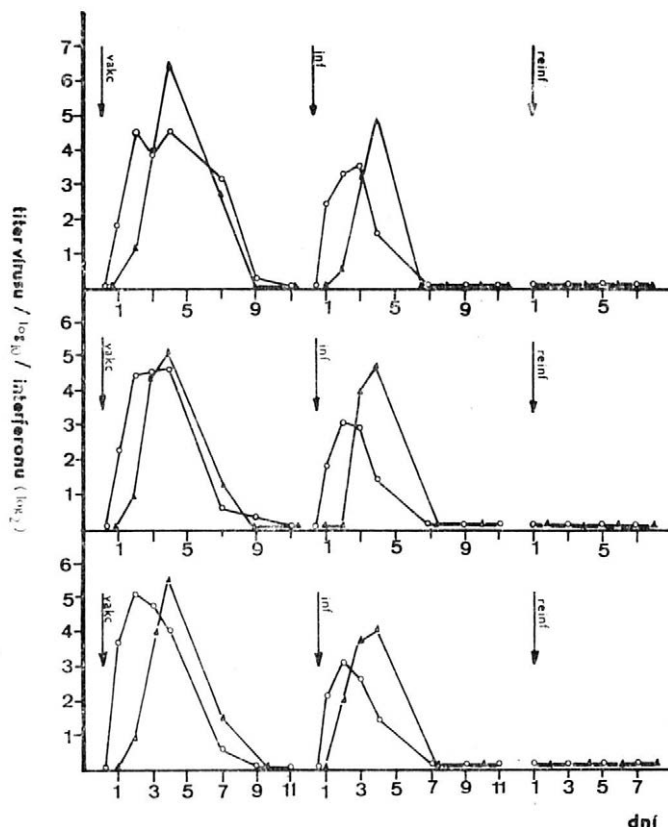
Infekcia virulentným vírusom navodila množenie vírusu u zvierat všetkých troch pokusných skupín, s veľmi podobným priebehom rastových kriviek. Infekčné titry vírusu boli však na vrchole množenia vo všetkých prípadoch nižšie ako po *i. nas.* očkovaní avirulentnými kmeňmi, pričom zvieratá vylučovali vírus len do štvrtého až siedmeho dňa. Zvieratá kontrolnej skupiny vylučovali vírus počas 9 až 14 dní s hodnotami infekčných titrov od $10^{5,5}$ do $10^{7,0}$ TKID₅₀ na 0,1 ml, t.j. o 1 až 1,5 log₁₀ jednotky vyššími v porovnaní s titrami zaznamenanými u pokusných zvierat primárne očkovaných avirulentnými kmeňmi.

Proti reinfekcii boli refraktérne zvieratá všetkých troch pokusných skupín, ale u zvierat kontrolnej skupiny došlo k množeniu vírusu na slizniciach ciest dýchacích, ktorého priebeh bol rovnaký ako u pokusných zvierat po prvej infekcii.

Časový dôkaz aj obsah interferonu v nosných sekrétoch bol v priamej závislosti od obsahu vírusu. Interferon sme dokázali najskôr za

48 hodín po *i.nas.* aplikácii avirulentných kmeňov, s dosiahnutím horných titrov v štvrtom dni a pretrváváním do siedmeho dňa. Prvý dôkaz interferonu spadal teda do obdobia intenzívneho množenia vírusu IBR na slizniciach ciest dýchacích, pričom pretrvávajúce interferonu sa časove krylo s prítomnosťou vírusu v nosných sekrétoch. Infekcia zvierat, doprevádzaná množením vírusu, navodila opäť syntézu interferonu, ktorého obsah a pretrvávajúce boli priamo závislé od obsahu vírusu v nosných sekrétoch. Po reinfekcii sme v sekrétoch nedokázali ani vírus ani interferon.

Časová a kvantitatívna závislosť prítomnosti interferonu od obsahu vírusu v nosných sekrétoch je graficky znázornená na obr. 2.

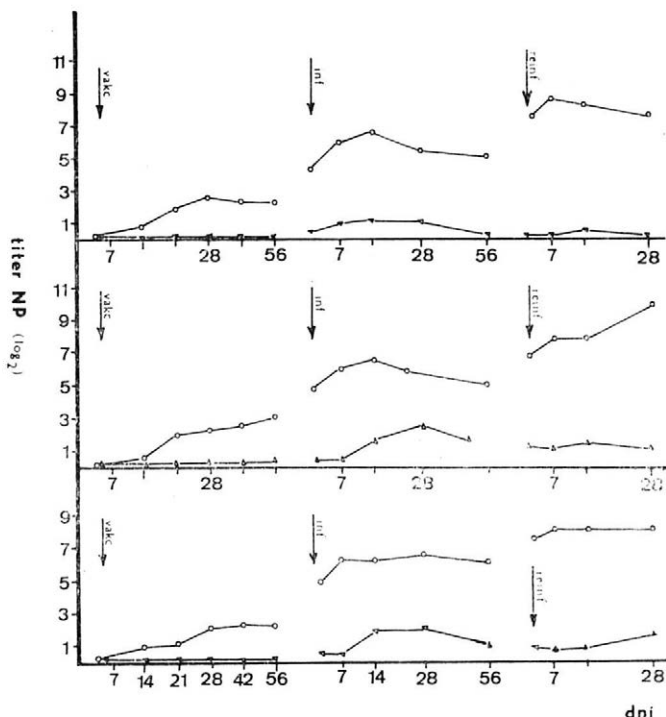


2. Obsah vírusu (—) a interferonu (---) v nosných sekrétoch teliat očkovaných *i. nas.* tromi avirulentnými kmeňmi a po infekcii a reinfekcii virulentným kmeňom vírusu IBR (označenie vírusových kmeňov je zhodné s obr. 1) — The content of the virus (—) and interferon (---) in the nasal secretions of calves inoculated intranasally with three avirulent strains, and calves infected and reinfected with the virulent strain of the IBR virus (virus strains denoted as in Fig. 1)

Sekretorické protilátky sme dokazovali až za 28 dní od *i.nas.* aplikácie avirulentných vírusov, s nepravidelným výskytom a v nízkych titroch; reinfekcia však viedla k tvorbe, resp. vzostupu sekretorických protilátok do titrov 1:2 až 1:8 už za 7 až 14 dní, s ich následným poklesom, pričom reinfekcia už ich hodnoty preukazne neovplyvnila.

Sérové protilátky sme u všetkých zvierat dokázali v nízkych titroch za 14 dní, s následným vzostupom. Infekcia vyvolala rýchly vzostup protilátok do vysokých titrov a reinfekcia ďalšie, avšak menej výrazné zvýšenie titrov protilátok (obr. 3).

3. Obsah sérových (—) a sekretorických (---) protilátok u teliat očkovaných *i. nas.* tromi avirulentnými kmeňmi a po infekcii a reinfekcii virulentným kmeňom vírusu IBR (označenie vírusových kmeňov je zhodné s obr. 1) — The content of serum antibodies (—) and secretory antibodies (---) in calves inoculated intranasally with three avirulent strains and calves infected and re-infected with the virulent IBR virus strain (virus strains denoted as in Fig. 1)



POKUS 2 : PRIEBEH *i. nas.* INFEKČIE A REINFEKČIE VÍRUSOM IBR U TELIAT OČKOVANÝCH *i. nas.* ŽIVOU VAKCÍNOU A U TELIAT, KTORÉ PREKONALI PRIRODZENÚ INFEKČIU

U teliat očkovaných *i. nas.* živou vakcínou, ako aj u teliat, ktoré prekonali prirodzenú infekciu, vyvolala *i. nas.* infekcia virulentným vírusom zníženie serózneho výtoky z nosných otvorov počas štyroch až siedmich dní bez narušenia celkového zdravotného stavu. Zvýšenie telesných teplôt nad hornú fyziologickú hranicu bolo ojedinelé a krátkodobé, bez preukazných rozdielov u zvierat obidvoch skupín.

V nosných sekrétoch získaných od *i. nas.* očkovaných zvierat sme dokazovali vírus počas štyroch až siedmich dní, s najvyššími hodnotami titrov v treťom dni u *i. nas.* očkovaných, resp. v štvrtom dni u prirodzene infikovaných zvierat.

Po reinfekcii boli bez vírusu sekréty u očkovaných a infikovaných zvierat, kým všetky zvieratá, ktoré prekonali prirodzenú a experimentálnu infekciu, vylučovali vírus v nízkych titroch počas jedného až troch dní (tab. I).

NP v sekrétoch sme v čase infekcie dokázali u dvoch teliat prvej a u jedného teľaťa druhej skupiny, s ich tvorbou, resp. vzostupom po infekcii (1:2 — 1:4); reinfekcia už titry sekretorických protilátok neovplyvnila.

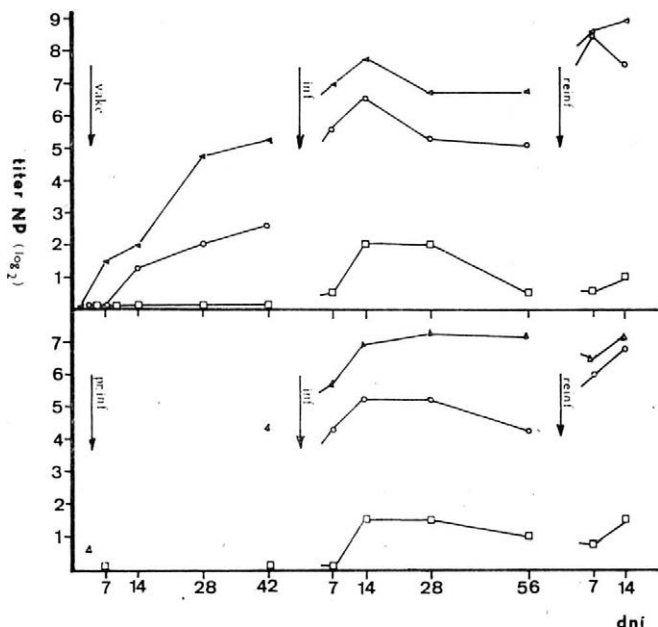
Komplement-dependentné protilátky sme dokázali v krvných sérach v preukazných titroch v siedmom dni *p.v.* u troch zo štyroch teliat prvej skupiny, kedy pri bežnom prevedení testu vykazovalo neutralizačnú schopnosť len jedno neriedené sérum. Titry NP za prítomnosti komplementu boli až do infekcie, t.j. až do 42. dňa, štvor- až osemnásobne

I. Obsah vírusu v nosných sekrétoch po dvojnásobnej experimentálnej infekcii teliat, ktoré boli predtým očkované *i. nas.* živou vakcínou, resp. prekonali prirodzenú infekciu — Virus content in the nasal secretions after double experimental infection of calves which have been inoculated intranasally with a live vaccine or which have survived natural infection

Telatá	Číslo zvierat	Obsah vírusu v nosných sekrétoch v log ₁₀ TKID ₅₀ na 0,1 ml za dni												
		po infekcii							po reinfekcii					
		0	1	2	3	4	7	10	0	1	2	3	4	5
Očkované <i>i. nas.</i> živou vakcínou	17	0	2,5	3,6	3,5	1,3	0	0	0	0	0	0	0	0
	18	0	3,3	4,0	3,6	2,0	0,5	0	0	0	0	0	0	0
	19	0	2,4	3,6	3,5	3,6	0	0	0	0	0	0	0	0
	20	0	2,3	3,6	2,6	1,5	0,3	0	0	0	0	0	0	0
Prirodzene infikované	21	0	3,0	5,0	3,5	3,6	0,1	0	0,6	0	0	0	0	0
	22	0	2,5	3,6	4,3	3,6	0,6	0	1,3	2,0	1,5	0	0	0
	23	0	3,0	4,0	4,5	3,6	0	0	0,6	0	0	0	0	0
	24	0	4,0	4,5	4,5	4,3	1,5	0	0,5	1,3	0	0	0	0

vyššie ako v teste bez komplementu. Infekcia vyvolala rýchly vzostup protilátok s ich pretrváváním vo vysokých titroch až do 56. dňa, s vyššími titrami za prítomnosti komplementu, aj keď rozdiely neboli tak preukazné ako pred infekciou. Reinfekcia viedla len k miernemu vzostupu titrov NP, pričom rozdiely v titroch protilátok závislých a od komplementu nezávislých sa stali bezvýznamnými. Analogické nálezy sme zistili aj v sérach prirodzene infikovaných zvierat (obr. 4).

4. Obsah neutralizačných protilátok nezávislých (—) a závislých (---) na komplemente v krvných sérach teliat po *i. nas.* očkovaní, resp. prirodzenej infekcii a dvojnásobnej experimentálnej infekcii virulentným vírusom IBR (súbežne je vyjadrený obsah sekretorických (---) protilátok) — The content of neutralizing antibodies independent of (—) and dependent on (---) the complement in the blood sera of calves after intranasal inoculation or natural infection and double experimental infection with the virulent strain of the IBR virus (the content of secretory antibodies (---) is expressed at the same time)



DISKUSIA

Všetky testované avirulentné kmene vykazovali dobré rastové vlastnosti na slizniciach respiratórneho traktu bez toho, že by vyvolali zjavné poruchy zdravotného stavu. Replikácia avirulentných vírusov navodila v infikovaných bunkách respiratórneho epitelu syntézu interferonu, zisťovaného v nosných sekrétoch. Prvý interferon sme dokázali za 48 hodín *p.i.*, t.j. v období intenzívneho množenia vírusu. V ďalšom priebehu množenia vírusu, ale aj pri nasledujúcej infekcii zvierat virulentným vírusom, bol priamy vzťah medzi titrami vírusu a obsahom interferonu v sekrétoch ciest dýchacích. Aj Straub a Ahl (1976) a Todd a i. (1972) zaznamenali prítomnosť interferonu až po intenzívnom množení vírusu, ako aj priamu závislosť medzi obsahom vírusu a obsahom interferonu. V konečnom štádiu infekcie, pri dôkaze stopových množstiev vírusu, sa už interferon v sekrétoch nezistoval. Zygraich a i. (1974) dokázali vírus v sekrétoch teliat očkovaných *i. nas.* avirulentným IBR-vírusom až do 13. dňa, ale interferon len do siedmeho dňa. Reinfekcia zvierat, ktorá nenavodila množenie vírusu na slizniciach ciest dýchacích, nestimulovala ani syntézu dokazateľného množstva interferonu.

Pri klasickom prevedení NT reagovali negatívne séra odobraté za sedem dní *p.v.*, ale za 14 dní sa vo všetkých dokázali nízke, ale preukazné hodnoty protilátok. Todd a i. (1972) dokázali NP u teliat očkovaných *i.nas.* avirulentným vírusom v ôsmom až desiatom dni, ale Frank a i. (1977) po inhalačnej aj *i.m.* aplikácii virulentného vírusu až v 21. dni. Pretrvávajúce NP v nízkych titroch aj v ďalšom období až do uskutočnenia infekcie v 56. dni je charakteristické pre protilátkovú odpoveď navodenú množením avirulentných kmeňov IBR (Kelling a i., 1972; Zygraich a i., 1974). Na infekciu reagovali všetky zvieratá rýchlym vzostupom protilátok do vysokých titrov, ale reinfekcia už aktuálne hodnoty protilátok preukazne neovplyvnila.

Pri víruse IBR môže dôjsť po kombinácii s protilátkou (rovnako ako pri iných živočíšnych vírusoch) k tvorbe infekčného komplexu antigén-protilátka, označovaného ako „senzibilizovaný“ vírus (Rossi a Kiesel, 1974), ktorého infekčnosť sa neutralizuje za prítomnosti antiglobulínového séra alebo komplementu. V našich pokusoch umožnilo pridanie komplementu do NT dokázať protilátky vo včasnom období po infekcii, resp. viedlo k štvor- až osemnásobnému zvýšeniu titrov NP v sérach, odobratých od 14. do 42. dňa od infekcie. Rovnaké výsledky zaznamenali aj House a Baker (1971), Rossi a Kiesel (1974) a Menšík a i. (1975). Po infekcii boli titry komplement-dependentných protilátok len o jedno až dve riedenia vyššie ako titry protilátok bez komplementu a po reinfekcii boli hodnoty protilátok, dokazované obidvoma spôsobmi, takmer rovnaké. Príčina rozdielov v titroch NP, dokazovaných za prítomnosti komplementu a bez komplementu vo včasnom a pozdnom období po infekcii, spočíva v tom, že komplement-dependentné protilátky sa viažu prevažne na rané imunoglobulíny triedy IgM a IgG (Rossi a Kiesel, 1976), resp. len na imunoglobulíny triedy IgM (Potgieter, 1974). Preto zisťovanie NP s pridaním komplementu je odôvodnené len pri diagnostike čerstvých primárnych infekcií (Menšík a i., 1975).

Údaje o tvorbe sekreторických protilátok po jednorázovom očkovaní dobytká vírusom IBR sú rozdielne. Mc Kercher a Crenshaw (1971) a Todd a i. (1972) zistili sekreторické protilátky v nízkych titroch po jednorázovej *i.nas.* a Mc Kercher a Crenshaw (1971) a Saunders a i. (1972) aj po *i.m.* aplikácii atenuovaného vírusu, ale Todd a i. (1972) prítomnosť NP v sekrétach zvierat očkovaných atenuovaným vírusom *i.m.* nedokázali. Naproti tomu Saunders a i. (1972) a Frank a i. (1977) nedokázali sekreторické protilátky ani po *i.m.* alebo *i.nas.* aplikácii virulentného vírusu. V našich pokusoch sme sekreторické protilátky zistili najskôr za 28 dní po *i.nas.* aplikácii avirulentných kmeňov, a to len u niektorých zvierat každej skupiny, pričom takmer polovica zvierat vykazovala negatívne hodnoty až do 56. dňa. Po infekcii sme v siedmom dni zistili u desiatich z dvanástich teliat nízke, ale preukazné hodnoty protilátok, s ďalším ich vzostupom v 14. dni. Reinfekcia však už titre sekreторických protilátok neovplyvnila.

Získané poznatky dovoľujú posudzovať úlohu interferonu, sérových a sekreторických protilátok, pri rezistencii slizníc respiratórneho traktu proti infekcii vírusom IBR. Syntéza interferonu za 48 hodín od *i.nas.* očkovania, ako aj závislosť jeho obsahu od titrov vírusu v nosných sekrétach dovoľujú predpokladať, že interferon sa pri inhibovaní množenia

vírusu IBR a pri limitovaní infekcie významnejšie neuplatňujú. V súlade s tým vyslovili Straub a Ahl [1976] na základe vlastných pokusov názor, že vírus IBR je na interferon rezistentný. Naproti tomu Todd a i. [1972] zaznamenali inhibíciu množenia virulentného vírusu IBR na slizniciach ciest dýchacích účinkom interferonu indukovaného predchádzajúcou *i.nas.* aplikáciou avirulentného vírusu a Theil a i. [1971] signifikantný stupeň ochrany proti infekcii vírusom IBR aplikáciou exogénneho induktora interferonu [POLY I:C]. Ak by však interferon indukovaný vírusom IBR mal efektívne inhibovať jeho ďalšie množenie, musel by pokles obsahu vírusu v nosných sekrétoch predchádzať poklesu interferonu a vymiznutie infekcie zastaveniu jeho produkcie. Schopnosť avirulentných kmeňov vírusu IBR indukovať intenzívnu lokálnu produkciu interferonu odporúčajú však Straub a Ahl [1976] využiť pre prevenciu, resp. terapiu respiračných ochorení vyvolaných vírusmi senzitívnymi na interferon.

Nízke titre, nepravidelný výskyt a neskorá tvorba sekretorických protilátok poukazujú na to, že ani tento imunitný mechanizmus neovplyvňuje významnejšie priebeh primárnej infekcie ciest dýchacích vírusom IBR. Rýchla produkcia dokazateľného množstva sekretorických protilátok po infekcii vakcinovaných zvierat poukazuje však na to, že tieto protilátky môžu zohrať dôležitú úlohu pri lokalizovaní infekcie po sekundárnom kontakte zvierat s vírusom.

Zdá sa, že z ukazovateľov nami sledovaných hrali sérové protilátky najvýznamnejšiu úlohu pri kontrole množenia vírusu a ukončenia infekcie. V súlade s údajmi Todd a [1974] a Strauba [1976] aj v našich pokusoch vymiznutie vírusu časove odpovedalo objaveniu sa cirkulujúcich protilátok. Časová závislosť medzi nástupom tvorby sérových protilátok a vymiznutím dokazateľného vírusu z organizmu sa v priebehu primárnej infekcie dokázala aj pri víruse Aujeszkeho choroby [McFerran a Dow, 1965; Sabó, 1969].

Proti infekcii boli refraktérne len zvieratá, ktoré opakovane replikovali vírus na slizniciach ciest dýchacích po jeho *i.nas.* aplikácii a disponovali vysokými titrami sérových protilátok a dokazateľnými hodnotami protilátok sekretorických. Straub a Wagner [1977] založili program obmedzenia, resp. vylúčenia rekurentných infekcií u prirodzene infikovaných zvierat na opakovanej aplikácii avirulentného vírusu na sliznice, pričom vysoký obsah sérových protilátok považujú za hlavný ukazovateľ imunitného stavu zvierat [Straub a Mäcke, 1971]. Aj keď je význam sérových a sekretorických protilátok pri limitovaní infekcie vírusom IBR evidentný, treba brať do úvahy úlohu lokálnej bunkovej imunity [Davies a Carmichael, 1973]. Bunkami sprostredkovaná imunita však nebola predmetom štúdia, preto sa o jej úlohu vo vzťahu k rezistencii nediskutuje.

Na rozdiel od rezistencie slizníc, zaznamenananej po *i.nas.* očkovaní a infekcii, sa dokázal vírus po čelení zvierat, ktoré prekonal prirodzenú a následne experimentálnu infekciu. Zdá sa preto, že dosiahnutie úplnej rezistencie slizníc nastupuje aspoň po dvojnásobnom intenzívnom množení vírusu, aké vyvolá aplikácia veľkého množstva vírusu na nosné sliznice, nie však prirodzená infekcia. V súlade s týmito virologickými nálezmi je aj pomerne slabá a nepravidelná protilátková odpoveď u prirodzene infikovaných zvierat [Bitsch, 1973; Hugger

a Steck, 1975) v porovnaní s takmer všeobecnou séropozitivitou zvierat očkovaných *i.nas.* živými vakcínami (Todd a i., 1972; Žuffa a i., 1977).

Pre poškodenie slizníc respiratórneho traktu, súvisiace s intenzívnym množením, a pre masívne vylučovanie vakcinovaného vírusu v nosných sekrétoch sa javí, aspoň v našich chovateľských podmienkach, parenterálna aplikácia živej IBR-vakcíny prijateľnejšou ako jej *i.nas.* podanie. Zatiaľ pomerne malá premorenosť našich chovov vírusom IBR si však v indikovaných prípadoch žiada použiť skôr inaktivovaných ako živú vakcínu.

Literatúra

- BITSCH, V.: The IBR-IPV virus-serum neutralization test. Sensitivity and significance of the tissue culture tube test. Acta vet. scand., 14, 1973, s. 683-690.
- CASSELBERY, N. H.: Present status of immunization procedures for infectious bovine rhinotracheitis. J. Am. vet. med. Ass., 152, 1968, s. 853-856.
- DAVIES, D. H. — CARMICHAEL, J. E.: Role of cell-mediated immunity in the recovery of cattle from primary and recurrent infection with infectious bovine rhinotracheitis virus. Infect. Immun., 8, 1973, s. 510-518.
- FRANK, G. H. — MARSHALL, R. G. — SMITH, P. C.: Clinical and immunological responses of cattle to infectious bovine rhinotracheitis virus after infection by viral aerosol or intramuscular inoculation. Am. J. vet. Res., 38, 1977, s. 1497-1502.
- HOUSE, J. A. — BAKER, J. A.: Bovine herpesvirus IBR-IPV. The antibody virus neutralization reaction. Cornell Vet., 61, 1971, s. 320-335.
- HUGGLER, CH. — STECK, F.: Antikörpermachweis bei IBR-IPV-Infektionen des Rindes. Pathologia Microbiol., 34, 1975, s. 210-211.
- KELLING, C. L. — SCHIPPER, I. A. — NAUGSE, C. N.: Antibody response in calves following administration of attenuated infectious bovine rhinotracheitis (IBR) vaccines. Can. J. comp. Med., 37, 1972, s. 309-312.
- MC FERRAN, J. B. — DOW, C.: The distribution of the virus of Aujeszky's disease (*Pseudorabies virus*) in experimentally infected swine. Am. J. vet. Res., 26, 1975, s. 631-635.
- MC KERCHER, D. G. — CRENSHAW, G. L.: Comparative efficacy of intranasally and parenterally administered infectious bovine rhinotracheitis vaccines. J. Am. vet. med. Ass., 159, 1971, s. 1362-1396.
- MENŠÍK, J. — ČEPICA, A. — HÁJKOVÁ, M. — ŠTĚPÁNEK, J. — ROZKOŠNÝ, V.: Průkaz protilátek proti viru infekční bovinní rhinotracheitidy (IBR) v raném a pozdním postinfekčním období. Vet. Med., Praha, 20, 1975, s. 595-608.
- POTGIETER, L. N.: The influence of complement on the neutralization of infectious bovine rhinotracheitis virus by globulins derived from early and late bovine antisera. Can. J. comp. Med., 39, 1974, s. 427-433.
- ROSSI, C. R. — KIESEL, G. K.: Complement-requiring neutralizing antibodies in cattle to infectious bovine rhinotracheitis virus vaccine. Archs Virol., 51, 1976, s. 328-334.
- ROSSI, C. R. — KIESEL, G. K.: Antibody class and complement requirement of neutralizing antibodies in the primary and secondary antibody response of cattle to infectious bovine rhinotracheitis virus vaccine. Archs Virol., 51, 1976, s. 191-198.
- SABO, A.: Persistence of perorally administered virulent pseudorabies virus in the organism of non-immune and immunized pigs. Acta virol., Praha, 13, 1969, s. 269-277.
- SAUNDERS, J. R. — OLSON, S. M. — RADOSTIS, O. M.: Efficacy of an intramuscular infectious bovine rhinotracheitis vaccine against abortion due to the virus. Can. vet. J., 13, 1972, s. 273-278.
- SHIPPER, I. A. — KELLING, C. L.: Evaluation of inactivated infectious bovine rhinotracheitis vaccines. Can. J. comp. Med., 39, 1974, s. 402-405.
- STRAUB, O. C.: Möglichkeiten zur Bekämpfung der infektiösen bovinen Rhinotracheitis (IBR). Dtsch. tierärztl. Wschr., 83, 1976, s. 270-273.
- STRAUB, O. C. — MÄCKLE, N.: Versuche mit einem Lebendimpfstoff gegen Blähschenausschlag in einer Basamungsstation. Berl. Münch. tierärztl. Wschr., 84 1971, s. 481-484.

STRAUB, O. C. — FRERKING, H. — KRAMER, R.: Impfung eines großen Rinderbestandes gegen Bläschenausschlag und Rhinotracheitis. Dte tierärztl. Wschr., 80, 1973, s. 73-77.

STRAUB, O. C. — AHL, R.: Lokale Interferonbildung beim Rind nach intranasaler Infektion mit avirulentem IBR-IPV-Virus und deren Wirkung auf eine anschließende Infektion mit Maul- und Klauenseuche-Virus. Zentbl. VetMed., B, 23, 1976, s. 470-482.

STRAUB, O. C. — WAGNER, K.: Die Sanierung einer Besamungsstation von IBR-IPV Virusausscheidern durch den Einsatz von IBR-IPV-Lebendimpfstoff. Dte tierärztl. Wschr., 84, 1977, s. 259-261.

THEIL, K. W. — MOHANTY, S. B. — HETRICK, F. M.: Effect of POLY I:C on infectious bovine rhinotracheitis virus infection in calves. Proc. Soc. exp. Bio. Med., 137, 1971, s. 1176-1179.

TODD, J. D.: Development of intranasal vaccination for the immunization of cattle against infectious bovine rhinotracheitis. Can. vet. J., 15, 1974, s. 257-259.

TODD, J. D. — VOLENC, F. J. — PATON, I. M.: Intranasal vaccination against infectious bovine rhinotracheitis: Studies on early onset of protection and use of the vaccine in pregnant cows. J. Am. vet. med. Ass., 159, 1971, s. 1370-1374.

TODD, J. D. — VOLENC, F. J. — PATON, I. M.: Interferon in nasal secretions and sera of calves after intranasal administration of avirulent infectious bovine rhinotracheitis virus: Association of interferon in nasal secretions with early resistance of challenge with virulent virus. Infect. Immun., 5, 1972, s. 699-706.

ZYGRAICH, N. — LOBMANN, M. — VOSCOBOINIC, E. — HUYGELEN, C.: *In vivo* and *in vitro* properties of temperature sensitive mutant of infectious bovine rhinotracheitis virus. Res. vet. Sci., 16, 1974, s. 328-335.

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

ZUFFA, A. — CHUMCHAL, R.: Štúdium infekcie primárnych teľacích obličkových buniek vírusom infekčnej bovínnej rhinotracheitídy (IBR) pomocou imunofluorescencie. Vet. Med., Praha, 17, 1972, s. 725-736.

ZUFFA, A. — SALAJ, J. — DUŠEK, I.: Vnímavosť nosnej a poševnej sliznice u jaľovic na reinfekciu vírusom infekčnej bovínnej rhinotracheitídy a pustulárnej vulvovaginitídy. Vet. Cas., 16, 1974, s. 161-168.

ZUFFA, A. — SALAJ, J. — ČERNÍK, K. — DUŠEK, I.: IBR-vakcína, PI-3-vakcína a VDV-vakcína, živé lyofilizované vakcíny proti infekčnej bovínnej rhinotracheitíde, parainfluenze-3 a slizničnej chorobe hovädzieho dobyťka. [Záverčná správa.] Bioveta 1977. Nitra.

Došlo dňa 15. 9. 1978

ЖУФФА, А. — БРАНИК, А., — САЛАЙ, Ю. (Научно-исследовательский и экспериментальный рабочий пункт, Биовета, Нитра): Устойчивость слизистых оболочек верхних дыхательных путей крупного рогатого скота против инфекции вирусом IBR в зависимости от содержания гуморальных и секреторных антител и локальной продукции интерферона. Vet. Med., Praha, 24, 1979 (4) : 193-207.

Внутриносовая аппликация трех неvirulentных штаммов вируса IBR восприимчивым телатам в дозах $10^{6.3}$ — $10^{6.6}$ TKID₅₀ не вызвала расстройства состояния их здоровья, хотя до 9—11 дня в выделениях носа и содержался вирус в большом количестве. Реакция вируса вызвала синтез интерферона, содержание которого непосредственно зависело от титров вируса. Секреторные антитела появлялись с запозданием (через 28 дней), нерегулярно и в низких титрах, тогда как сывороточные антитела были у всех животных обнаружены спустя 14 дней. Нейтрализующие антитела в сыворотке крови мы устанавливали в присутствии комплемента уже через семь дней, причем в ранней стадии первичной иммунной реакции их титры были в четыре—восемь раз выше, чем без комплемента. Привитые телата после заражения virulentным вирусом остались здоровыми и выделяли меньшее количество вируса и на протяжении более короткого времени, чем восприимчивые контрольные животные. Меньшей реакции вируса отвечала и более слабая продукция интерферона; секреторные антитела были установлены у всех животных через две недели, причем у сывороточных антител отметили резкий подъем до высоких титров. После новой инфекции в выделениях носа не было установлено ни вируса, ни интерферона.

Секреторные антитела сохранялись в низких титрах, а у сывороточных антител наблюдали некоторое повышение титров. Полную устойчивость слизистых оболочек верхних дыхательных путей против инфекции отметили у животных, которым через нос ввели около 10^7 TKID₅₀ вируса, но никак не у животных, преодолевших естественную, а затем и экспериментальную инфекцию. Обсуждается роль отдельных механизмов иммунитета при вызове устойчивости слизистых оболочек против заражения вирусом IBR.

вирус IBR; внутринозовая прививка; интерферон; секреторные антитела; сывороточные антитела; устойчивость

ŽUFFA, A. — BRÁNYIK, A. — SALAJ, J. (Research and Development Centre, Bioveta, Nitra): *The Resistance of the Mucous Membranes of the Upper Respiratory Organs of Cattle to Infection with the IBR Virus, as Related with the Content of Humoral and Secretory Antibodies and Local Production of Interferon*. Vet. Med., Praha, 24, 1979 (4) : 193-207.

Intranasal administration of three avirulent strains of the IBR virus in doses of $10^{6.3}$ to $10^{6.6}$ TKID₅₀ to susceptible calves did not impair their health state, although the virus was present in large amounts in the nasal secretions until the 9th to 11th day. Virus replication induced interferon synthesis, and the content of this substance was directly dependent on the titres of the virus. The secretory antibodies were demonstrated with a delay (after 28 days), irregularly, and in low titres, but serum antibodies were found in all animals after 14 days. Neutralization antibodies were demonstrated in the blood serum with the presence of complement as soon as after seven days, and at the early stage of the primary immunity response their titres were four to eight times higher than without complement. Inoculated calves remained healthy after infection with the virulent virus and secreted lesser amounts of the virus for a shorter time than the susceptible controls. Reduced replication of the virus corresponded with a lower production of interferon; secretory antibodies were demonstrated in all animals after two weeks, and a rapid rise to high titres was ascertained in serum antibodies. After another infection, neither the virus nor interferon was found in the nasal secretions; secretory antibodies persisted in low titres, but a slight rise of titres was observed in serum antibodies. A full resistance of the mucous membranes of the upper respiratory organs to infection was ascertained in animals which had been given about 10^7 TKID₅₀ of the virus via the nose — not in animals which had overcome natural and, consequently, experimental infection. The role of different immunity mechanisms in inducing the resistance of mucous membranes to IBR virus infection is discussed.

IBR virus; intranasal inoculation; interferon; secretory antibodies; serum antibodies; resistance

ŽUFFA, A. — BRÁNYIK, A. — SALAJ, J. (Forschungs- und Entwicklungszentrum, Bioveta, Nitra): *Resistenz der Schleimhäute der oberen Atmungsorgane von Kälbern gegen Infektion mit IBR-Virus in bezug auf den Gehalt an humoralen und sekretorischen Antikörpern sowie auf die lokale Interferonproduktion*. Vet. Med., Praha, 24, 1979 (4) : 193-207.

Die intranasale Applikation von drei avirulenten IBR-Virusstämmen bei sensiblen Kälbern in Dosen von $10^{6.3}$ bis $10^{6.6}$ TKID₅₀ verursachte keine Störungen des Gesundheitszustandes, obzwar des Virus in hohen Mengen in den Nasensekreten bis zum 9. bis 11. Tag nachgewiesen wurde. Die Replikation des Virus löste eine Interferonsynthese aus, dessen Gehalt direkt abhängig von den Virustitern war. Die sekretorischen Antikörper wurden verspätet (in 28 Tagen), unregelmäßig und in niedrigen Titern nachgewiesen, aber Serumantikörper stellen wir bei allen Tieren in 14 Tagen fest. Neutralisationsantikörper wurden im Blutserum in Anwesenheit des Komplements bereits in sieben Tagen nachgewiesen, wobei in der frühen Periode der primären Immunitätsreaktion die Titer derselben vier- bis achtmal höher waren als ohne Komplement. Die geimpften Kälber blieben nach der Infektion mit virulentem Virus gesund und schieden eine kleinere Virusmenge und dies eine kürzere Zeit hindurch aus im Vergleich zu den sensiblen Kontrollkälbern. Der verringerten Replikation des Virus entsprach auch eine schwächere Interferonproduktion. Sekretorische Antikörper wurden bei allen Tieren in zwei Wochen nachgewiesen und bei Serumantikörpern verzeichneten wir eine schnelle Erhöhung auf hohe Titer.

Nach weiterer Infektion konnte in den Nasensekreten kein Virus und kein Interferon nachgewiesen werden. Die sekretorischen Antikörper hielten sich in niedrigen Titern aufrecht, aber bei den Serumantikörpern wurde eine mäßige Erhöhung verzeichnet. Eine volle Resistenz der Schleimhäute der oberen Atmungsorgane gegen Infektion stellten wir bei Kälbern fest, denen zirka 10^7 TKID₅₀ des Virus intranasal verabreicht wurde, nicht aber bei Kälbern, die eine natürliche und eine nachfolgende experimentelle Infektion überstanden. Es wird über die Aufgabe der einzelnen Immunitätsmechanismen bei der Auslösung der Schleimhautresistenz gegen die IBR-Virusinfektion diskutiert.

Virus IBR; i. nas. Impfung; Interferon; sekretorische Antikörper; Serumantikörper; Resistenz

Adresa autorov:

Doc. MVDr. Alojz Žuffa, CSc., ing. Alexander Brányik, CSc., MVDr. Juraj Salaj, Výskumné a vývojové pracovisko, Bioveta, 949 91 Nitra

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

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

FISCHER, B. E 37.898/102

Klinisch-chemische Untersuchungen im Blut weiblicher Kaninchen: Bestimmung von Referenzbereichen, Korrelationen, Einflussfaktoren und Beziehungen zu Produktionsleistungen. Diss. d. Rheinischen Friedrich-Wilhelms-Universität Bonn.

Bonn, n. vl. 1977. 142 s., obr., 65 tab. (Králik — krevní parametry — stanovení — užitkové vlastnosti — vztahy — výzkum — NSR — disertační práce)

WENTINK, G. H.

C 19.552/11

Biomechanics of the hind limb of the horse and dog.

Leiden, Rijksuniversiteit 1978. 102 s., obr., mp. příl. (Končetiny zadní — kůň a pes — biomechanický výzkum — Holandsko)

CASTERET, J. M. J. L. V.

D 38.168/77/94

Quelques aspects des échanges hydro-électrolytiques au niveau du colon terminal chez le porc. Thèse.

Toulouse, École nationale vétérinaire 1977. 80 s., obr., tab. École nationale vétérinaire 77/94. (Střevo tlusté — konečná část — hydroelektrolytická hladina — prase — výzkum — Francie — disertační práce)

KHALIL, RAGAB AHMED

E 38.066/215

Der Einfluss eines kombinierten Na- und Mg-Mangels auf das klinische Verhalten sowie den Natrium-, Kalium- und Magnesium-Haushalt beim Schaf. Diss. d. Tierärztl. Hochschule Hannover.

Hannover, n. vl. 1977. 104 s., 32 tab., příl. (Hořčík — látková přeměna — ovce — hořčík + sodík — nedostatek — vliv — výzkum / Draslík — látková přeměna — ovce — hořčík + sodík — nedostatek — vliv — výzkum / Sodík — látková přeměna — ovce — hořčík + sodík — nedostatek — vliv — výzkum — NSR — disertační práce)

BERSCHAUER, F.

D 59.888/91

Blutharnstoffkonzentration und Proteinverwertung beim Schwein. Ein Beitrag zur Bewertung von Futterrationen.

Stuttgart, Verlag Eugen Ulmer 1977. 109 s., 20 obr., 51 tab.; res. něm., angl. (Prase — krev — močovina — koncentrace — bílkoviny — využití — vztahy — výzkum — NSR)

PREVENTIVNÍ A LÉČEBNÁ ÚČINNOST VAKCÍNY PROTI TRICHOPHYTÓZE U SKOTU

M. Pavlas, J. Willomitzer, V. Mrva, V. Patloková, F. Procházka

PAVLAS, M. — WILLOMITZER, J. — MRVA, V. — PATLOKOVÁ, V. — PROCHÁZKA, F. (Výzkumný ústav veterinárního lékařství, Brno; Okresní veterinární zařízení, Třebíč): *Preventivní a léčebná účinnost vakcíny proti trichofytóze u skotu*. Vet. Med., Praha, 24, 1979 (4) : 209-216.

Účinnost vakcíny proti dermatomykóze druhu *Trichophyton verrucosum* jsme studovali u mladého skotu ve třech chovech. Vakcína československé a sovětské výroby měla téměř stejnou preventivní účinnost. U zdravých telat bez klinických příznaků trichofytózy, vakcinovaných ve věku jeden až tři měsíce dávkou 2,5 až 5,0 ml aplikovanou intramuskulárně a revakcinovaných (při zachování základních pravidel hygieny stájového prostředí), byla zjištěna za sledované období tři až pět měsíců incidence 0–13 %. U kontrolních nevakinovaných skupin byla zjištěna incidence v týchž nákazových podmínkách a za stejné období 36,3 až 100,0 %. V počáteční fázi vakcinace — při očkování zvířat podezřelých z nákazy — byla zjištěna incidence u vakcinovaných zvířat 50,0 až 68,8 % a většinou se nelišila od incidence zjištěné u kontrolního nevakinovaného skotu. Léčebný účinek vakcíny a Mykolastanoxu F byl takový, že nulové prevalence bylo u zvířat dosaženo za deset týdnů po vakcinaci. U zvířat ošetřených lokálně Mykolastanoxem F byla nulová prevalence zjištěna za 12 týdnů po zahájení léčby.

Trichophyton verrucosum; imunoprofylaxe; imunoterapie; vakcína sovětské a čs. výroby; Mykolastanox F; dezinfekce

Po likvidaci brucelózy a tuberkulózy se stala důležitými a nebezpečnými antropozoonózami plísňová onemocnění, z nichž je nejdůležitější trichofytóza skotu. V uplynulém období byla pozornost při tlumení tohoto onemocnění zaměřena na terapii, při které bylo dosaženo — při důsledném dodržování určitých zásad léčby — pozoruhodných výsledků, a to zejména s Mykolastanoxem F (Pyskatý, 1973; Tkáčík, Letko, 1973; Kováč aj., 1974) a Mykoceton sprayem (Krajc, Vyhnanálek, 1973; Ševčík, 1976).

I když jsou v současné době k dispozici vysoce účinná léčiva na lokální léčbu trichofytózy, je výskyt tohoto onemocnění stále značný, a to nejen co do počtu ohnisek, ale rovněž v počtu nemocných zvířat. Hlavní příčinou tohoto stavu je skutečnost, že zejména ve velkovýrobních podmínkách chovu skotu se obtížně diagnostikují málo výrazné formy onemocnění a nákaza se zpravidla objeví až při svém rozšíření. Perorální způsob léčby Gricinem nebo Fulcinem je spojen s obtížemi ekonomickými a s nedostatkem griseofulvinu pro použití v širším měřítku. Navíc není perorální aplikace griseofulvinu vhodná pro velká zvířata, a to s ohledem na speciální fyziologické pochody v zažívacím traktu přežvýkavců (Kraft, 1963, cit. Ševčík, 1976).

Zkušenosti získané při léčbě a prevenci trichofytózy skotu svědčí rovněž o tom, že nedílnou součástí pro omezení výskytu tohoto onemocnění je zajišťování hygienických podmínek v zemědělských objektech. Důležitým preventivním opatřením je i časná izolace nakažených zvířat a asanace prostředí (Vavrečka, 1970), která je však spojena v praxi se značnými obtížemi, především pro velkou odolnost hlavního původce onemocnění – spór *Trichophyton verrucosum*. Na dobrý účinek některých dezinfekčních prostředků proti trichofytóze upozornili Krupička a Švec (1965), kterým se osvědčila 0,3 až 1,0 % kyselina peroctová. V poslední době doporučují Kováč aj. (1974) k dezinfekci 0,5% roztok Lastanoxu F.

V současné době se kromě léčebných preparátů prověřuje při tlumení trichofytózy skotu imunoprofylaxe (Šišák, 1976), která se značně uplatnila zejména v SSSR.

Ve třech chovech, v nichž se vyskytovaly kožní změny u většího počtu zvířat, jsme ověřovali účinnost vakcíny sovětského a čs. původu proti trichofytóze mladého skotu.

MATERIÁL A METODA

Před vlastními zákroky v provozu jednotlivých chovů jsme se zaměřili na některé důležité epizootologické okolnosti. Zajímali jsme se především o typ stáje a kategorii ustájeného skotu, o celkovou hygienu pracovního prostředí, způsoby eventuelní léčby, dezinfekce, dezinsekce a deratizace a konečně o vybavení sociálních zařízení a dodržování všech veterinárně hygienických opatření. Když jsme objasnili tyto nejdůležitější faktory, přikročili jsme k vakcinaci.

Při imunoprofylaxi jsme v intervalu 10 až 14 dní vakcinovali zvířata (primo-vakcinace) dávkou 2,5 až 5,0 ml vakcíny čs. výroby, nebo 5 ml vakcíny sovětské výroby intramuskulárně do hýžděového svalu telatům jeden až tři měsíce starým. V některých případech jsme ověřovali pouze jednorázovou vakcinaci, zvláště při nižší prevalenci. Aplikací dávky jsme podali nejprve na levou, při revakcinaci na pravou stranu krajiny bederní. Před aplikací očkovací látky jsme místo vpichu ostříhali a po aplikaci jsme je dezinfikovali alkoholem.

Vakcínu k pokusům jsme získávali z Biovety, n. p., Ivanovice na Hané. Srovnávali jsme také účinnost vakcinace s nejnověji dostupným preparátem Mykolastanox F, který jsme rovněž získali z n. p. Bioveta. Preparát jsme použili buď koncentrovaný k natírání jednotlivých trichofytózních ložisek a okolí kůže štětcem v intervalech jeden až dva týdny, nebo k postříkům celého těla v 5% vodném roztoku v odstupu 12 až 17 dní. Aplikaci Mykolastanoxu F jsme u zvířat, která se nevyléčila, opakovali podle potřeby až pětkrát. Ve všech chovech byla kultivací prokázána dermatofytóza druhu *Trichophyton verrucosum*. Po ošetření jsme zvířata vyšetřili a hodnotili jsme klinické změny celkem šestkrát v týdenních až třítýdenních intervalech. Účinnost vakcíny jsme hodnotili k počáteční prevalenci nákazy v době zahájení vakcinace a incidence v průběhu pozorovacího období.

VÝSLEDKY

Na školním statku Ža., kde odchovávali telata v boxech po deseti kusech a kde se nedělala terapie, vakcinace ani účinná dezinfekce stájového prostředí proti trichofytóze, byly v době před pokusnou vakcinací zjištěny z celkového počtu 194 telat klinické příznaky trichofytózy u 44 zvířat (tab. 1). Uvedený počet telat jsme rozdělili do pěti skupin. V prvních dvou skupinách (skup. 1 a 2), ve kterých byla 44 telata s klinickými příznaky trichofytózy, jsme sledovali léčebný účinek čs. vakcíny a Mykolastanoxu F.

Preventivní účinek revakcinace jsme ověřili v uvedeném chovu v první fázi pokusů u 58 telat, která v době očkování byla bez klinických příznaků trichofytózy (skup. 3). V době vakcinace byla telata ustájena společně se zvířaty nemocnými trichofytózou. V kontrolní nevakcinova-

Skupina č.	Způsob ošetření	Počet zvířat	Počáteční prevalence v %	Počet zvířat při vyšetření							Incidence trichofytózy za sledované období	
				zjištěná	1.	2.	3.	4.	5.	6.	počet	%
1	vakcinace 2 × čs.	29	100	P	14	11	5	1	0	0	0	0
2	Mykolastanox F	15	100	P	15	11	10	4	2	0	0	0
3	vakcinace 2 × čs.	58	0	P	11	17	14	1	2	0	29	50,0
				I	11	9	6	3	0	0		
4	kontrolní	21	0	P	14	13	7	10	7	6	21	100,0
				I	14	3	3	1	0	0		
5	vakcinace 2 × čs.	71	0	P	6	9	7	1	2	0	11	15,5
				I	6	3	2	0	0	0		

P = prevalence

I = incidence

né a neléčené skupině 21 telat, (skup. 4) byla zvířata, která v období zahájení vakcinace byla bez klinických příznaků onemocnění.

Ve druhé fázi pokusů jsme očkovali všechna narozená telata ve věku od čtyř do šesti týdnů, která byla bez klinických příznaků trichofytózy, a to po převedení z profylaktoria do odchovny. V uvedené skupině bylo celkem očkováno 71 tele (skup. 5).

Zvířata skupiny 1 byla vyléčena již za deset týdnů a prevalence klesla na nulovou hodnotu. Srovnáme-li skupinu ošetřenou Mykolastanoxem F a vakcinovanou (skup. 1 a 2) při počáteční 100% prevalenci, zjišťujeme, že vakcína měla větší efekt, který se projevil vyléčením telat o dva týdny dříve ve srovnání se zvířaty léčenými Mykolastanoxem F.

U zvířat ze skupiny 3, která byla při vakcinaci negativní, se u některých telat vyskytly trichofytózní změny, které dosáhly maxima při druhém vyšetření; v té době byly zjištěny u 17 telat. Teprve při pátém vyšetření klesla u této skupiny zvířat incidence trichofytózy na nulovou hodnotu, na které se již udržovala i při dalších vyšetřeních.

Naproti tomu u kontrolní skupiny (skup. 4) byla zjištěna v průběhu pokusu incidence trichofytózy, která dosáhla maxima při prvním vyšetření 66,6 %, kdy byly zjištěny u 14 telat klinické příznaky trichofytózy. Na konci pozorovacího období bylo zjištěno onemocnění ještě u šesti kontrolních nevakinovaných a neléčených zvířat. Za celé sledované období onemocnělo všech 21 zvířat zařazených v kontrolní skupině, zatímco ve skupině vakcinované onemocnělo 50 % zvířat.

V konečné fázi pokusů, kdy bylo vakcinováno 71 tele (skup. 5) bez příznaků onemocnění, byla zjištěna v pozorovacím období incidence trichofytózy při prvních třech vyšetřeních (15,5 %). V dalším období nebyl u očkovaných telat zjištěn ani jeden výskyt trichofytózy. Tento dobrý vakcinační efekt v konečné fázi pokusů je možné si vysvětlit skutečností, že telata v této skupině byla očkována v jednom až ve dvou

měsících po narození, tj. v období, kdy ještě nebyla nakažena trichofytózou, k čemuž přispěly i zlepšené zoohygienické podmínky v chovu a turnusový způsob zastavování telat do odchovny.

V průběhu pokusů jsme přikročili k celkové dezinfekci stáje 5% Mykolastanoxem F v pravidelných 14denních intervalech. Do konce roku 1976 se v uvedeném chovu trichofytóza nevyskytla. Pozitivní kontrolní zvířata byla dodatečně vakcinována a po vyléčení přerazena do dalšího chovu.

V J Z D Ž e. byla odchováána telata v adaptovaných stájích s tradičním odchovem v počtu 371 kus. Od května 1977 onemocnělo 109 zvířat, tj. 29,4 %.

Před imunoprofylaxí se v chovu dezinfikovaly stáje a postříkovala zvířata 5% roztokem Mykolastanoxu F. I přes tuto pravidelnou dezinfekci nedošlo k výraznému útlumu trichofytózy, zřejmě kvůli vysoké relativní vlhkosti ve stájích a špatným hygienickým podmínkám v chovu.

II. Výsledky pokusné vakcinace u telat ustájených v adaptovaných stájích s tradičním odchovem — Results of experimental vaccination in calves kept in adapted stables with the traditional rearing technology

Skupina č.	Způsob ošetření	Počet zvířat	Počáteční prevalence v %	Počet zvířat při vyšetření							Incidence trichofytózy za sledované období	
				zjištěná	1.	2.	3.	4.	5.	6.	počet	%
1.	kontrolní	51	100	P	51	26	1	0	0	0	0	0
		31	0	P	0	8	0	0	0	0		
				I	0	8	0	0	0	0	8	25,8
2.	vakcinace 2 × sovět.	12	100	P	7	2	0	0	0	0	0	0
		54	0	P	42	7	1	0	0	0		
				I	42	0	0	0	0	0	42	77,7
3.	vakcinace 1 × sovět.	8	100	P	8	1	0	0	0	0	0	0
		96	0	P	0	1	0	0	0	0		
				I	0	1	0	0	0	0	1	1,0
4.	vakcinace 2 × čs.	110	0	P	0	0	0	0	0	0	0	0
5.	kontrolní	9	0	P	0	1	8		0	0		
				I	0	1	7	dále vacc. 1 × čs.	0	0	8	88,8

P = prevalence

I = incidence

Jak znázorňuje tab. II, udělali jsme dva základní pokusy. Ověřovali jsme sovětskou vakcínu při dvojí a jednorázové aplikaci (skup. 2 a 3). Uvedenou vakcínu jsme očkovali všechna telata bez klinických příznaků onemocnění, která byla ustájena se zvířaty nemocnými. Kromě toho bylo ve skupině 2 očkováno léčebně sovětskou vakcínou 12 telat. Zjistili jsme, že při nízké prevalenci nákazy již jednorázová aplikace vakcíny postačí k útlumu trichofytózy (skup. 3). Vymizení trichofytózních změn

u kontrolní skupiny zvířat během krátké doby po zahájení pokusu souviselo i s průběžnou asanací stájí 5% roztokem Mykolastanoxu F za přítomnosti zvířat v dezinfikovaných objektech a zlepšením zoohygienických podmínek v chovu.

Vysoká incidence trichofytózy u vakcinované skupiny, která dosáhla maxima již za 14 dní po očkování, byla zaviněna vakcinací zvířat podezřelých z nakažení v první fázi vakcinace skotu proti trichofytóze. V dalším období, kdy byla očkovaná telata v prvních dvou měsících po narození, byla v odchovně, ve které nebyly zjištěny klinické příznaky trichofytózy, účinnost jednoduché vakcinace (bez revakcinace) velmi dobrá, o čemž svědčí 1% incidence za celé sledované období (skup. 3).

V dalším období jsme si doplnili poznatky získané z minulého chovu o účinnosti čs. vakcíny při dvojí aplikaci. Zde je nutno zdůraznit, že po dobu pokusu s vakcínou čs. výroby neonemocnělo ani jedno zvíře v chovu (skup. 4). Tento poznatek nás podnítil k tomu, abychom nechali některá zvířata bez ošetření (skup. 5). U této kontrolní skupiny se však v šestém týdnu projevila zřetelně nedostatečná ochrana zvířat (88,8% incidence), která následnou i jednoduchou vakcinací byla teprve snížena na nulovou hodnotu.

Při dalším sledování od února 1978 se v chovu nevyskytl případ trichofytózy, nicméně s vakcinací se pokračuje.

III. Výsledky pokusné vakcinace u telat ustájených ve velkokapacitní odchovně — Results of experimental vaccination in calves kept in a large-capacity calf-house

Skupina č.	Způsob ošetření	Počet zvířat	Počáteční prevalence v %	Počet zvířat při vyšetření							Incidence trichofytózy za sledované období	
				zjištěná	1.	2.	3.	4.	5.	6.	počet	%
1.	kontrolní	62	100	P	62	13	6	1	2	0	0	0
		82	0	P	0	55	21	9	3	0	57	69,5
				I	0	55	2	0	0	0		
2.	vakcinace 2 × čs.	154	0	P	3	12	16	68	45	18	106	68,8
				I	3	11	9	62	19	2		
				Z	0	4	1	0	0	0		
3.	vakcinace 2 × sovět.	100	0	P	0	2	1	3	2	0	6	6,0
				I	0	2	1	2	1	0		
4.	vakcinace 2 × čs.	470	0	P	1	4	3	4	2	1	13	2,8
				I	1	4	3	3	1	1		
				Z	19	12	0	0	0	0		
5.	vakcinace 1 × čs.	380	0	P	0	0	1	3	8	1	11	2,9
				I	0	0	1	3	7	0		
6.	kontrolní	394	0	P	0	5	38	60	55	48	143	36,3
				I	0	5	35	41	21	41		

P = prevalence

I = incidence

Z = změny v místě vakcinace

Na státním statku Ža. byla ve velkokapacitní odchovně zařazena do pokusů od června 1976 celkem 1642 telata (tab. III). Na počátku výzkumu jsme sledovali 298 zvířat (skup. 1 a 2), a to 144 kontrolní, z nichž 62 zvířata mělo klinické příznaky trichofytózy, a 82 telata byla klinicky zdravá. Čs. vakcínou ve dvojí aplikaci byla očkovaná 154 zvířata nejvíce příznaky onemocnění. Ve sledované době byla celková incidence u kontrolní a vakcinované skupiny shodná. V průběhu těchto pokusů začala pravidelná dezinfekce stájí Mykolastanoxem F.

V dalších pokusech (skup. 3—5) jsme srovnávali účinnost vakcín sovětské a čs. výroby. Zjistili jsme, že účinnost obou zmíněných vakcín byla shodná, o čemž svědčí incidence, která dosáhla za celé sledované období 2,8 a 6,0 %. Dostatečnou ochranu poskytla rovněž vakcína čs. výroby při jednorázové aplikaci (incidence 2,9 %) ve srovnání s kontrolní skupinou, u které byla zjištěna incidence 36,3 % (skup. 6).

Během dalšího sledování do dubna 1978 se v chovu nevyskytl nový případ trichofytózy. Zvířata v kontrolní skupině byla lokálně ošetřována Mykolastanoxem F a po vyléčení přerazena do dalších chovů.

DISKUSE

Použitím vakcíny sovětské a čs. výroby se nám podařilo u 1393 telat utlumit zcela infekci dermatomykózy, způsobenou druhem *Trichophyton verrucosum* ve třech chovech. V jednom z těchto chovů s tradičním ustájením zvířat se před vakcinací pravidelně v týdenních intervalech dezinfikovalo prostředí i zvířata Mykolastanoxem F v 5 % koncentraci, aniž by se snížila incidence onemocnění u zvířat. U ostatních dvou chovů jsme začali dezinfikovat až v průběhu vakcinací.

Zkušenosti, které jsme při ověřování vakcíny získali, jsou shodné s poznatky především některých autorů u nás (Š i š á k, 1976), že vakcinace zvířat je nejefektivnější způsob tlumení trichofytózy v zamořených chovech. Je nutné zdůraznit, že v některých případech byla incidence onemocnění téměř shodná s kontrolní skupinou. Bylo to zejména v první fázi vakcinace, kdy zvířata byla očkovaná v zamořeném prostředí a kdy většina z nich již byla nakažena trichofytózou. Domníváme se, že u telat vakcinovaných, která onemocněla po očkování, se ani v jednom případě nejednalo o generalizaci inokulovaného živého vakcinačního kmene *Trichophyton verrucosum*.

Dobré výsledky s vakcinací jsme měli možnost ověřit také v pastevních podmínkách velkokombinátu JZD F. L. V tomto chovu sledujeme ve spolupráci s OVZ Vsetín již po dobu dvou pastevních sezón incidence vakcinovaného mladého skotu. Doposud jsme nezachytili klinické změny u zvířat v pastevních podmínkách, i když před vakcinací se vyskytly hromadné případy onemocnění na pastvě.

Za technickou pomoc při pokusech a zpracování výsledků autorský kolektiv děkuje asistence s. V. J u ř í č k o v é.

Literatura

KOVÁČ, L. — ŠAFÁŘ, J. — DOFEK, R.: Možnosti komplexního tlumení trichofycií u skotu. Veterinářství, 24, 1974, č. 4, s. 153-156.

KRAJC, J. — VYHNÁLEK, J.: Účinnost některých preparátů proti trichofycii skotu. Veterinářství, 23, 1973, č. 6, s. 272-274.
 KRUPICKÁ, V. — ŠVEC, J.: Naše zkušenosti s použitím kyseliny peroctové v ohnisku trichofycie. Veterinářství, 15, 1965, č. 10, s. 456-458.
 PYSKATÝ, M.: Klinické vyhodnocení Mykolastanoxu F. Veterinářství, 23, 1973, č. 10, s. 470.
 SEVČÍK, B.: K problematice léčby trichofytózy. In: Mykózy hospodářských zvířat. Pardubice 1976, s. 24.
 ŠÍŠÁK, M.: Vakcinace proti trichofytóze skotu — zkušenosti se specifickou imunoprofylaxi a imunoterapií trichofytózy skotu. In: Mykózy hospodářských zvířat. Pardubice 1976, s. 29.
 TKÁČIK, Š. — LETKO, I.: Použití Mykolastanoxu F při terapii trichofytózy u hovädzieho dobytku. Veterinářství, 23, 1973, č. 1, s. 17-18.
 VAVREČKA, J.: Souvislost výskytu trichofycií s chovatelskou úrovní. Veterinářství, 20, 1970, 7, 293-294.

Došlo dne 5. 10. 1978

ПАВЛАС, М. — ВИЛЛОМИЦЕР, Й. — МРВА, В. — ПАТЛОКОВА, В. — ПРОХАЗКА, Ф. (Научно-исследовательский институт ветеринарии, Брно; Районное ветеринарное управление, Тřebíč): Профилактическое и терапевтическое действие вакцины против трихофитоза крупного рогатого скота, Vet. Med., Praha, 24, 1979 (4) : 209-216.

Действие вакцины против дерматомикоза вида *Trichophyton verrucosum* изучали у молодняка в трех стадах. Профилактическое действие чехословацкой и советской вакцин почти одинаковое. У здоровых, не проявляющих клинических признаков, телят, вакцинированных в возрасте 1—3 месяца дозой 2,5—5,0 мл внутримышечно, и снова вакцинированных при соблюдении основных правил гигиены среды, за 3—5-месячный период отмечено 0—13 % случаев заболевания. В контрольных, не вакцинированных группах, находящихся в тех же условиях заражения и за тот же период, заболевания составили 36,3—100,0 %. В начальной фазе вакцинации — во время прививок подозрительных животных — зараженность вакцинированных животных составила 50,0—68,8 % и в большинстве случаев не отличалась от зараженности невакцинированного, контрольного скота. Терапевтический эффект вакцины и Миколостанокса Ф: спустя 10 недель после вакцинации превакцинирование было нулевым. У животных с местной обработкой Миколостаноксом Ф нулевое превакцинирование установлено спустя 12 недель от начала лечения.

Trichophyton verrucosum; иммунопрофилактика; иммунотерапия; вакцина советского и чсл. производства; Миколостанокс Ф; дезинфекция

PAVLAS, M. — WILLOMITZER, J. — MRVA, V. — PATLOKOVÁ, V. — PROCHÁZKA, F. (Veterinary Research Institute, Brno; District Veterinary Centre, Třebíč): The Therapeutic and Preventive Effectiveness of Vaccine against Trichophytosis in Cattle. Vet. Med., Praha, 24, 1979 (4) : 209-216.

The effectiveness of vaccine against dermatomycosis, caused by *Trichophyton verrucosum*, was studied in young cattle in three herds. The vaccines of Czechoslovak and Soviet production had almost the same effectiveness in prevention. In healthy calves without clinical signs of trichophytosis vaccinated at an age of one to three months with a dose of 2.5 to 5.0 ml, applied intramuscularly, and revaccinated with due respect to the rules of hygiene in the calf-houses, an incidence of 0 to 13 % in the three- to five-month period of study was observed. In the non-vaccinated control groups, the incidence under the same infection conditions and in the same period was 36.3 to 100.0 %. At the early stage of vaccination — during the inoculation of the animals suspected of being infected — the incidence of the disease was 50.0 to 68.8 % and mostly showed no difference from incidence observed in the non-vaccinated control cattle. The therapeutic effect of the vaccine and Mykolastanox F is characterized by the fact that zero prevalence was obtained in the animals ten weeks after vaccination. Animals treated locally with Mykolastanox F showed zero prevalence 12 weeks after the beginning of treatment.

Trichophyton verrucosum; immunoprophylaxis; immunotherapy; vaccines of Soviet and Czechoslovak production; Mykolastanox F; disinfection

PAVLAS, M. — WILLOMITZER, J. — MRVA, V. — PATLOKOVÁ, V. — PROCHÁZKA, P. (Forschungsinstitut für Veterinärmedizin, Brno; Kreisveterinäramt, Třebíč): *Vorbeugungs- und Heilwirkung der Vakzine gegen Trichophytose beim Rind*. Vet. Med., Praha, 24, 1979 (4) : 209-216.

Wirkung der Vakzine gegen Dermatomykose der Art *Trichophyton verrucosum* wurde bei Jungrind in drei Zuchten untersucht. Die Vakzinen der tschechoslovakischen und sowjetischen Provenienz verfügten über fast dieselbe Vorbeugungswirkung. Bei gesunden Kälbern ohne klinische Symptome der Trichophytose, die im Alter von ein bis drei Monaten mit einer intramuskulär angewendeten Gabe von 2,5 bis 5,0 ml unter Einhaltung der Grundregeln der Stallumwelthygiene vakziniert und revakziniert wurden, wurde für den untersuchten Zeitraum von drei bis fünf Monaten eine Inzidenz von 0 bis 13 % festgestellt. Bei den nicht vakzinierten Kontrollgruppen wurde unter denselben Infektionsbedingungen und für denselben Zeitraum eine Inzidenz von 36,3 bis 100,0 % festgestellt. In der Anfangsphase der Vakzination — bei Impfung von infektionsverdächtigen Tieren — wurde bei den vakzinierten Tieren Inzidenz von 50,0 bis 68,8 % festgestellt, die sich zumeist von der bei dem nicht vakzinierten Kontrollrind festgestellten Inzidenz nicht unterschiedete. Die Heilwirkung der Vakzine und des Mykolastanox F war so hoch, daß Nullprävalenz bei den Tieren in zehn Wochen nach der Vakzination erreicht wurde. Bei den lokalweise mit Mykolastanox F behandelten Tieren wurde Nullprävalenz 12 Wochen nach dem Beginn der Behandlung festgestellt.

Trichophyton verrucosum; Immunoprophylaxe; Immunotherapie; Vakzine der sowjetischen und tschechosl. Produktion; Mykolastanox F; Desinfektion

Adresa autorů:

MVDr. Milan Pavlas, CSc., MVDr. Jindřich Willomitzer, CSc., MVDr. Vlastimil Mrva, ing. Vlasta Patloková, Výzkumný ústav veterinárního lékařství, Hudcova 70, 621 32 Brno

MVDr. František Procházka, Veterinární středisko, Tyršova 363, 676 00 Moravské Budějovice

ANTRAXOVÝ PROTEKTIVNÍ ANTIGEN A JEHO PŘÍPRAVA

K. Prokúpek, R. Dvořák, R. Poláček

PROKÚPEK, K. — DVOŘÁK, R. — POLÁČEK, R. (Bioveta, Ivanovice na Hané; Ústav pro státní kontrolu veterinárních biopreparátů a léčiv, Brno): *Antraxový protektivní antigen a jeho příprava*. Vet. Med., Praha, 24, 1979 (4) : 217-224.

Je popsán celkem jednoduchý způsob přípravy antraxového protektivního antigenu a jeho hodnocení. Je poukázáno na mnohé potíže, které se mohou při jeho výrobě vyskytnout a je zdůrazněno, že sérologická aktivita protektivního antigenu by neměla být přeceňována.

Protektivní antigen (PA), jehož existenci prokázali jako první Smith a Keppie [1954], je součástí antraxového toxinu. Tento toxický komplex se skládá nejméně ze tří komponent (protektivní antigen, edémový a letální faktor). O poznání jednotlivých součástí toxinu se zasloužily hlavně dvě skupiny pracovníků: anglická, soustředěná v Portonu, a americká ve Fort Detricku. Největší zájem byl o protektivní antigen, který jako imunizační faktor byl studován více než ostatní komponenty.

Izolací, purifikací a stanovením některých fyzikálních a chemických parametrů se umožnilo poznání základních vlastností protektivního antigenu (Fish aj., 1968). Je proteinové povahy, blízký gamaglobulinům, s molekulární hmotností v rozsahu 60 000 až 100 000. Vyznačuje se trojí aktivitou — sérologickou, protektivní (imunizační) a biologickou (aktivace edémového a letálního faktoru). Je termolabilní a nestálý v kyselé zóně pH. Zahřátím na teplotu 56 °C po dobu jedné hodiny ztrácí sérologickou i protektivní aktivitu. Antigen je stálý při teplotě 4 °C po 30 dní při rozsahu pH 6,8 až 8,3, při pH kolem 6,0 se rychle inaktivuje. Vysoce purifikovaný antigen má užší pH toleranci. Je stálý po 30 dní při teplotě 4 °C a pH 7,0 až 7,5, ale účinnost rychle klesá při změně pH pod 7,0 a nad 7,9. Nejstálejší je antigen lyofilizovaný a uložený při teplotě -20 °C. Takto uchovávaný preparát však nesmí zvlhnout, jinak rychle ztrácí účinnost.

Každý antraxový kmen — i se zbytkovou virulencí — vytváří protektivní antigen, ale podmínky pro optimální produkci jsou různé a musí se předem vytestovat. Předpokladem je, že použijeme neproteolytický kmen, který neštěpí antigen vlastními fermenty. Byla zkoušena a postupně doplňována různá kultivační média a zjišťovány podmínky ovlivňující produkci antigenu. Belton a Strange (1954) vyvinuli polosyntetické neproteinové médium, obsahující některé aminokyseliny, štěpy kazeinu a minerální růstové faktory. Tím odstranili nebezpečí anafylaxe, hrozící z proteinových půd. Většinou se dnes používá aerobní kultivace na neproteinové půdě. Důležitými faktory jsou dále velikost inokula, vrstva média (mělká, hluboká),

doba kultivace a pH kultury. Protektivní antigen je metabolit, a proto se hromadí uvnitř buňky. Přídavek bikarbonátu do živného média působí jako donátor kyslíčnicku uhlíčitého, který kontroluje permeabilitu buněčné stěny a umožňuje antigenu proniknout z buněk do vnějšího prostředí. Současně pomáhá udržovat alkalickou reakci živné půdy. Aktivní uhlí slouží k zachycování peptidáz.

Produkce antigenu je značně závislá na intenzitě množení mikrobů. Vrcholu dosahuje na konci logaritmické a na začátku stacionární fáze, tedy za aerobní statické kultivace na neproteinové půdě asi za 24 až 28 hodin inkubace při teplotě 37 °C. Necháme-li kulturu inkubovat déle než je optimální doba, je antigen destruován proteolytickými fermenty uvolněnými ze stárnoucí kultury. Důležitým poznatek, že toxické složky (edémový a letální faktor) jsou zadržovány skleněným filtrem (filter faktor), zatím co protektivní antigen jím prochází. Zvýší-li se pH kultivačního média na 8,7, může zabránit při filtraci adsorbci toxických komponent na skleněný filtr.

Je velmi obtížné získat protektivní antigen v čistém stavu. Takový antigen se vyznačuje tím, že vytváří pouze jednu precipitační linii. Obvykle se však nepodaří připravit antigen sérologicky homogenní. Vedle hlavní výrazné precipitační linie se objevuje ještě jedna nebo i více doprovodných linií, a to zejména u preparátů z trepaných a ze starých kultur. O povaze těchto přídatných linií se dosud neví nic určitého. Jedni je považují za symbol antigenů, které nejsou příbuzné s protektivním antigenem, jiní spíše za projev degradace antigenu.

Třebaže jsou uváděny příklady dobré shody mezi sérologickým titrem a imunogenitou antigenu (Thorne a Belton, 1957; McGann aj., 1961), není výška sérologického titru ještě dostatečnou zárukou jeho dobrého imunizačního účinku. Jsou zaznamenány příklady, kdy antigen s vysokým titrem měl malou protektivní účinnost a opačně (Molnar a Altenbern, 1963). Dokonce se uvádí, že imunogenní aktivita různých preparátů protektivního antigenu se může vzájemně dosti lišit i při použití téhož výrobního postupu. Převládá názor (Fish aj., 1968), že protektivní antigen je ve své struktuře velmi labilní a že jednotlivé preparáty antigenu mohou existovat v různé konfiguraci, což může mít vliv na jejich vlastnosti. Biologické, imunologické a sérologické vlastnosti mohou kolísat nezávisle na stupni čistoty a uložení antigenu. Preparáty protektivního antigenu nesmějí obsahovat ostatní složky toxického komplexu v množství, které by se při imunizaci mohlo škodlivě projevit.

Z našich pracovníků se otázkou přípravy protektivního antigenu zabývali Trnka aj. (1962), Vančurík (1970), jenž zvlášť zdůraznil obtížnost sérologického hodnocení, a Mikula (1975), který v širokém měřítku studoval imunogenné produkční schopnosti některých antraxových kmenů.

MATERIÁL A METODY

V předpokusech jsme orientačně testovali několik produkčních antraxových kmenů, a to STI, variantu 71/12 druhé vakcíny Cenkovského a Sterne 34F2. Z uvedených kmenů prokázal nejlepší imunogenní produkční schopnost kmen STI, a proto jsme jej použili v další práci.

Výrobní antraxový kmen: kmen sovětské vakcíny STI, který byl udržován na šikmém agaru připraveném z koňského masa a každé dva měsíce překultivován.

Referenční antiantraxové sérum: specifické koňské léčebné sérum z produkce Pasteurova ústavu v Paříži (op. čís. 25 102). Bylo připraveno složitým imunizačním postupem a obsahovalo protilátky proti složkám antraxového toxinu (Vančurík, 1970).

Standardní protektivní antigen: byla jím jedna z prvních šarží PA, připravená z kmene STI, která dávala s referenčním sérem precipitaci v agarovém gelu podle Ouchterlonyho titr 1 : 16 a vyznačovala se 80% protekcí králíků při dávce 3 ml antigenu. Preparát byl lyofilizován a udržován při teplotě -20 °C. Sloužil ke kontrole účinnosti referenčního antiantraxového séra a k srovnávání výsledků.

Čelenžní antraxový kmen: terénní virulentní kmen *Bacillus anthracis* Letonice, jehož minimální letální dávka (MLD), stanovená na králících, byla 2.10⁴. Naši pokusní králíci byli čelenžováni infekční dávkou 10⁶ spór (50 MLD), která smrtila zvířata do tří dnů při podkožní aplikaci.

Živná půda. Při přípravě živné půdy jsme vycházeli ze základního složení polosyntetického média, popsaného Beltonem a Strangem (1954). Mediím byla nebílkovitá CA půda, obsahující různé aminokyseliny, štěpy kazeinu a minerální růstové faktory s přídavkem bikarbonátu a aktivního uhlí.

Kultivace byla aerobní, statická, při teplotě 37 °C po dobu 27 hodin.

Inokulace: spórová suspenze v dávce 4.10⁶ l⁻¹ media.

Sérologická aktivita se zjišťovala precipitací v agarovém gelu bo-xovou titrací (Ray a Kadull, 1964).

Precipitace v agarovém gelu: pro tuto reakci jsme použili skleněné desky o velikosti 110 × 110 mm, s agarovou vrstvou 3 mm. Desku ohraničoval rámeček z novoduru. Volili jsme šachovnicové uspořádání jamek o průměru 8 mm. Vzdálenost mezi jamkami 10 mm, počet řádků 6, počet jamek v řádku 5. Dno jamek jsme zalévali kapkou gelu.

Příprava agarového gelu: 500 cm³ 2% speciálního agaru Difco se smísí s 500 cm³ fosfátového pufru (pH 7,2). Přidá se mertiolát v poměru 1:2500.

Příprava fosfátového pufru: 2,2 g NaCl se rozpustí v 250 cm³, 10 g Na₂PO₄ · 12 H₂O v 190 cm³ a 1,2 g KH₂PO₄ v 60 cm³ destilované vody a smísí se.

Vybarvování precipitačních linií: použili jsme barviva o složení 1 g bromfenolové modře, 50 cm³ kyseliny octové a 500 cm³ etylalkoholu denaturovaného benzínem. Barvivo jsme vymývali směsí 20 cm³ kyseliny octové, 100 cm³ glycerinu na 1000 cm³ destilované vody.

Vodorovnou polohu desek jsme zajišťovali vodováhou. Aby desky nevysychaly, byly uloženy v Petriho miskách na vatové podložce zvlhčené vodou.

Protektivní účinnost byla stanovena biologickým pokusem na králících a vyjadřována indexem přežití podle vztahu

$$Ip = \frac{\text{počet přeživších zvířat}}{\text{počet použitých zvířat}} \cdot 100$$

Zkouška neškodnosti: Antigen byl testován na kryších linie Wistar (150 g) dávkou 5 cm³ intraperitoneálně, na králících (2–3 kg) dávkou 10 cm³ podkožně a na morčatech (300–400 g) v dávce 0,1 cm³ neředěného a série dvojnásobného ředění intradermálně. Doba pozorování kryš a králíků byla sedm dní, nitrokožní reakce se posuzovala za 24 a 48 hodin.

K přípravě kultivačního media jsme použili vesměs chemikálií tuzemské výroby v čistotě pro analýzy, jen štěpy kazeinu (Casamino acids) byly z produkce Difco.

Příprava media: Nachystáme si osm zásobních roztoků, které připravíme navážením dále uvedených chemikálií do 100 cm³ odměrných nádob a doplníme po značku destilovanou vodou. Uvedená množství slouží k přípravě deseti litrů kultivačního media.

Číslo nádoby	Chemikálie	Množství v mg
1	CaCl ₂ · 2H ₂ O	73,5
2	MgSO ₄ · 7H ₂ O	98,6
3	MnSO ₄ · 7H ₂ O	8,5
4	KH ₂ PO ₄	6,8
5	K ₂ HPO ₄	8710,0
6	thiamin hydrochlorid	5,0
7	adenin	21,0
	uracil	7,0
8	tryptofan	520,0
	L-cystin	120,0
	glycin	150,0

Chemikálie v baňkách 1 až 6 se rozpouštějí dobře. Do nádoby 7 přidáme po kapkách 0,1 N NaOH, až se látka rozpustí. Pak doplníme po značku destilovanou vodou. Obdobně do nádoby 8 přidáme po kapkách 0,1 N HCl. Zásobní roztoky mohou být skladovány při teplotě 4 °C po dobu čtyř měsíců. Další roztoky je nutno připravit vždy čerstvé. Uvedená množství slouží k přípravě jednoho litru živné půdy: 3,6 g Casamino acids Difco, 4 cm³ suspenze aktivního uhlí (0,750 g uhlí a 4 cm³ destilované vody), 88 cm³ 9% vodného roztoku bikarbonátu sodného (7,92 g NaHCO₃ a 88 cm³ destilované vody) a 10 cm³ 20% vodného roztoku glukózy.

Příprava trispufu: 1,62 g tris (hydroxymetilaminometanu) a 1,07 g chloridu sodného do 100 cm³ destilované vody.

Při vlastní přípravě kultivačního media vneseme do 1000 cm³ odměrné nádoby po 10 cm³ roztoků 1 až 8, dále 3,6 g Casamino acids a promícháme třepáním. Doplníme destilovanou vodou na 900 cm³ a upravíme pH (0,1 N HCl nebo 0,1 N NaOH)

I. Testování sérologické aktivity antigenu boxovou titrací — Box titration testing of the serological activity of the antigen

Referenční sérum	Zkoušený protektivní antigen					
	1 : 2	1 : 4	1 : 8	1 : 16	1 : 32	1 : 64
1 : 2	+	+	+	—	—	—
1 : 4	+	+	+	±	—	—
1 : 8	+	+	+	+	—	—
1 : 16	—	+	+	+	—	—
1 : 32	—	—	+	+	±	—
1 : 64	—	—	—	—	—	—

+ zřetelně viditelná precipitační linie

II. Testování protektivní účinnosti preparátu — Tests of the protective effect of the preparation

Pokusné zvíře	Počet	Protektivní antigen cm ²	Protektivní účinnost		Index přežití
			uhynulo	přežilo	
Králík	5	1	4	1	20
Králík	5	2	1	4	80
Králík	5	1 + 2 revakcinace za 1 týden	0	5	100
Králík	3	0	3	0	0

na 6,9. Přidáme 88 cm³ 90% roztoku Na HCO₃ a 10 cm³ 20% roztoku glukózy a doplníme vodou na 1000 cm³ a sterilizujeme filtrací Seitzovým filtrem s EK vložkou v tlakovém provedení. Pak vlejeme do třílitrové Fernbachovy láhve a přidáme sterilně 4 cm³ suspenze aktivního uhlí, které jsme před tím krátce povařili ve zkumavce. Tím je kultivační medium připraveno k inokulaci. Jeho končné pH je 8,0.

Spórovou suspenzi připravíme tak, že na šikmý agar z koňského masa naočkujeme výrobní antraxový kmen. Kulturu inkubujeme při teplotě 37 °C po dobu potřebnou k tomu, abychom získali zralé spóry (3–4 týdny). Stupeň spolurace kontrolujeme podle Ivanova a Dačeviče (1964). Když dosáhneme tohoto stadia, smyžeme kulturu sterilní destilovanou vodou. Spórovou suspenzi homogenizujeme při teplotě 47 °C po dobu 16 hodin ve vodní lázni a pak zahřejeme na teplotu 60 °C po 30 minut. Počet spór v suspenzi stanovíme diluční technikou plotnovou metodou. Současně zkontrolujeme čistotu kultury. Spórovou suspenzi uloženou při teplotě 4 °C lze použít po tři měsíce.

VÝSLEDKY

Jeden litr kultivačního média ve třílitrové Fernbachově láhvi (kultivace v nízké vrstvě), vytemperované na 37 °C, jsme inokulovali dávkou

4.10⁶ spór. Při této teplotě jsme kulturu inkubovali 27 hodin staticky. Ke konci kultivace byl už v láhvi zřetelný zákal a pH pokleslo z původních 8,0 na 7,0 až 6,9. Doporučujeme pH před koncem kultivace (za 20—24 h) překontrolovat, neboť nemá klesnout pod 6,8. Když kultivace skončila, ochladili jsme narostlou kulturu a zkontrolovali její čistotu. Všechny další úkony jsme dělali při ledničkové teplotě. Ochlazenou kulturu jsme filtrovali pomocí vývěvy, odsávací baňky a Büchnerovy nálevky přes filtrační papír (Niederschlag 389), čímž jsme odstranili hrubou hmotu (těla mikrobů a aktivní uhlí). Získaný filtrát jsme filtrovali dále přes skleněný filtr G 5, a tak jsme získali filtrát, obsahující jako hlavní složku protektivní antigen. Ze surového filtrátu jsme získali částečně purifikovaný protektivní antigen vysolením síranem amonným. Na jeden litr filtrátu jsme přidali za stálého promíchávání tolik síranu, až vznikl nasycený roztok (asi 700 g). Láhev s filtrátem jsme nechali stát při teplotě 4 °C po dobu 24 hodin za občasného protřepávání, aby došlo k maximálnímu vysrážení antigenu. Sraženinu jsme oddělili filtrací přes Büchnerovu nálevku s filtračním papírem (Niederschlag 390) a zachycený precipitát jsme promývali 20 cm³ čištěného, z 80 % nasyceného roztoku síranu amonného, čímž jsme odstranili zbytky tohoto roztoku z antigenu. Tím odpadá pracná dialýza. Filtrační papír se zadrženým precipitátem jsme macerovali v 50 cm³ 0,05 M trispufru, čímž jsme získali dvacetinásobnou koncentraci antigenu relativně purifikovaného (asi 60krát) ve srovnání se surovým filtrátem. Po maceraci a rozpuštění sraženiny se zbytky filtračního papíru odstraní filtrací přes skleněný filtr sintr S-1. Vysolováním odstraňujeme také možnost přechodu antraxového polysacharidu, který nemá imunizační vlastnosti, do preparátu. K takto připravenému preparátu přidáme 1 % normálního nekarbolizovaného koňského séra. Tím nejen antigen stabilizujeme, ale současně se zvyšuje citlivost precipitace v agarovém gelu. Uděláme ještě konečnou zkoušku sterility a preparát uložíme. Krátkodobě (1 měsíc) jsme uchovávali antigen v ledničce při teplotě 4 °C. Pro dlouhodobé uložení (1—2 roky) jej lyofilizujeme a uchováváme při teplotě -20 °C.

K průkazu sérologické aktivity jsme použili precipitace v agarovém gelu. Jako průkaz specifičnosti nám sloužil vznik výrazné precipitační linie, která odpovídá linii vzniklé při kontrolní reakci (standardní antigen a referenční sérum). Pracovali jsme metodou boxové titrace (sérum postupně ředěné proti řadě analogicky ředěného zkoušeného antigenu), která dává jasné výsledky dobře odečitatelných precipitačních linií v zóně ekvivalence. Po dvouhodinové předinkubaci séra při teplotě 37 °C se plní jamky stejným objemem příslušného ředění zkoušeného antigenu. Výsledek jsme odečítali po třídní inkubaci při teplotě laboratoře. Titrem bylo nejvyšší ředění antigenu, při kterém se ještě tvořila zřetelně viditelná precipitační linie. Abychom mohli lépe odečítat výsledky, vybarvovali jsme desky s agarovým gelem bromfenolovou modří. Před barvením je třeba vymýt přebytek séra a antigenu fyziologickým roztokem.

Námi připravené preparáty protektivního antigenu se vyznačovaly relativně dobrou sérologickou čistotou, projevující se hlavní ostrou precipitační linií. V zóně větší koncentrace antigenu (ředění 1:2 až 1:4) se objevovala ještě jedna méně zřetelná precipitační linie blíže k antigenní jamce, která v dalších ředěních mizela. Je možné, že doprovodná

linie vyznačovala přítomnost letálního faktoru, který kontaminoval náš preparát. Dosažený titr sérologické aktivity našich preparátů byl 1:16, při optimálním ředění séra 1:8. Za pozitivní kontrolu nám sloužilo srovnání průběhu reakce referenčního séra se standardním antigenem. Kontroly s normálním koňským sérem ředěným 1:2 a fyziologickým roztokem se zkoušeným antigenem byly negativní.

Protektivní účinnost antigenu jsme prověřovali na králících. Zvřatům byly aplikovány podkožně různé dávky antigenu jednorázově i na dvakrát. Za tři týdny po vpravení antigenu byli králíci čelenžováni infekční dávkou 10^6 spór virulentního referenčního antraxového kmene Letonice. Zdravotní stav zvířat jsme sledovali 14 dní. Příčinu jejich úhynu jsme zjišťovali pitvou, kultivací a pokusem na bílých myších. Výsledek testu jsme vyjádřili indexem přežití.

Protektivní účinnost antigenu v průměrné dávce byla dobrá, zejména při dávce opakované. Při uložení v ledničkové teplotě 4 °C však ztrácel postupně svou protekční potenci. Čerstvý preparát, který při dávce 2 ml měl index přežití 80, měl za dva měsíce index přežití 60 a za tři měsíce jen 20.

Neškodnost antigenu byla zjišťována na bílých krysách linie Wistar a na králících. Ani v jednom případě se onemocnění neprojevovalo.

Edemogenní aktivita byla testována na morčatech. U zvířat nedošlo v místě aplikace k žádným zánětlivým změnám na kůži. Výsledky těchto testů prokazovaly, že získané preparáty neobsahovaly toxické komponenty v množství, které by se mohlo při imunizaci škodlivě projevit.

DISKUSE

Za současného stavu poznatků není už obzvlášť obtížné připravit protekční antigen. Úspěšný výsledek je ovšem závislý na řadě okolností, které jsou značně proměnné. Velmi proto záleží na přesnosti práce a také na určité zkušenosti. Obtížné je připravit čistý preparát, vyznačující se jednou precipitační linií. Toho lze dosáhnout dalším purifikačním postupem. Obvykle se podaří získat jen relativně čistý antigen, který není sérologicky zcela homogenní. Heterogenita by neměla u dobrých preparátů přesáhnout jednu doprovodnou linii, znatelnou jen v zóně vyšší koncentrace antigenu. Je pravděpodobné, že námi připravené preparáty obsahovaly také letální faktor, který však při postupné preparaci ztratil toxicitu, ale zachoval si sérologickou a snad také imunizační účinnost. Vysoce purifikované preparáty jsou značně labilní a pravděpodobně i antigenně méně účinné. Názory na sérologickou aktivitu se měnily podle výsledků publikovaných prací. Z počátku převládá názor, že sérologická titrace dává dobré informace také o imunizačních vlastnostech. Postupně se však názory upřesňovaly. Dnes je sérologická aktivita především ukazatelem specificity a čistoty antigenu, nikoliv však jednoznačně výrazem jeho imunizační potence. Ta je vyjádřena protektivní schopností, kterou je možné prokázat jedině biologickým pokusem. Složky antraxového toxinu nejsou zřejmě jednoduché proteiny. Nedávná studia naznačují, že protektivní antigen je snad složen z několika subjednotek, které mohou agregovat, nebo zase velké agregáty se mohou rozpadat a vytvářet více precipitačních linií. Antigen může proto měnit

svou protekční i biologickou aktivitu, aniž by se výrazně měnil sérologický titr. Někdy ani při témž výrobním postupu nelze zaručit, že získáme stejně kvalitní preparát. Není také ještě zcela jasné, zda se jednotlivé komponenty toxinu syntetizují jako samostatné jednotky ve stejném nebo postupném časovém sledu, nebo zda se celý toxin tvoří jako jeden multikomponentní komplex, který se rozpadá na toxickou směs.

Byly vypracovány různé postupy přípravy protektivního antigenu, ale získané preparáty se často svými vlastnostmi od sebe odlišovaly. Bylo by proto záslužné, kdyby s využitím současných vědomostí byl vypracován nejvhodnější postup přípravy a způsob testování antigenu, zejména se zřetelem na výrobu vakcíny.

Literatura

- BELTON, F. C. — STRANGE, R. E.: Studies on a protective antigen produced *in vitro* from *Bacillus anthracis*; medium and methods of production. Br. J. exp. Path., 35, 1954, s. 144-152.
- FISH, D. C. — MAHLANDT, B. G. — DOBBS, J. P. — LINCOLN, R. E.: Purification and properties of *in vitro* produced anthrax toxin components. J. Bact., 95, 1968, s. 907-918.
- FISH, D. C. — LINCOLN, R. E.: *In vivo* produced anthrax toxin. J. Bact., 95, 1968, s. 919-924.
- IVANOV, M. M. — DAČEVIČ, J. J.: Opredelenije živých i mrtvých spor sibirskoj jazvy. Trudy GNKI vet. prep., 12, 1964, s. 171-173.
- MC GANN, V. G. — STEARMAN, R. L. — WRIGHT, G. G.: Studies on immunity in anthrax. Relationship of complement-fixing activity to protective activity of culture filtrates. J. Immun., 86, 1961, s. 458-464.
- MIKULA, J.: Porovnanie imunogén-produkčnej schopnosti niektorých kmeňov *Bacillus anthracis* pre výrobu chemovakcíny. [Kandidátská disertace.] Praha, prac. Šaríšské Michaľany 1975. — Ústav sér a očkovacích látok.
- MOLNAR, D. M. — ALTENBERN, R. A.: Alterations in the biological activity of protective antigen of *Bacillus anthracis* toxin. Proc. Soc. exp. Biol. Med., 114, 1963, s. 294-297.
- RAY, J. G. — KADULL, P. J.: Agar-gel precipitin technique in anthrax antibody determinations. Appl. Microbiol., 12, 1964, s. 349-354.
- SMITH, H. — KEPPIE, J.: Observations on experimental anthrax. Demonstration of a specific lethal factor produced *in vivo* by *Bacillus anthracis*. Nature, 173, 1954, s. 869-870.
- THORNE, C. B. — BELTON, F. C.: An agar-diffusion method for titrating *Bacillus anthracis* immunizing antigen and its application to a study of antigen production. J. gen. Microbiol., 17, 1957, s. 505-516.
- TRNKA, Z. — LANC, A. — ŠTERZL, J.: Příprava a zhodnocení účinnosti nebakteriální látky proti anthraxu. Antropozoonózy. Košice 1962.
- VANČURÍK, J.: Jednoduchá kultivační příprava anthraxového protektivního antigenu a jeho sérologický průkaz. Čs. epidem., 19, 1970, s. 118-124.

Došlo dne 27. 7. 1978

ПРОКУПЕК, К. — ДВОРЖАК, Р. — ПОЛАЧЕК, Р. (Биовета, Ивановице-на-Гане; Институт государственного контроля ветеринарных биопрепаратов и лекарств, Брно): Сибирезвевный предохранительный антиген и его приготовление. Vet. Med., Praha, 24, 1979 (4): : 217-224.

Описаны довольно простой метод приготовления сибирезвевного предохранительного антигена и его оценка. Упоминается о многих трудностях, могущих возникнуть при его производстве, причем подчеркивается, что серологическую активность предохранительного антигена не следовало бы переоценивать.

PROKÚPEK, K. — DVOŘÁK, R. — POLÁČEK, R. (Bioveta, Ivanovice na Hané; Institute for the State Control of Biopreparations and Drugs, Brno): *The Anthrax Protective Antigen and its Preparation*. Vet. Med., Praha, 24, 1979 (4) : 219-224.

The authors describe a comparatively simple method of the preparation of an anthrax protective antigen and its evaluation. Attention is drawn to many obstacles that may arise during its production and emphasis is laid on the fact that the serological activity of the protective antigen should not be overestimated.

PROKÚPEK, K. — DVOŘÁK, R. — POLÁČEK, R. (Bioveta, Ivanovice na Hané; Anstalt für staatliche Kontrolle der Veterinärbiopreparate und Medikamente, Brno): *Anthraxprotektives Antigen und dessen Herstellung*. Vet. Med., Praha, 24, 1979 (4) : 219-224.

Es wird eine ganz einfache Methode der Herstellung eines Anthraxprotektiven Antigens und dessen Bewertung beschrieben. Es wird auf zahlreiche Schwierigkeiten die bei der Erzeugung des Präparats auftreten können, hingewiesen, und es wird nachdrücklich hervorgehoben, daß die serologische Aktivität des protektiven Antigens nicht überschätzt werden sollte.

Adresa autorů :

MVDr. Kamil Prokúpek, CSc., Bioveta, 68323 Ivanovice

MVDr. Rastislav Dvořák, ing. Radomil Poláček, Ústav pro státní kontrolu veterinárních biopreparátů a léčiv, 600 00 Brno

BETA-KAROTÉN KREVŇÍ PLAZMY DOJNIC V RŮZNÝCH FÁZÍCH LAKTACE A REPRODUKČNÍHO CYKLU

M. Lebeda, J. Přikrylová

LEBEDA, M. — PŘIKRYLOVÁ, J. (Vysoká škola veterinární, Brno): *Beta-karotén krevní plazmy dojníc v různých fázích laktace a reprodukčního cyklu*. Vet. Med., Praha, 24, 1979 (4) : 225-232.

Vyšetřením 148 osmnáctičlenných souborů dojníc bylo zjištěno, že úroveň produkce mléka, resp. fáze reprodukčního cyklu, má významný vliv na hladinu beta-karoténu v krevní plazmě. Krávy v první fázi laktace, tj. do tří měsíců po porodu, mají v létě i v zimě nižší množství beta-karoténu v krevní plazmě než krávy ve druhé fázi laktace (tj. ve čtvrtém až šestém měsíci po porodu, zapuštěné, většinou březí). Beta-karotén krav vysokobřezích, stojících nasucho, se významně neliší od krav v první ani ve druhé fázi laktace. Nejvyšší stupeň beta-karoténu mají v období letního i zimního krmení krávy ve druhé fázi laktace. Rozdíly mezi letními a zimními hladinami beta-karoténu plazmy jsou u všech tří skupin krav výrazně významné. Pokles dojivosti v zimním období je významný jen ve druhé fázi laktace. Krytí potřeby vitamínu A při zimním krmení dojníc by mělo respektovat úroveň dojivosti i stadium gravidity. Výše potřebného přídatku vitamínu A byla vypočtena z hodnot beta-karoténu krevní plazmy, a to 48 536 až 68 121 m. j. pro krávy v první fázi laktace (s průměrnou dojivostí 17,9 l), 40 964 až 57 496 m. j. pro krávy ve druhé fázi laktace (s průměrnou dojivostí 11,8 l) a 49 192 až 69 044 m. j. pro krávy vysokobřezí, stojící nasucho. Potřeba přídatku vitamínu A na 1 litr mléka v první fázi laktace byla vypočtena na 1258 až 2355 m. j., ve druhé fázi laktace pro krávy již březí na 1282 až 2688 m. j. U krav vysokobřezích je potřeba vitamínu A na úrovni produkce 18,3 l mléka. Diskuse se zabývá příčinami rozdílných hladin beta-karoténu plazmy v různých fázích laktace a důsledky jejich poklesu v zimním období pro odchov telat.

beta-karotén; krev; dojnice; zima; léto; stadium laktace; dojivost; vitamín A

Hladina beta-karoténu v krvi i v mléce krav závisí na mnoha faktorech zevního a vnitřního prostředí, na prvním místě však zůstává množství karoténu přijatého krmivem (Gažo a Landau, 1956; Slanina aj., 1971; Veselý, 1973; Bukojevič, 1975; Lebeda aj., 1978). Známý pokles beta-karoténu v období zimních krmných dávek je u nás tak vysoký, že je třeba přidávat vitamín A, aby se předešlo chorobám novorozenečtěl a aby se udržela mléčná užitkovost a dobrý zdravotní stav (Lebeda aj., 1978).

Po porodu byl u prvotek zjištěn pokles sérového beta-karoténu, trvající dva až tři týdny (Stöckl aj., 1975). Surynek aj. (1976) prokázali u krav v září až říjnu mezi 8. až 14. dnem po porodu významně nižší hladiny beta-karoténu v krevní plazmě než u krav do sedmi dní po porodu a vyvodili ze svých nálezů

potřebu většího přídatku vitamínu A a beta-karoténu nejen u krav vysokobřezích, ale i v období porodu.

Při vysoké užitkovosti dojnic se mohou zmenšit rezervy vitamínu A, nebo se vůbec nevytvoří (Wiesner, 1967). Režim vitamínu A, jeho hlavního prekursoru beta-karoténu a jejich hladina v mléce krav se považují za rozhodující faktor přirozené odolnosti telat proti infekčním chorobám, hlavně v prvních týdnech po narození (Gažo a Landau, 1956; Dvořák, 1961; Slanina aj., 1971; Surynek aj. 1976 aj.). Dynamika beta-karoténu v krevní plazmě dojnic, kterou jsme zjistili v letech 1975 až 1978 (Lebeda aj., 1978), je převráceným obrazem frekvence průjmů u telat (Vlček aj., 1978). Zásoby vitamínu A v játrech novorozeneých telat jsou závislé na úrovni beta-karoténu a vitamínu A v krmné dávce jejich matek (Abrams, 1965- cit. Surynek aj., 1976).

Bylo také prokázáno, že nedostatek karoténu a vitamínu A v krevním séru krav je jednou z příčin neplodnosti (Afanasjev a Lauks, 1973).

Je tedy zřejmé, že hladina beta-karoténu a vitamínu A v organismu krav souvisí s mnoha dalšími problémy aktuálními v současném chovu dojnic.

Tato práce se zabývá studiem hladiny beta-karoténu v krevní plazmě dojnic v různých fázích laktace v období zeleného a zimního krmení s cílem vyvodit závěry pro diferencovanou potřebu přípravku vitamínu A podle stupně dojivosti nebo podle fáze reprodukčního cyklu.

MATERIÁL A METODA

Od ledna 1975 do konce března 1978 jsme vyšetřili 148 zpravidla osmnáctičlenných skupin dojnic a prvotetek na obsah beta-karoténu v krevní plazmě. Beta-karotén plazmy venózní krve jsme stanovili fotokolorimetricky modifikovanou metodou podle Bisaze (1952), založenou na deproteinaci čistým etanolem a extrakci petroleterem. Metoda pracuje s chybou 1,06 % zjištěných hodnot beta-karoténu.

V každém souboru vyšetřených zvířat byly zpravidla tři šestičlenné skupiny, a to krávy a prvotelky: 1. od dvou týdnů do tří měsíců po porodu, 2. ve čtvrtém až šestém měsíci po porodu, tj. zapuštěné a většinou březí a ještě dojící, 3. vysokobřezí, stojící nasucho. Zjištěné hodnoty beta-karoténu krevní plazmy byly distribuovány podle těchto tří skupin a navíc byly ještě v rámci každé skupiny rozděleny na hodnoty získané při zeleném krmení a při zimním krmení. Takto roztríděné skupiny jsme hodnotili statisticky *F*-testem a Studentovým *t*-testem jednak meziskupinově, jednak uvnitř téže skupiny při krmení zelenými krmivy a při zimním krmení.

V každé skupině byl stanoven rozptyl individuálních hodnot a rozptyl průměrných hodnot v souboru.

U všech krav jsme zjistili dojivost v období vyšetření. Pro výpočet potřebného přídatku vitamínu A na základě zjištěných hodnot beta-karoténu krevní plazmy sloužily tyto údaje:

1. Hranice beta-karoténu krevní plazmy indikující přírůstek vitamínu A je na úrovni 400 γ ma⁰/₀ (Bukojevič, 1975).

2. Úroveň beta-karoténu krevní plazmy dojnic, pod kterou vzniká predispozice pro choroby novorozeneých telat, je uváděna hodnotou 300 γ ma⁰/₀ (Kalmýkov a Puškareva, 1951; Smirnov, 1961, 1962).

3. Množství beta-karoténu v krmivu, potřebné pro zvýšení hladiny beta-karoténu krevní plazmy krav o 1 γ ma⁰/₀, činí cca 0,7 až 0,8 mg (Gažo a Landau, 1956), podle našich výpočtů cca 0,57 mg (Lebeda aj., 1978).

4. Průměrný konverzní poměr beta-karoténu a vitamín A u skotu je shodně udáván mnoha autory 8 : 1 (Wiesner, 1967; Kolb a Gürtler, 1971; Thompson, 1975), kdy 1 mg beta-karoténu odpovídá 400 m. j. vitamínu A (Wiesner, 1967).

VÝSLEDKY

Z tab. I je zřejmé, že krávy v první fázi laktace (tj. do tří měsíců po porodu — skupina I) mají v období zeleného i zimního krmení signifikantně nižší hladinu beta-karoténu krevní plazmy ($P < 0,05$) než krávy ve druhé fázi laktace (tj. ve čtvrtém až šestém měsíci po porodu — sku-

I. Průměrná hladina beta-karotenu krevní plazmy v $\gamma\%$ a úrovně dojivosti v litrech podle fáze reprodukčního cyklu (laktace) a typu krmení — Average beta-carotene level in the blood plasma (in $\gamma\%$) and milk yields in litres according to the stages of the reproduction cycle (lactation) and type of feeding

Skupina krav	Ukazatel	Zelené krmení	Zimní krmení
I	beta-karotén	582,34 $\pm$ 246,13	308,16 $\pm$ 121,04
	dojivost	18,59 $\pm$ 3,96	17,89 $\pm$ 3,96
II	beta-karotén	686,13 $\pm$ 221,47	360,76 $\pm$ 140,44
	dojivost	13,56 $\pm$ 3,53	11,81 $\pm$ 3,45
III	beta-karotén	650,92 $\pm$ 245,66	330,30 $\pm$ 146,06
	dojivost	0,0	0,0

pina II). Mezi skupinou I a III (vysokobřezí, stojící nasucho) a mezi skupinou II a III není signifikantní rozdíl ani v období zeleného krmení, ani v době zimního krmení. V obou obdobích však jsou hladiny beta-karotenu nejvyšší u krav ve druhé fázi laktace.

Rozdíl hladin beta-karotenu krevní plazmy v období zeleného a zimního krmení je u všech skupin vysoce signifikantní ($P < 0,01$).

Rozdíl v dojivosti u krav skupiny I a II je vysoce signifikantní v období zeleného i zimního krmení, i celoročně ($P < 0,01$). Pokles dojivosti v zimním období je signifikantní ($P < 0,01$) jen u skupiny II.

II. Rozptyl průměrných hodnot skupin krav v souborech (horní řádek) a individuálních hodnot beta-karotenu (spodní řádek) v $\gamma\%$ podle fáze laktace a typu krmení — Variance of the average values for cow groups in the sets (upper line) and individual values of beta-carotene (lower line) in $\gamma\%$ according to the stage of lactation and type of feeding

Skupina	Zelené krmení	Zimní krmení
I	152,0 — 1485,0	59,1 — 610,6
	64,0 — 2400,7	40,0 — 928,0
II	171,6 — 1645,0	64,6 — 802,0
	128,0 — 2720,8	48,0 — 1248,4
III	196,8 — 1288,0	49,3 — 729,3
	24,0 — 1920,6	40,0 — 1280,4

Tab. II ukazuje, že rozptyl hodnot beta-karotenu krevní plazmy je velký jak individuálně, tak v průměrech skupin jednotlivých souborů. Pro posouzení potřeby přídatku vitamínu A nebereme v úvahu spodní hranici rozptylu individuálních nebo skupinových hodnot souborů, neboť ta je ovlivněna nižšími hodnotami beta-karotenu krevní plazmy na začátku zeleného krmení a také poklesem beta-karotenu při zkrmování zmrzlé „zelené“ kukuřice, k jakému došlo v říjnu 1977. Proto považujeme

za směrodatnější spodní hranici určenou hodnotou průměru skupiny po odečtení směrodatné odchylky. Za základ je možné vzít i samotný aritmetický průměr skupiny, v tomto případě však by se zvětšil počet zvířat, u nichž by vypočtený přírůstek vitamínu A nekryl potřebu. Při normálním rozložení hodnot je totiž v intervalu aritmetický průměr $\pm$ směrodatná odchylka 68,27 % celkového počtu pozorování (Venčík *et al.*, 1977).

Z tab. I je zřejmé, že i když považujeme za základ hodnocení interval aritmetický průměr — směrodatná odchylka, zůstává v období zimních krmných dávek téměř polovina krav v první fázi laktace pod úrovní 300 gama% beta-karoténu v krevní plazmě, tj. pod hranicí vzniku dispozice k chorobám telat. U vysokobřezích krav zůstává pod touto hranicí asi 45 % krav a ve skupině krav ve druhé fázi laktace asi 20 % krav. V zimním období je pod hranicí 400 gama% beta-karoténu cca 90 % krav ze skupiny I, 80 % krav ze skupiny III a 75 % krav ze skupiny II.

V letním období je pod hranicí 400 gama% asi 10 % krav ze skupiny I a zanedbatelný zlomek krav ze skupiny II a III.

Při výpočtu potřeby doplňku vitamínu A v zimním období dostáváme tyto hodnoty pro jednotlivé skupiny krav při respektování spodní hranice beta-karoténu plazmy, určené aritmetickým průměrem minus směrodatná odchylka:

I. skupina — aritmetický průměr $308,16 - 121,04 = 187,12$ gama% beta-karoténu. Hranice $400 \text{ gama\%} - 187,12 = 212,88$ gama%, o které je úroveň beta-karoténu snížena. Na zvýšení beta-karoténu plazmy o 1 gama% je třeba 0,57 až 0,80 mg beta-karoténu v krmivu, tj. $212,88 \times 0,57$ až $0,80 = 121,34$ až $170,30$ mg beta-karoténu. Při konverzním poměru 8:1 odpovídá tomuto množství 48 536 až 68 121,6 m.j. vitamínu A.

II. skupina analogicky: $360,76 - 140,44 = 220,32$; $400 - 220,32 = 179,68 \times 0,57$ až $0,80 = 102,41$ až $143,74$ mg beta-karoténu, kterým odpovídá 40 964 až 57 496 m. j. vitamínu A;

III. skupina analogicky: $330,30 - 146,06 = 184,24$; $400 - 184,24 = 215,76 \times 0,57$ až $0,80 = 122,98$ až $172,61$ mg beta-karoténu, kterým odpovídá 49 192 až 69 044 m. j. vitamínu A. Odečteme-li od hodnot potřebného přírůstku vitamínu A ekvivalent beta-karoténu potřebný pro záchovu, uváděný ČSN 46 7070 pro krávu o 650 kg ž. h. na úrovni 65 mg, tj. 26 000 m. j. vitamínu A, dostaneme množství vitamínu A připadající na produkci mléka u skupiny I a II, a na výstavbu plodu v osmém až devátém měsíci březosti u skupiny III. Tato množství činí po přepočtu na jeden litr mléka u skupiny I 1259,7 až 2354,48 m. j. vitamínu A, u skupiny II 1282,00 až 2687,63 m. j. vitamínu A. U skupiny III (v 8. až 9. měsíci březosti) zůstává na výstavbu plodu 23 192 až 43 043,2 m. j. vitamínu A, což odpovídá potřebě na produkci 18,3 až 18,4 l mléka.

DISKUSE

Zjištění signifikantně nižší hladiny beta-karoténu krevní plazmy dojníc v období od dvou týdnů do tří měsíců po porodu rozšiřuje poznatek Surynka *et al.* (1976), který tento pokles prokázal u krav v prvních dvou týdnech po porodu.

Jako příčinu tohoto jevu, ke kterému dochází v období zimních krmných dávek i v době zeleného krmení, vidíme dva činitele. Prvním je skutečnost, že kráva ztrácí každým litrem mléka (při obsahu 15 μg beta-karotenu v 1 g mléčného tuku — Newstead, 1976 — a 4 % mléčného tuku) 0,6 mg beta-karotenu. Při 18 l mléka je to 10,8 mg beta-karotenu, při 25 l již 15 mg. V kolostrálním období jsou ztráty beta-karotenu s mlezivem, které obsahuje průměrně 175 μg beta-karotenu v 1 g mléčného tuku (Newstead, 1976), mnohem vyšší. Druhým činitelem je skutečnost, že zelené krmivo, jako hlavní zdroj beta-karotenu, je součástí základní krmné dávky a jeho množství se nezvyšuje s dojivostí. U průměrné krávy s dojivostí 10 l mléka stačí na krytí potřeby beta-karotenu 40 % podílu zeleného krmiva v sušině krmné dávky (Lebeda aj., 1978), což představuje cca 5,4 kg sušiny. U krávy s dojivostí 20 l, která má přírůstek cca 4,5 kg jaderných krmiv s minimálním obsahem beta-karotenu, klesá podíl zeleného krmiva v sušině krmné dávky na 30 % a u krávy s dojivostí 30 l až na 24 %.

Čím více kráva dojí, tím méně dostává při současném způsobu krmení beta-karotenu jak na jednotku mléčné produkce, tak na jednotku sušiny krmné dávky. Při zimních krmných dávkách s nízkým obsahem beta-karotenu se tyto faktory uplatňují zvláště výrazně a asi u 50 % v první fázi laktace a u 45 % krav vysokobřezích v této době klesá beta-karotén krevní plazmy pod 300 γg , tj. pod hranici dispozice k chorobám novorozených telat (Kalmýkov a Puškareva, 1951; Smirnov, 1961, 1962) a naprostá většina krav všech skupin klesá pod úroveň 400 γg karotenu krevní plazmy, která je indikací pro přírůstek vitamínu A (Bukojevič, 1975).

Značná část telat dokončujících svůj intrauterinní vývoj v období zimního krmení se tedy rodí s nedostatečnými zásobami vitamínu A, neboť nepříznivý vliv nedostatku beta-karotenu a vitamínu A v dietě březích krav je známý (Abrams, 1965 — cit. Surýnek aj., 1976). Toto ohrožení odolnosti telat se dále prohlubuje příjmem mleziva a mléka s nižším obsahem beta-karotenu, který provází pokles beta-karotenu v krvi (Wagner, 1952 — cit. Gažo a Landau, 1956). Telata nejvýkonnějších dojníc, která by měla být základem genofundu zlepšování užitkovosti stáda, jsou tedy nejvíce ohrožena sníženou odolností.

Nutnost zimního přírůstku vitamínu A dojnícím, kterou jsme kvantifikovali v minulém sdělení (Lebeda aj., 1978), je tedy třeba doplnit ještě požadavkem na odstupňování přírůstku podle dojivosti, popřípadě i podle stadia gravidity. Návrh Surýnka aj. (1976) na zvýšení přírůstku vitamínu A a beta-karotenu nejen kravám vysokobřezím, ale i v období porodu, je třeba rozšířit na celé období vysoké mléčné produkce krav. Aby se tento požadavek mohl splnit, je třeba produkční směsi pro dojnice o vitamín A doplnit.

Z toho důvodu jsme vypočítali potřebné množství vitamínu A pro jednotlivé skupiny zvířat. Výpočet se sice může na první pohled zdát sofistický, je však plně zdůvodněný. Obtížnost přímého experimentálního stanovení potřeby přírůstku vitamínu A je zřejmě příčinou velmi rozdílných kritérií pro určení potřeby tohoto vitamínu u skotu. Podle těchto kritérií kolísá potřeba vitamínu na 1 kg ž. h. u dospělého skotu od 18 do 220 m. j. (tj. v rozsahu 1222 %). Na tento problém upozorňuje také Thompson (1975) a vyplývá i z rozporných údajů přednesených

na poradě o zajištění vitamínových, mikrominerálních a makrominerálních krmných přísad pro skot, zejména vysokoprodukční dojnice (Pohoří-Chotouň, 1974). Pro obtížnost interpretace lze pro potřebu zemědělských závodů těžko používat k určení biologické účinnosti beta-karotenu výsledky získané pokusy s jeho stravitelností. Jako perspektivnější se jeví měření hladin retinolu a karotenu v krevní plazmě, v játrech a v mléce (Thompson, 1975). Pro diagnostiku hypovitaminózy a avitaminózy pak mají větší význam průměrné hodnoty v chovu než hodnoty individuální (Slanina aj., 1971).

Hodnoty přídavek vitamínu A, získané naším výpočtem založeným na statisticky zpracovaných nálezech beta-karotenu plazmy v zimních obdobích, jsou ve velmi dobré shodě s NRC (1966, 1971 — cit. Thompson, 1975), která uvádí pro krávy o hmotnosti 650 kg v laktaci a graviditě potřebu 60 667 m. j. vitamínu A, i s ARC (1965 — cit. Thompson, 1975), která stanoví pro stejně těžké krávy v laktaci přídavek 56 333 m. j. a pro graviditu 65 000 m. j. vitamínu A.

Při současných problémech s nákupem vitamínu A na zahraničním trhu je třeba zamezit jeho plýtvání v koncentrátech i vitamínominerálních směsích v době zeleného krmení a zvýšit kvalitu konzervovaných krmiv, a tím i jejich obsah beta-karotenu.

Literatura

- AFANASJEV, I. — LAUKS, L.: Úroveň karotina i vitamína A syvorotki u korov s različnoj plodovitostju. Trudy latv. selchoz, Akad., Elgava, 68, 1973, s. 41-45.
- ARC-Agricultural Research Council: Nutrient requirements of farm livestock, No. 2 Ruminants. ARC, London 1965 — cit. THOMPSON, 1975.
- BISAZ, S.: Schweizer med. Wschr., 82, 1952, s. 1952.
- BUKOJEVIĆ, J.: Dinamika sadržaja vitamína A i karotina u krovnom serumu krava muzara ovisno o godušujim i laktacijskim periodama. Veterinaria, Sarajevo, 24, 1975, č. 1, s. 103-122.
- ČSN 46 7070. Potřeba živin hospodářských zvířat.
- DVOŘÁK, M.: Výzkum vlivu vitamínu A na snížení ztrát u telat. [Závěrečná zpráva výzk. úkolu č. 4401 b.] Brno, Výzkumný ústav veter. lékařství 1961. 110 s.
- GAŽO, M. — LANDAU, L.: Dynamika vylučovania karoténov a vitamína A mliekom u krav v období zimnej hypovitaminózne výživy a na začiatku zeleného krmenia. Vet. Čas., 5, 1956, č. 4, s. 267-282.
- KALMYKOV, I. E. — PUŠKAREVA, V. I.: A-Avitaminoz novorožděnných teljat. Veterinaria, 1, 1951, s. 43.
- KOLB, E. — GÜRTLER, H.: Ernährungsphysiologie der landwirtschaftlichen Nutztiere. Jena 1971. 957 s.
- LEBEDA, M. — PŘIKRYLOVÁ, J. — KOVÁŘÍK, K.: Možnosti využití sezónní dynamiky beta-karotenu v plazmě dojníc k odhadu potřebného přídávku vitamínu A. Veterinářství, 1978, č. 4, s. 160-162.
- NRC — National Research Council: Nutrient requirements of dairy cattle. Natn. Acad. Sci., Wash., 1966 — cit. THOMPSON, 1975.
- NRC — National Research Council: Nutrient requirements of dairy cattle. Natn. Acad. Sci., Wash., 1971 — cit. THOMPSON, 1975.
- NEWSTEAD, D. F.: Carotene and immunoglobulin concentration in the colostrum and milk of pasture-fed cows. J. Dairy Res., 43, 1976, č. 2, s. 229-237.
- SLANINA, L. — SOKOL, J. — ĐUROVE, V. — LEHOČKÝ, J.: Hodnoty A vitamínu, beta-karotenu a bílkovinného spektra krvního séra. Veterinářství, 1971, č. 6, s. 262-265.
- SMIRNOV, A. M.: Ob ostrých neinfekcionnych zabojevanijach želudki i kišok u teljat. Veterinaria, 1961, č. 2, s. 57-61.
- SMIRNOV, A. M.: Úroveň karotina i askorbinovoj kisloty v krvi teljat v zavisimosti ot vozrasta i sostojanija zdorovja. Veterinaria, 1962, č. 2, s. 47-50.

- STÖCKL, W. — SCHUH, H. — SCHMID, S.: Über das Verhalten von Glukose, Thyroxin, Vitamin A, β -Carotin, Methionin und Vitamin B₁₂ im Blut erstgebärender Rinder während der Puerperalphase. Z. Tierphysiol., Tierernähr. Futtermittelk., 35, 1975, č. 5, s. 281-288.
- SURYNEK, J. — KUČERA, A. — BRANDEJS, P.: Hladina beta-karotenu a vitamínu A v krvi kojených telat a jejich matek. Vet. Med., Praha, 21, 1976, č. 9, s. 557-561.
- THOMPSON, S. Y.: Role of carotene and vitamin A in animal feeding. Wld. Rev. Nutr. Diet., 21, 1975, s. 224-280.
- VENČIKOV, A. I. — VENČIKOV, V. A.: Základní metody statistického zpracování dat ve fyziologii. Praha, AVICENUM, 1967. 160 s.
- VESELÝ, Z.: Testace Vitapolyminu. [Dílčí zpráva.] Brno, Vysoká škola veterinární 1973, 41 s.
- VLČEK, Z. — KUJA, J. — VRBA, Z.: Terapie průjmů sajících telat Spasmamentalem (benzetimidem). Veterinářství, 1978, č. 1, s. 35-36.
- WIESNER, E.: Ernährungsschäden der landwirtschaftlichen Nutztiere, Jena 1967. 696 s.
- ZÁPIS z porady o zajištění vývojových vitamínových, mikrominerálních doplňků a makrominerálních krmných přísad pro skot, zejména vysokoprodukční dojnice. Výzkumný ústav pro biofaktory a veterinární léčiva. Pohoří — Chotouň. Dne 11. 6. 1974.

Došlo dne 15. 9. 1978

ЛЕБЕДА, М. — ПРЖИКРИЛОВА, Я. (Ветеринарный институт, Брно): Бета-каротин кровяной плазмы дойных коров в разные фазы лактации и воспроизводственного цикла. Vet. Med., Praha, 24, 1979 (4) : 225-232.

Обследование 148 восемнадцатичленных совокупностей дойных коров показало, что уровень продукции молока, или фаза воспроизводственного цикла, оказывает достоверное влияние на уровень бета-каротина в кровяной плазме. У коров в первой фазе лактации, т. е. в течение трех месяцев после отела, летом и зимой более низкий процент бета-каротина в кровяной плазме, чем у коров во второй фазе лактации (т. е. на четвертой—шестой месяц после отела, случки, чаще всего стельные). Бета-каротин у коров в высокой стадии стельности, сухостойных, достоверно не отличается от коров в первой и второй фазах лактации. Наивысший уровень бета-каротина в период летнего и зимнего кормления у коров во второй фазе лактации. Различия между летним и зимним уровнем бета-каротина плазмы у всех трех групп коров высокодостоверны. Понижение удойности в зимний период достоверно лишь во второй фазе лактации. При покрытии потребности в витамине А при зимнем кормлении дойных коров необходимо учитывать уровень удойности и стадию беременности. Количество необходимого добавления витамина А было вычислено из величин бета-каротина кровяной плазмы, а именно 48 536—68 121 м. е. для коров в первой фазе лактации (со средней удойностью 17,9 л), 40 964—57 496 м. е. для коров во второй фазе лактации (со средней удойностью 11,8 л) и 49 192—69 044 м. е. для коров в высокой стадии беременности, сухостойных. Потребность добавления витамина А на 1 литр молока в первой фазе лактации была вычислена на 1258—2355 м. е. во второй фазе лактации для коров уже стельных 1282—2688 м. е. У коров в высокой стадии беременности необходим витамин А на уровне продукции 18,3 л молока. Дискуссия посвящена причинам различного уровня бета-каротина плазмы в разных фазах лактации и результатам их понижения в зимний период для выращивания телят.

бета-каротин; кровь; дойные коровы; зима; лето; стадия лактации; удойность; витамин А

LEBEDA, M. — PŘIKRYLOVÁ, J. (University of Veterinary Medicine, Brno): Beta-carotene Levels in Dairy Cow Blood Plasma at Different Stages of Lactation and Reproduction Cycle. Vet. Med., Praha, 24, 1979 (4) : 225-232.

Examination of 148 sets of dairy cows (18 cows in each set) revealed that the level of milk production, or the stage of reproduction cycle, exerted a significant influence on beta-carotene levels in blood plasma. The cows at the first lactation stage, i. e. up to three months after parturition, have a lower beta-carotene level in their blood plasma than those at the second lactation stage (i. e. those in the

fourth to sixth post-partal month, after mating, mostly pregnant). The beta-carotene level of highly pregnant cows, standing dry, shows no significant difference from that of cows at the first and second stage of lactation. The highest beta-carotene levels were found at the second stage of lactation, both in the winter and summer feeding season. The differences in the summer and winter levels of plasma beta-carotene are highly significant in all the three groups of cows. The drop in milk yield in the winter season is significant only at the second stage of lactation. The supply of vitamin A during the winter feeding season should be adjusted according to milk yields and stage of gravidity. The vitamin A supplement levels was calculated from the values of blood plasma beta-carotene and is 48 536 to 68 121 I. U. for cows at the first stage of lactation (with average yield of 17.9 l of milk), 40 964 to 57 496 I. U. for cows at the second stage of lactation (with average milk yield of 11.8 l), and 49 192 to 69 044 I. U. for highly pregnant dry-standing cows. The need for vitamin A per 1 litre of milk at the first lactation stage was calculated to be 1258 to 2355 I. U. and for cows already pregnant at the second lactation stage 1282 to 2688 I. U. Highly pregnant cows need as much vitamin A as if they yielded 18.3 l of milk. Discussion concerns the causes of differences in plasma beta-carotene levels at different stages of lactation and the implications of their drop in winter, as influencing the rearing of calves.

beta-carotene; blood; dairy cows; winter; summer; lactation stage; milk yield; vitamin A

LEBEDA, M. — PŘIKRYLOVÁ, J. (Veterinärmedizinische Hochschule, Brno): *Beta-Karotin des Milchkuhblutplasmas in unterschiedlichen Phasen der Laktation und des Reproduktionszyklus*. Ved. Med., Praha, 24, 1979 (4) : 225-232.

Durch Untersuchung von 148 achtzehnköpfigen Milchgruppen wurde festgestellt, daß sich das Niveau der Milchproduktion, bzw. des Reproduktionszyklus signifikant auf die Beta-Karotinkonzentration im Blutplasma auswirkt. Kühe in der ersten Laktationsphase, d. i. bis zu drei Monaten nach der Geburt haben im Sommer sowohl im Winter niedrigeres Beta-Karotin im Blutplasma als Kühe in der zweiten Laktationsphase (d. i. im vierten bis sechsten Monat nach der Geburt, zugelassen, zumeist trächtig). Beta-Karotin der hochträchtigen, trockenstehenden Kühe unterscheidet sich nicht signifikant von dem der Kühe in der ersten oder zweiten Laktationsphase. Über höchste Beta-Karotinmengen verfügen während der Sommer- sowohl Winterfütterung Kühe in der zweiten Laktationsphase. Unterschiede zwischen den Winter- und Sommerkonzentrationen von Plasma-Beta-Karotin sind bei allen drei Kuhgruppen hoch signifikant. Der Rückgang an Milchleistung im Winterzeitraum ist nur in der zweiten Laktationsphase signifikant. Deckung des Vitamin A-Bedarfes bei der Winterfütterung von Milchkühen sollte das Niveau der Milchleistung sowohl das Graviditätsstadium respektieren. Die Höhe der erforderlichen Vitamin A-Zugabe wurde von den Beta-Karotinwerten des Blutplasmas berechnet, und zwar 48 536 bis 68 121 i. E. für Kühe in der ersten Laktationsphase (mit durchschnittlicher Milchleistung von 17,9 l), 40 964 bis 54 496 i. E. für Kühe in der zweiten Laktationsphase (mit durchschnittlicher Milchleistung von 11,8 l) und 49 192 bis 69 044 i. E. für hochträchtige, trockenstehende Kühe. Der Vitamin A-Bedarf je 1 Liter Milch in der ersten Laktationsphase wurde mit 1258 bis 2355 i. E., in der zweiten Laktationsphase für bereits trächtige Kühe mit 1282 bis 2688 i. E. berechnet. Bei hochträchtigen Kühen liegt der Vitamin A-Bedarf beim Niveau der Produktion von 18,3 l Milch. Die Diskussion befaßt sich mit Ursachen unterschiedlicher Mengen von Plasma-Beta-Karotin in den unterschiedlichen Laktationsphasen und den Folgen ihres Rückgangs in der Winterperiode für Kälberaufzucht.

Beta-Karotin; Blut; Milchkühe; Winter; Sommer; Laktationsstadium; Milchleistung; Vitamin A

Adresa autorů:

Prof. MVDr. Milan Lebeda, CSc., MVDr. Jaroslava Přikrylová, Vysoká škola veterinární, Palackého 1-3, 612 42 Brno

METODA KULTIVACE BACHOROVÉ TEKUTINY *IN VITRO*, VHODNÁ KE SROVNÁNÍ RŮZNÝCH ZDROJŮ NEBÍLKOVINNÉHO DUSÍKU PRO PŘEŽVÝKAVCE

M. Marounek, J. Kopečný, S. Bartoš

MAROUNEK, M. — KOPEČNÝ, J. — BARTOŠ, S. (Ústav fyziologie a genetiky hospodářských zvířat ČSAV, Praha - Uhřetěves): *Metoda kultivace bachorové tekutiny in vitro, vhodná ke srovnání různých zdrojů nebílkovinného dusíku pro přežvýkavce*. Vet. Med., Praha, 24, 1979 (4) : 233-238.

Popisujeme metodu kultivace bachorové tekutiny v prostředí pufru s přísadkou, živin, pod atmosférou CO₂. Metoda slouží ke srovnání a popisu základních vlastností zdrojů nebílkovinného dusíku pro přežvýkavce. Její použitelnost demonstrujeme na příkladu močoviny. Během inkubace zůstávají všechny sledované parametry média v přijatelném rozmezí. Na základě analýz inkubačního média, tj. stanovení pH, amoniaku, močoviny, těkavých mastných kyselin, celkového proteinu a redox-potenciálu, doporučujeme sledovat průběh fermentace po dobu šesti hodin, odběry vzorků v intervalech 0, 1, 2, 4 a 5 hodin.

bachorová fermentace; *in vitro*; nebílkovinný dusík

Nedostatek přirozených bílkovinných krmiv je důvodem pro široké využívání schopnosti přežvýkavců využít nebílkovinný dusík (NPN). Zkoumání různých forem NPN je proto v popředí zájmu řady pracovišť a je předmětem obsáhlých studií. Náročným a nákladným pokusům na velkém počtu zvířat by měly předcházet některé jednodušší testy, kterých je však citelný nedostatek.

V posledních letech byla vypracována řada technik pro kultivaci bachorové tekutiny *in vitro*, zpravidla pro vyřešení některé z dílčích otázek bachorového metabolismu. Všem těmto technikám je společná anaerobióza prostředí a inkubační teplota 39 až 40 °C. Liší se způsobem inkubace, složením pufru, poměrem pufru k bachorové tekutině, okolnostmi odběru bachorové tekutiny a množstvím živin přidávaných do inkubačního média. Inokulem bývá nejen bachorová tekutina, ale i bachorový obsah, bakteriální či protozoální frakce bachorové tekutiny a ve speciálních studiích čisté bakteriální nebo protozoální druhy izolované z bachoru. Podle způsobu inkubace můžeme rozdělit zmíněné techniky na diskontinuální (krátkodobé, v uzavřeném systému) a kontinuální, které bachorové prostředí napodobují přítokem tzv. umělých slin, resorpcí metabolitů pomocí dialýzy a odtokem obsahu fermentoru. Blíže např. v pracích Barr (1974), Chen aj. (1976), Maeng aj. (1976), Ruffener aj. (1963) a Ewart (1974). Pro naše účely, tj. pro srovnání a popis základních vlastností zdrojů NPN, jsme použili diskontinuální techniku, konkrétně sledování dynamiky anaerobní fermentace v řadě inkubačních nádobek v prostředí směsi bachorové tekutiny a pufru s přísadkou zkoumaného substrátu a živin. Po vyzkoušení různých pufrů, způsobů udržení anaerobní atmosféry, poměrů bachorové tekutiny a pufru, navážek substrátů a koncentrací živin jsme dospěli k uspořádání, které považujeme za vyhovující, neboť během inkubace všechny sledované para-

metry media zůstávají v přijatelném rozmezí. Uvádíme popis metody a demonstrujeme její použitelnost na příkladu močoviny.

MATERIÁL A METODA

Zdrojem bachorové tekutiny byly kozy, opatřené permanentní bachorovou píštělí a dlouhodobě adaptované na močovinu. Bachorovou tekutinu jsme odebírali sondou před ranním krmením pomocí vývěvy (Doležel aj., 1969). K inkubacím jsme použili infúzní baňky o objemu 100 ml. Do každé jsme navázili 0,1 g celulózy v podobě vaty, 1 g rozemletých bramborových vloček a 0,15 g močoviny. Při použití jiného zdroje NPN jsme upravili jeho navážku spolu s navážkou vloček tak, aby obsah dusíku a energie ve vlastním pokusu i kontrole byl stejný. Bramborové vločky se jako zdroj dostupných polysacharidů osvědčily lépe než čistý škrob. Navážené substráty se na vatě dokonale rozptýlí a nevytvářejí shluky na dně nádobek. Množství močoviny je vzhledem k objemu pufru a inokula v relaci s poměry *in vivo*.

Pufr jsme připravili podle Maenga aj. (1976), nahradili jsme však sekundární fosforečnan sodný primárním. Tato úprava nám pomohla snížit pH, které po hodinovém syčení kyslíčkem uhlíčitým činí asi 6,8. V pufru jsme rozpouštěli glukózu, abychom zvýšenou produkcí organických kyselin kompenzovali acidobazicky uvolňování amoniaku.

Složení pufru:

- 8,75 g NaHCO_3
- 1,38 g $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2 \text{H}_2\text{O}$
- 1,55 g KH_2PO_4
- 0,15 g $\text{MgSO}_4 \cdot 2 \text{H}_2\text{O}$
- 10,00 g glukózy
- 1,0 ml roztoku minerálií

doplnit na 1 litr destilovanou vodou.

Složení roztoku minerálií:

- 0,80 g $\text{Fe}_2(\text{SO}_4)_3 \cdot 9 \text{H}_2\text{O}$
- 0,40 g $\text{MnSO}_4 \cdot 4 \text{H}_2\text{O}$
- 0,40 g $\text{ZnSO}_4 \cdot 7 \text{H}_2\text{O}$
- 0,20 g $\text{CuSO}_4 \cdot 5 \text{H}_2\text{O}$
- 0,18 g $\text{CoCl}_2 \cdot 6 \text{H}_2\text{O}$

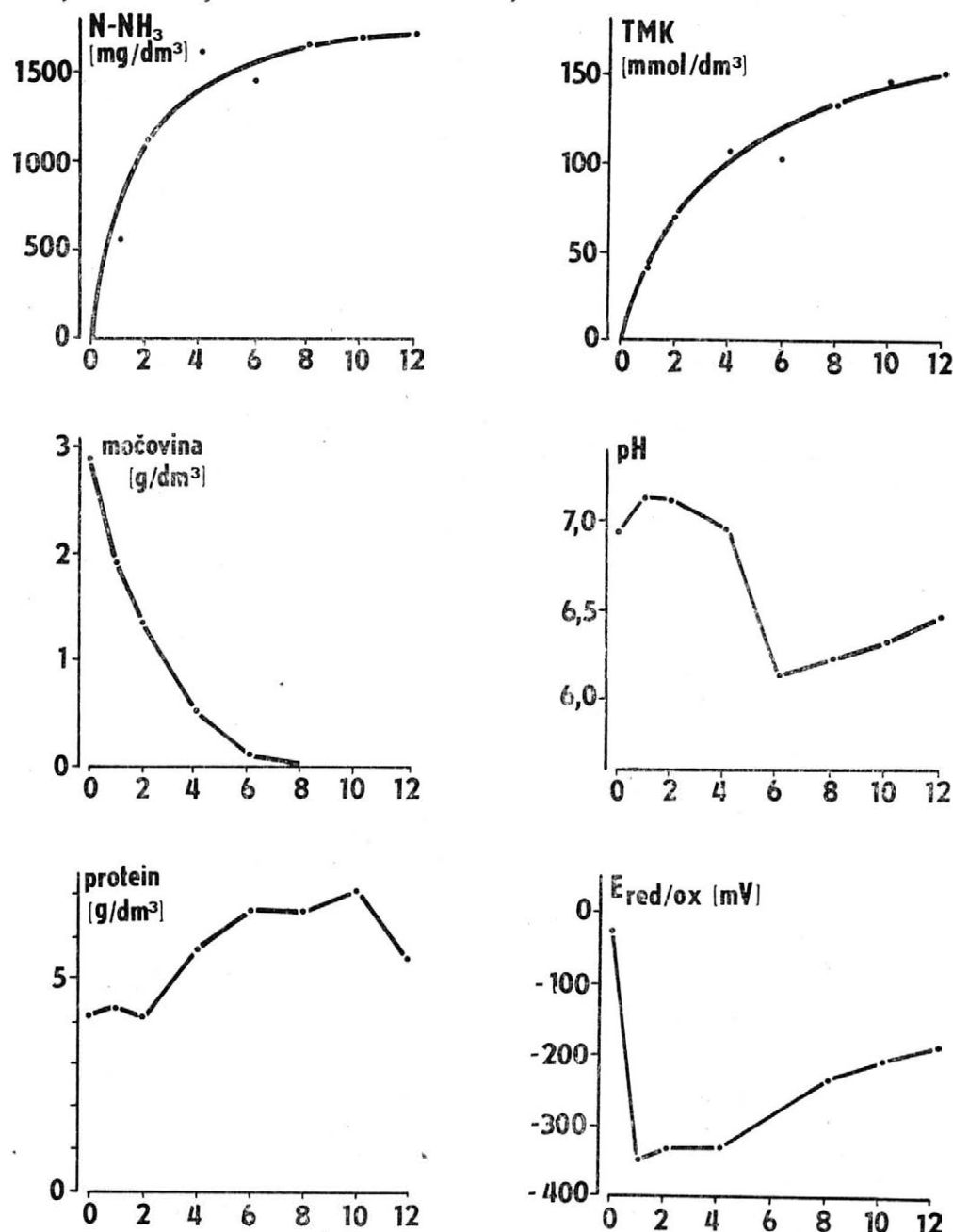
doplnit na 100 ml destilovanou vodou.

Pufr jsme připravovali vždy čerstvý, roztok minerálií do zásoby. Připravený pufr jsme sytili hodinu kyslíčkem uhlíčitým. Do inkubačních baněk jsme odměřili 30 ml pufru a umístili na vodní lázeň RT 60 s rotačním pohybem o teplotě 40 °C. Po zahřátí jsme přidali 0,1 ml suspenze s obsahem 10 mg amorfního sírníku železnatého, odměrkou 15 ml bachorové tekutiny, uzavřeli gumovými zátkami s Bunsenovými ventilkami a zavedli jehlu s přívodem kyslíčnicku uhlíčitého na 15 až 20 minut. Doba mezi odběrem bachorové tekutiny a inokulací musí být co nejmenší. Přídavek sírníku železnatého odstraňuje z media zbytky kyslíku a snižuje počáteční redox-potenciál o 100 až 150 mV (Brock a O'Dea, 1977).

Ve zvolených časových intervalech jsme v příslušné části inkubačních baněk změřili pH, redox-potenciál, zkontrolovali vitalitu protozoí, stanovili amoniak, močovinu, celkový protein a těkavé mastné kyseliny. Redox-potenciál a pH jsme zjistili potenciometricky, pH skleněnou a redox-potenciál platinovou elektrodou. Vitalitu prvoků jsme kontrolovali mikroskopicky. Ke stanovení amoniaku jsme použili upravenou metodu Nesslerovu (Hillebrand aj., 1958). Močovinu jsme stanovili metodou s diacetylmonoximem pomocí Bio-Lachema-testu. Dusík zjištěný po kjehldalizi jsme násobili faktorem 6,25 a získali tak hodnotu celkového proteinu. K srážení bílkovin jsme použili kyselinu trichlóroctovou (Barr, 1974). Těkavé mastné kyseliny jsme stanovili titračně po destilaci vodní párou (Friedemann a Brook, 1938) ze vzorků konzervovaných po odběru chloridem rtuťnatým.

VÝSLEDKY A DISKUSE

Výsledky našich experimentů jsou vyjádřeny graficky na obr. 1, který znázorňuje dvanáctihodinovou dynamiku fermentace.



1. Dvanáctihodinová dynamika fermentace *in vitro*. Průběh hladiny amoniaku, močoviny, proteinu, těkavých mastných kyselin, pH a redox-potenciálu – 12-hour dynamics of fermentation *in vitro*. The course of the levels of ammonia, urea, protein, volatile fatty acids, pH, and redox potential

Koncentrace amoniaku během prvních hodin inkubace rychle roste a dostává se na horní hranici obvykle pozorovanou v bachoru zvířat krmených močovinou. V dalších hodinách je tento vzrůst zpomalen, neboť většina přidané močoviny se již rozložila. Křivka představuje čistotu produkci amoniaku během pokusu. Koncentraci nalezenou v čase 0 jsme od všech nálezů odečetli. Množství amoniaku se kumuluje, neboť v podmínkách *in vitro* nedochází k jeho resorpci. Totéž platí i pro křivku těkavých mastných kyselin (TMK). Z hodnot, které koncentrace TMK nabývá, můžeme usuzovat na dobrý průběh fermentačních procesů.

Po šesti hodinách inkubace jsme v mediu našli pouze 4,2 % původní koncentrace močoviny. V dalších hodinách je rozložen i tento zbytek.

Průběh pH je stejný, jaký nacházíme v bachoru. Hodnota pH nemá překračovat 7,5, aby nevznikly ztráty těkavého amoniaku.

Hladina proteinu se během prvních dvou hodin nemění, pak několik hodin roste a v poslední fázi inkubace klesá. Rychlost proteosyntézy je největší mezi druhou a šestou hodinou. Počáteční prodlevu způsobuje pravděpodobně nutnost adaptace mikroorganismů na nové prostředí. Z výsledků, které uvádějí Maeng a Baldwin (1976) vyplývá, že přidání aminokyselin do inkubačního media této prodlevě zamezí. Přídavek aminokyselin však není v souladu s koncepcí naší metody (utilizace NPN).

Životní činnost mikroorganismů je v těsné souvislosti s oxidačně-redukčním potenciálem prostředí. Bachorové prostředí je anaerobní s výrazně redukčními vlastnostmi. Jeho redox-potenciál je asi -400 mV (Barnett a Reid, 1961). Striktně anaerobní mikroorganismy, jakými jsou metanotvorné bakterie, nemohou růst při redoxním potenciálu větším než -330 mV (Smith a Hungate, 1958). Optimální redox-potenciál bachorových prvků leží pod -260 až -200 mV (Quinn aj., 1962). Z připojené křivky průběhu redox-potenciálu je zřejmé, že jeho hodnota v první části inkubace vyhovuje i nejpřísnějším hlediskům.

Vitalitu protozoí jsme kontrolovali od šesti hodiny. Zpočátku jsme nezjistili rozdíly proti bachorové tekutině čerstvě odebrané ze zvířete. V osmé až desáté hodině jsme pozorovali sníženou pohyblivost a částečný úhyn prvků z podtřídy Spirotrich. Ve 12. hodině jsme zjistili značný úhyn Spirotrich. Holotricha byla dosud plně vitální. Naše pozorování souvisí zřejmě se vzrůstem redox-potenciálu a se skutečností, že bachorová Holotricha snášejí lépe stopy kyslíku než Spirotricha (Quinn aj., 1962; Koch-Grub, 1964). Koch-Grub dokonce považuje Holotricha za mikroaerofilní.

Naše výsledky můžeme shrnout do konstatování, že předložená metoda *in vitro* je vhodná pro srovnání a popis základních vlastností zdrojů NPN, přicházejících v úvahu pro výživu přežvýkavců. Průběh fermentace lze výhodně zjistit analýzami v časových intervalech 0, 1, 2, 4 a 6 hodin. Během této doby se rozloží většina zkoumaného zdroje dusíku, parametry fermentace nabývají předpokládaných hodnot a můžeme pozorovat úplnou vitalitu protozoí, což je určitý jednoduchý ukazatel toho, že postup je správný. Také syntéza nových bílkovin probíhá v dostatečné míře. Další prodlužování inkubace již není účelné. Koncentrace metabolitů překračují fyziologicky únosná rozmezí, většina dusíkatého substrátu je již rozložena, protozoa začínají hynout a vzrůst redox-potenciálu

vytváří podmínky pro rozvoj fakultativních anaerobů na úkor typické bachorové mikroflóry.

Popsanou metodu jsme použili pro srovnání více zdrojů NPN. Srovnávali jsme obdukované a extrudované močoviny, klathrát močoviny a vyšších mastných kyselin, ztuženou melasu a ureafosfát. Tyto zdroje NPN jsme srovnali jak mezi sebou, tak i s krystalickou neupravenou močovinou, která ve všech případech tvořila základ srovnání (Marounek aj., 1977).

Literatura

- BARR, G.: *In vitro* rumen fermentation techniques for studying urea utilization in the bovine rumen. Kansas State University, Ph. D., 1974.
- BARNETT, A. J. G. — REID, R. L.: Reaction in the rumen. Edward Arnold Ltd., London, 1961, s. 13.
- BROCK, T. D. — O'DEA, K.: Amphorous ferrous sulphide as a reducing agent for culture of anaerobes. *Appl. Environ. Microb.*, 33, 1977, s. 254-256.
- DOLEŽAL, F. — BARTOŠ, S. — JUKL, A.: Zařízení pro odběr a filtraci bachorové tekutiny za anaerobních podmínek. *Vet. Med.*, Praha, 14, 1969, č. 9, s. 545-548.
- EWART, J. M.: Continuous *in vitro* rumen system. *Proc. Nutr. Soc.*, 33, 1974, s. 125-133.
- FRIEDMANN, T. E. — BROOK, T.: The identification and determination of volatile alcohols and acids. *J. biol. Chem.*, 123, 1938, s. 161-184.
- HILLEBRAND, W. F. — LUNDELL, G. E. F. — BRIGHT, H. A. — HOFFMAN, J. J.: Vybrané metody anorganické analýsy. Stát. nakl. techn. lit., Praha 1958, s. 684-685.
- CHEN, C. M. — BEESON, W. M. — PERRY, T. W.: *In vitro* studies on the effect of screening processed corn distillers solubles and centrifuge processed corn distillers solubles on cellulose digestion and microbial synthesis. *J. Anim. Sci.*, 43, 1976, s. 1280-1285.
- KOCH-GRUB, G.: Mikroorganismen des Pansen. *Z. Tierphysiol., Tiererähr. Futtermittelk.*, 19, 1964, č. 1-2, s. 24-43.
- MAENG, W. J. — BALDWIN, R. L.: Factors influencing rumen microbial growth rates and yields: Effect of urea and amino acids over time. *J. Dairy Sci.*, 59, 1976, č. 4, s. 643-647.
- MAENG, W. J. — NEVEL, C. J. VAN — BALDWIN, R. L. — MORRIS, J. G.: Rumen microbial growth rates and yields: Effect of amino acids and protein. *J. Dairy Sci.*, 59, 1976, č. 1, s. 68-79.
- MAROUNEK, M. — KOPEČNÝ, J. — BARTOŠ, S.: Srovnání různých produktů s močovinou při šestihodinové inkubaci *in vitro* s bachorovou tekutinou. Předneseno na 9. dnech fyziologie hospodářských zvířat v Liblicích 7. 12. 1977.
- QUINN, L. Y. — BURROUGHS, W. — CHRISTIANSEN, W. C.: Continuous culture of ruminal microorganisms in chemically defined medium. II. Culture medium studies. *Appl. Microbiol.*, 10, 1962, č. 6, s. 583-592.
- RUFENER, W. H. — NELSON, W. O. — WOLIN, M. J.: Maintenance of the rumen microbial population in continuous culture. *Appl. Microbiol.*, 11, 1963, s. 196-201.
- SMITH, P. H. — HUNGATE, R. E.: *J. Bact.*, 75, 1958, s. 713-718. In: NORRIS, J. R. — RIBBONS, D. W.: *Methods in microbiology*. Academic Press, London, New York 1969, s. 118.

Došlo dne 28. 4. 1978

МАРОУНЕК, М. — КОПЕЧНЫ, Я. — БАРТОШ, С. (Институт физиологии и генетики сельскохозяйственных животных ЧСАН, Прага - Угржинец): Метод культивации рубцовой жидкости *in vitro* для сравнения разных источников небелкового азота. *Vet. Med.*, Praha, 24, 1979 (4) : 233-238.

Мы описываем метод культивации рубцовой жидкости в буферной среде с добавкой питательных веществ под атмосферой CO₂. Метод служит для сравнения и описания основных свойств источников небелкового азота для жвачных. Его применимость мы демонстрируем

на примере мочевины. В ходе инкубации все изучаемые параметры среды остаются в приемлемом диапазоне. На основе анализов инкубационной среды, т.е. определения pH, аммиака, мочевины, летучих жирных кислот, общего протеина и окислительно-восстановительного потенциала, мы рекомендуем изучать кривую ферментации на протяжении шести часов, взятие образцов в интервалах 0, 1, 2, 4 и 6 часов.

рубцовая ферментация; *in vitro*; небелковый азот

MAROUNEK, M. — KOPEČNÝ, J. — BARTOŠ, S. (Institute of Animal Physiology and Genetics of the Czechoslovak Academy of Sciences, Praha - Uhřetěves): *Method of Cultivating the Rumen Fluid in vitro to Compare Different NPN Sources for Ruminants*. Vet. Med., Praha, 24, 1979 (4) : 233-238.

The method of cultivating rumen fluid in buffer with nutrient admixture under CO₂ atmosphere is described. The method serves for the comparison and description of the properties of NPN sources for ruminants. Its applicability is demonstrated on the example of urea. During incubation, all parameters of the medium remain within an admissible range. Considering the analyses of the incubation medium, i. e. determination of the pH value, ammonia, urea, volatile fatty acids, total protein, and redox potential, it is recommended to monitor the course of fermentation for six hours and to take samples in the intervals of 0, 1, 2, 4 and 6 hours.

ruminal fermentation; *in vitro*; non-protein nitrogen

MAROUNEK, M. — KOPEČNÝ, J. — BARTOŠ, S. (Institut für Physiologie und Genetik landwirtschaftlicher Nutztiere der Tschechoslowakischen Akademie der Wissenschaften, Praha - Uhřetěves): *Methode der Pansenflüssigkeitskultivierung in vitro zum Vergleich verschiedener NPN-Ressourcen für Wiederkäuer*. Vet. Med., Praha, 24, 1979 (4) : 233-238.

Es wird die Methode für Pansenflüssigkeitskultivierung in der Umwelt des Puffers mit Nährstoffzugabe unter CO₂-Atmosphäre beschrieben. Die Methode dient zum Vergleich und zur Beschreibung der Grundeigenschaften bei Ressourcen von Nichtproteinstickstoff für Wiederkäuer. Ihre Anwendbarkeit wird an dem Beispiel des Harnstoffs demonstriert. Während Inkubation bleiben alle untersuchten Parameter des Mediums im annehmbaren Bereich. Aufgrund der Analysen des Inkubationsmediums, d. i. der Bestimmung von pH-Wert, Ammoniak, Harnstoff, flüchtigen Fettsäuren, Gesamtprotein und Redox-Potential wird es empfohlen, den Fermentationsverlauf für die Dauer von sechs Stunden zu verfolgen und Proben in Intervallen von 0, 1, 2, 4 und 6 Stunden zu entnehmen.

Pansenfermentation; *in vitro*; Nichtproteinstickstoff

Adresa autorů:

Ing. Milan Marounek, ing. Jan Kopečný, ing. Stanislav Bartoš, DrSc., Ústav fyziologie a genetiky hospodářských zvířat ČSAV, 251 61 Praha - Uhřetěves

VLIV BILATERÁLNÍ VAZEKTOMIE NA HLADINY TESTOSTERONU V SEMENNÉ A KREVNÍ PLAZMĚ KANCŮ

S. Navrátil, P. Forejtek

NAVRÁTIL, S. — FOREJTEK, P.: (Výzkumný ústav veterinárního lékařství, Brno): *Vliv bilaterální vazektomie na hladiny testosteronu v semenné a krevní plazmě kanců*. Vet. Med., Praha, 24, 1979 (4) : 239-243.

U dvou pohlavně dospělých kanců, které jsme podrobili bilaterální vazektomii, jsme sledovali hladiny testosteronu v semenné a krevní plazmě před operací a v průběhu 26 dní po operaci. U třetího kance byla uskutečněna pouze operace bez vlastní vazektomie jako kontrola, aby se vyloučil případný vliv narkózy a chirurgického stressu. Bilaterální vazektomie způsobila průměrný pokles výchozích hladin testosteronu v semenné plazmě u prvního, resp. druhého zvířete o 63,24 %, resp. 47,67 % a o 47,17 %, resp. 56,46 % v krevní plazmě. U kontrolního kance nebyl obdobný pooperační pokles koncentrace testosteronu v semenné plazmě zaznamenán a hladina testosteronu v krevní plazmě se snížila za sledované období v průměru pouze o 14,38 %. Z výsledků se vyvozuje, že u kanců má bilaterální vazektomie během sledovaného prvního měsíce po zákroku za následek pokles seminálního a plazmatického testosteronu, svědčící pro ovlivnění testikulární inkrece studovaným zákrokem.

radioimunoanalýza testosteronu; obliterační azoospermie; testikulární inkrece

Vazektomie se používá stále častěji v různých částech světa jako metoda mužské antikoncepce při regulaci populační exploze. Protože tato operace může mít četné důsledky v endokrinní oblasti, byla studována mnoha autory u mužů [Wieland aj., 1972; Adamopoulos aj., 1973; Smith aj., 1975; Thakur aj., 1975; Johnsonbaugh aj., 1975; Purvis aj., 1976], resp. i u krys [Sackler aj., 1973] a psů [Kothari a Mishra, 1972]. Ve většině případů byly stanovovány hladiny hormonů v krvi, pouze práce Adamopoulou aj. (1973) se zabývá stanovením koncentrace testosteronu i v ejakulátu.

Jelikož obdobná tematika nebyla u kanců dosud sledována a poněvadž se v praxi setkáváme s případy oligo- až azoospermie, spojenými s poruchami *libida sexualis* či *potentiae generandi*, rozhodli jsme se uskutečnit orientační studii vlivu vazektomie — jako modelového případu obliterační azoospermie — na hladiny plazmatického a seminálního testosteronu u uvedeného živočišného druhu.

MATERIÁL A METODY

K pokusu byli použiti tři pohlavně dospělí plemenní kanci (zvířata č. 1-3), plemene bílé ušlechtilé, ve věku dva a půl roku a o hmotnosti 285, 255, resp. 310 kg.

Kanci byli před zařazením do pokusu používáni s průměrnými výsledky v provozu inseminační stanice a jejich klinickým vyšetřením před zahájením experimentu nebyly shledány změny na pohlavním ústrojí.

U kance č. 1 a 2 byla v preskrotální oblasti provedena bilaterální vazektomie v thiopentalové narkóze a lokálním znecitlivění. Po izolaci *ductus deferens* byla uskutečněna dvojí ligatura ve vzdálenosti cca 2 cm a úsek mezi oběma ligaturami byl přerušen. Kanec č. 3 byl podroben obdobnému zákroku, ale bez podvázání a přerušení chámovodů.

Vzorky krve ke stanovení hladin plazmatického testosteronu byly odebírány mezi 8.00 až 9.00 hodinou ranní punkcí v. *cava cranialis*. Ejakuláty ke zjištění koncentrace seminálního testosteronu byly získávány vždy téhož dne mezi 10.00 až 11.00 hodinou na fantomu manuální metodou. U všech zvířat se dělaly tři, resp. dva odběry krve a semene před chirurgickým zákrokem a sedm, resp. šest odběrů po operaci. Vzorky materiálu byly získávány v tří- až sedmidenních intervalech, přičemž poslední odběr krve a semene byl uskutečněn 26. den po chirurgickém zákroku.

Testosteron v seminální a krevní plazmě byl stanoven radioimunoanalýzou za použití komerční soupravy firmy Cea-Ire-Sorin. Aktivita se měřila na kapalinovém scintilačním spektrometru Mark I a výsledky byly vyhodnoceny počítačem Hewlett-Packard.

VÝSLEDKY

Bilaterální vazektomie měla za následek zřetelný pokles koncentrace testosteronu v semenné plazmě u obou vazektomovaných zvířat (kanci č. 1 a 2). V průběhu sledovaného 26denního období po vazektomii poklesly průměrné hladiny seminálního testosteronu o 63,24 % u kance č. 1, resp. o 47,67 % u kance č. 2. U kance č. 3, ovlivněného pouze operačním zákrokem bez vlastní vazektomie, nebyl podobný pokles seminálního testosteronu pozorován (tab. I).

I. Vliv bilaterální vazektomie na hladiny testosteronu (T) v semenné plazmě — The effect of bilateral vasectomy on the content of testosterone (T) in the semen plasma

Pokusné zvíře	Před zákrokem		Po zákroku		Změna předoperačních hladin T v %
	počet vyšetření	$\bar{x}$ ngT na 100 ml semenné plazmy	počet vyšetření	$\bar{x}$ ngT na 100 ml semenné plazmy	
Kanec č. 1 (vazektomie)	3	354,67	6	130,39	−63,24
Kanec č. 2 (vazektomie)	2	233,34	7	122,10	−47,67
Kanec č. 3 (bez vazektomie)	3	209,92	7	341,64	+38,56

Pooperační hladiny testosteronu v krevní plazmě obou vazektomovaných zvířat vykazovaly rovněž zřetelný pokles proti hladinám předoperačním. Tento rozdíl činil 47,17 % u kance č. 1, resp. 56,46 % u kance č. 2. Naproti tomu u kontrolního zvířete (kanec č. 3) byl zjištěn pouze mírný pokles koncentrace plazmatického testosteronu (14,38 %) proti předoperačním hladinám (tab. II).

II. Vliv bilaterální vazektomie na hladiny testosteronu (T) v krevní plazmě — The effect of bilateral vasectomy on the content of testosterone in the blood plasma

Pokusné zvíře	Před zákrokem		Po zákroku		Změna předoperačních hladin T v %
	počet vyšetření	$\bar{x}$ ngT na 100 ml krevní plazmy	počet vyšetření	$\bar{x}$ ngT na 100 ml krevní plazmy	
Kanec č. 1 (vazektomie)	3	1410,20	7	744,97	-47,17
Kanec č. 2 (vazektomie)	3	827,14	7	360,12	-56,46
Kanec č. 3 (bez vazektomie)	3	1033,92	7	885,26	-14,38

DISKUSE

V této studii jsme se zabývali vlivem bilaterální vazektomie na hladiny seminálního a krevního testosteronu u kanců. Dosažené výsledky ukázaly, že koncentrace testosteronu v semenné i krevní plazmě vazektomovaných zvířat vykázala v průběhu sledovaného 26denního období od chirurgického zákroku zřetelný pokles.

Snížení koncentrace testosteronu v semenné plazmě po bilaterální vazektomii u kanců je v souladu s výsledky zjištěnými Adamopoulos aj. (1973) u vazektomovaných mužů. Obdobně i zjištění poklesu hladiny testosteronu v krvi kanců po vazektomii souhlasí s výsledky uváděnými Purvisem aj. (1976) u mužů. Sackler aj. (1973) našli u vazektomovaných krys pokles exkrece 17-ketosteroidů v moči. Naproti tomu Wieland aj. (1972), Adamopoulos aj. (1973) a Johnsonbaugh aj. (1975) nezjistili u vazektomovaných mužů pooperační změny koncentrace testosteronu. Smith aj. (1975) uvádějí dokonce signifikantní zvýšení hladin testosteronu v krvi mužů za 3 až 24 měsíce po vazektomii.

Pokles hormonální hladiny v semenné plazmě, doprovázený snížením koncentrace testosteronu v krevní plazmě kanců po vazektomii, dobře odpovídá dřívějšímu zjištění paralelních změn hladin seminálního a krevního testosteronu po aplikaci HCG, jak jsme mohli zjistit v naší předchozí studii (Navrátil aj., 1975).

Závěrem diskuse lze z výsledků naší práce vyvodit, že bilaterální vazektomie u kanců má v prvním měsíci po operačním zákroku za následek pokles hladin seminálního a plazmatického testosteronu, nasvědčující tomu, že studovaným zásahem byla ovlivněna testikulární inkrece.

Autoři děkují J. Paarové za technickou spolupráci.

Literatura

ADAMOPOULOS, D. A. — LAWRENCE, D. M. — SWYER, G. I. M.: Testosterone concentration in the semen of normospermic, oligospermic, azoospermic and vasectomized subjects. Acta endocr., Copenh., suppl. 177, 1973, s. 59.

JOHNSONBAUGH, E. R. — O'CONNELL, K. — ENGEL, S. B. — EDSON, M. — SODE, J.: Plasma testosterone, luteinizing hormone, and follicle-stimulating hormone after vasectomy. *Fert. Steril.*, 26, 1975, s. 329-330.

KOTHARI, L. K. — MISHRA, P.: Vasectomy and the endocrine function of the testis. *Lancet*, 1, 1972, s. 438.

NAVRÁTIL, S. — HRUŠKA, K. — SCHLEGLOVÁ, J. — FRÁNEK, M. — MATOUŠKOVÁ, O.: Výzkum funkční testace testikulární inkrece k hodnocení androgenní aktivity u kanců. [Výzkumná zpráva.] Brno, Výzkumný ústav veterinárního lékařství 1975. 56 s.

PURVIS, K. — SAKSENA, S. K. — CEKAN, Z. — DICZFALUSY, E. — GINER, J.: Endocrine effects of vasectomy. *Clin. Endocr.*, 5, 1976, s. 263-272.

SACKLER, A. M. — WELTMAN, A. S. — PANDHI, V. — SCHWARTZ, R.: Gonadal effects of vasectomy and vasoligation. *Science*, 179, 1973, s. 293-295.

SMITH, K. D. — TCHOLAKIAN, R. K. — CHOWDHURY, M. — STEINBERGER, E.: An investigation of plasma hormone levels before and after vasectomy. *Fert. Steril.*, 26, 1975, s. 208.

THAKUR, A. N. — SHETH, A. R. — RAO, S. S.: Effects of vasectomy on the prostatic function as indicated by seminal maltase activity. *Contraception*, 11, 1975, s. 155-159.

WIELAND, R. G. — HALLBERG, M. C. — ZORN, E. M. — KLEIN, D. E. — LURIA, S. S.: Pituitary-gonadal function before and after vasectomy. *Fert. Steril.*, 23, 1972, s. 779-781.

Došlo dne 5. 10. 1973

НАВРАТИЛ, С. — ФОРЕЙТЕК, П. (Научно-исследовательский институт ветеринарии, Брно): Влияние билатеральной вазектомии на уровни тестостерона в семенной и кровяной плазмах хряков. *Vet. Med.*, Praha, 24, 1979 (4) : 239-243.

У двух половозрелых хряков, подвергнутых билатеральной вазектомии, нами изучались уровни тестостерона в семенной и кровяной плазмах до операции и в течение 26 дней после операции. У третьего хряка проводилась только операция без вазектомии — брался в качестве контроля — с целью исключения случайного влияния наркоза и хирургического стресса. Билатеральная вазектомия вызвала среднее понижение исходных уровней тестостерона в семенной плазме у первого, т. е. второго животного на 63,24 %, или же 47,67 % и на 47,17 %, или же 56,46 % в кровяной плазме. У контрольного хряка не было отмечено аналогичного послеоперационного понижения концентрации тестостерона в семенной плазме и уровень тестостерона в кровяной плазме понизился в среднем за изучаемый период только на 14,38 %. Из результатов выходит, что у хряков билатеральная вазектомия во время изучаемого первого месяца после вмешательства вызывает понижение семенного и плазматического тестостерона, свидетельствующее о действии вмешательства в тестикулярную инкрецию.

радиоиммуноанализ тестостерона; облитерирующая азооспермия; тестикулярная инкреция

NAVRÁTIL, S. — FOREJTEK, P. (Veterinary Research Institute, Brno): *The Effect of Bilateral Vasectomy on Testosterone Levels in the Blood and Semen Plasma of Boars*. *Vet. Med.*, Praha, 24, 1979 (4) : 239-243.

In two sexually mature boars subjected to bilateral vasectomy the content of testosterone was followed in the semen and blood plasma prior to the operation and in the course of 26 days after the operation. In the third boar only the operation without actual vasectomy as the control was made to eliminate the possible effect of narcosis and of the surgical stress. Bilateral vasectomy induced an average decrease in the initial levels of testosterone in the semen plasma of the first and second animal by 63.24 % and 47.67 % respectively, and 47.17 % and 56.46 % respectively in the blood plasma. In the control boar no analogous post-operation drop of testosterone concentration in the semen plasma was observed, the content of testosterone in the blood plasma decreased over the followed period on an average only by 14.38 %. The results imply that bilateral vasectomy in boars results, in the first followed

month after the surgical procedure, in a decrease of semen and plasma testosterone, which proves that the operation under investigation affects testicular incretion. radioimmunoanalysis of testosterone; obliterative azoospermy; testicular incretion

NAVRÁTIL, S. — FOREJTEK, P. (Forschungsinstitut für Veterinärmedizin, Brno): *Einfluß bilateraler Vasektomie auf Testosteronkonzentrationen im Samen- und Blutplasma der Eber.* Vet. Med., Praha, 24, 1979 (4) : 239-243.

Bei zwei geschlechtlich reifen Ebern, bei denen bilaterale Vasektomie durchgeführt wurde, wurden vor der Operation und während 26 Tagen nach der Operation Testosteronkonzentrationen im Samen- und Blutplasma untersucht. Bei dem dritten Eber wurde nur Operation ohne eigentlicher Vasektomie als Kontrolle durchgeführt, um den möglichen Einfluß der Narkose und des chirurgischen Stresses auszuschließen. Bilaterale Vasektomie verursachte einen durchschnittlichen Rückgang der Anfangstestosteronkonzentrationen im Samenplasma bei dem ersten, bzw. zweiten Tier um 63,24 %, bzw. 47,67 % und um 47,17 %, bzw. 56,46 % im Blutplasma. Bei dem Kontrolleber wurde kein ähnlicher Nachoperationsrückgang der Testosteronkonzentration im Samenplasma festgestellt und der Testosterongehalt im Blutplasma ging während des untersuchten Zeitraums im Durchschnitt nur um 14,38 % zurück. Den Ergebnissen wird gefolgert, daß bei Ebern bilaterale Vasektomie während des untersuchten ersten Monats nach der Operation einen Rückgang des seminalen und plasmatischen Testosterons zur Folge hat, was über die Bewirkung der testikulären Inkretion durch den studierten Eingriff zeugt.

Testosteronradioimmunoanalyse; Obliterationsazoospermie; testikuläre Inkretion

Adresa autorů:

MVDr. Stanislav Navrátil, CSc., MVDr. Pavel Forejtek, Výzkumný ústav veterinárního lékařství, Hudcova 70, 621 32 Brno

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

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

WAIZENHOEFER, H. E 32.333/911
Das Verhalten von pH akt., PO₂ und PCO₂ im venösen, kapillären und arteriellen Blut sowie von Laktat und Pyruvat im Veneblut neugeborener Kälber. Inaug.-Diss. d. Freien Universität Berlin.

Berlin, Klinik f. Klauentierkrankheiten 1977. 52 s., 9 obr., 6 tab.; res. angl. (Telata novorozená — krev — pH, PO₂, PCO₂ — hladiny — stanovení — výzkum — NSR / Telata novorozená — krev žilní — laktát — hladina — stanovení — výzkum / Telata novorozená — krev žilní — pyruvát — hladina — stanovení — výzkum — NSR — disertační práce)

SAMBRAUS, H. H. D 68.261
Nutztierethologie. Das Verhalten landwirtschaftlicher Nutztiere. Eine angewandte Verhaltenskunde für die Praxis.
Berlin, Verlag Paul Parey 1978. 89 obr., 9 tab., 315 s. (Chování zvířat — hospodářská zvířata — příručka)

LABS, I. E 37.899/310
Untersuchungen zur Morphologie der kongenitalen Mikrophthalmie beim Schaf mit Beiträgen zur Ätiopathogenese. Dissertation d. Justus Liebig-Universität Giessen.

Giessen, J. Liebig-Universität. 1977. 178 s., 45 obr., 21 tab. (Mikroftalmie kongenitální — ovce — morfologický výzkum — NSR — disertační práce)

LACEFIELD, G. — MIKSCH, D. — ABSHER, C. C 21.944/57
Forage-related cattle disorders.
Lexington (Kentucky), College of agric. 1977. Nestr. ASC-57. (Skot — nemoci nenakažlivé — pastva — vliv / Skot — nemoci — látková výměna)

HEITMANN, J. W. E 38.066/158
Untersuchung über die Immunantwort von Kaninchen auf verschiedene Acholeplasmenantigene. Inaug.-Diss. d. Tierärztl. Hochschule Hannover. Hannover, Inst. f. Mikrobiologie und Tierseuchen 1976. 43 s., 6 tab.; res. angl. (Acholeplazmata — antigeny — králík — imunologické reakce — výzkum — NSR — disertační práce)

VLIV POŘADÍ BŘEZOSTI NA NĚKTERÉ BIOCHEMICKÉ A HEMATOLOGICKÉ HODNOTY U PRASNIC

L. Zeman, J. Bouška, P. Mičan, B. Navrátil

ZEMAN, L. — BOUŠKA, J. — MIČAN, P. — NAVRÁTIL, B. (Výzkumný ústav výživy zvířat, Pohořelice; Stanice veterinární péče, Hustopeče): *Vliv pořadí březosti na některé biochemické a hematologické hodnoty u prasnic*. Vet. Med., Praha, 24, 1979 (4) : 245-255.

Za standardních podmínek výživy jsme stanovili v krvi 34 březích prasnic plemene bílé ušlechtilé hemoglobin, hematokrit, leukocyty a v krevním séru celkové bílkoviny, glukózu, močovinu, bilirubin, cholesterol, aktivitu enzymů (AF, GOT, GPT, GGTP) a koncentraci minerálních prvků (Ca, P-anorg., Mg, Na, K, Fe, Cu, Zn, Mn). Krev jsme odebírali v první a třetí březosti při průměrné živé hmotnosti 165,12 a 197,36 kg v průměrném věku 318 a 630 dnů a při přibližně stejné průměrné délce březosti v době obou odběrů krve (59 dnů). U mladších, ještě rostoucích prasniček (první březost), byl zjištěn významně ($P < 0,05$) nižší obsah celkových bílkovin, hořčíku, železa a mědi než u dospělých prasnic. Obsah glukózy, vápníku, draslíku a manganu v krevním séru prasniček — prvniček byl významně ($P < 0,05$) vyšší než u zvířat ve třetí březosti. U dospělých prasnic se významně ($P < 0,05$) snížila aktivita alkalické fosfatázy a gama-glutamyl transpeptidázy ve srovnání s mladšími prasnicemi.

prasnice; první a třetí březost; metabolický test; koncentrace minerálií; aktivita enzymů

Ve specializovaných podnicích pro chov prasat se vyskytují často problémy ve výživě, zejména u prasnic v reprodukci. Proto se vypracovávají metody a kritéria metabolických standardů, na jejichž základě lze určit alimentární poruchy u zvířat a závčas zavést prevenci k jejich odstranění. Otázkou stanovení hematologických a metabolických standardů u prasat v ČSSR se zabývali hlavně Sova aj. (1971) a Slanina aj. (1975). Dosud byly stanoveny hodnoty u vykrmovaných prasat o hmotnosti 45, 60 a 90 až 100 kg a u plemenných prasniček do prvního měsíce březosti o hmotnosti asi 110 až 130 kg (Sova aj., 1971). Slanina aj. (1975) shrnuli dosavadní poznatky o fyziologických hodnotách metabolických testů, ale neudávají zvlášť standardní hodnoty pro březí prasnice. Pouze Komárek aj. (1975) uvádějí řadu údajů získaných u většího počtu prasnic a kanců, nespecifikují však údaje pro prasnice s výjimkou acidobazické rovnováhy.

Jambor (1968a, b) zkoumal vliv krmné dávky vyvážené a deficitní v obsahu minerálních látek na zdravotní stav březích a kojících prasnic. Sledoval hladiny vápníku, hořčíku, fosforu, sodíku a draslíku a aktivitu alkalické fosfatázy v krevním sé-

ru. Zjistil, že minerální úroveň výživy prasnic ovlivňuje nejen jejich zdravotní stav, ale také živou hmotnost jejich selat a přírůstky těchto selat v době sání. Jmenovaný autor zároveň podává přehled o optimálních hodnotách obsahu uvedených minerálních látek v krevním séru prasnic. Podobně stanovili Procházka a Jambor (1978) hladiny vápníku a fosforu v séru malého počtu prasnic v různých stadiích reprodukčního cyklu. Zjistili, že hladiny sledovaných prvků u prasnic jalových, březích a kojících zůstávaly na přibližně stejné úrovni bez ohledu na stadium reprodukčních cyklů.

Ve své práci jsme si vytkli za cíl stanovit, jak ovlivňuje pořadí březosti některé biochemické a hematologické ukazatele u prasnic a v jakém rozsahu se tyto hodnoty pohybují v podmínkách standardní výživy zvířat.

MATERIÁL A METODA

Pokusná šetření jsme dělali v experimentální stáji pro prasnice na účelovém hospodářství Výzkumného ústavu výživy zvířat v Pohořelicích. Do pokusného sledování jsme zařadili celkem 34 prasničky plemene bílé ušlechtilé. Během celého pokusu jsme zkrmovali březím prasnicím směs, jejíž složení a obsah živin uvádíme v tab. I.

I. Složení kompletní směsi pro březost a stanovený obsah živin — Composition of the complete mixture for pregnancy and the determined nutrient content

Ingredient	% ve směsi
Ječmen	30,00
Pšenice	10,00
Oves	10,00
Krmná mouka pšeničná	10,00
Cukrovarské řízky sušené	10,00
Vojtěšková moučka (um. suš.)	24,00
Bílkovinný koncentrát ¹⁾	3,90
Doplňek biofaktorů P 3 ²⁾	0,10
MKP 3 ³⁾	1,00
Krmná sůl	0,50
Hexametafosfát	0,50
	100,00
Sušina	89,96
Dusíkaté látky	15,48
Lyzín	0,57
Sírné aminokyseliny	0,43
Vláknina	9,38
VSŽ	63,53
TNEp v MJ v 1 kg	7,788
Vápník	0,85
Fosfor	0,57
Sodík	0,45

¹⁾ Obsahoval buď rybí moučku (0,7 %), maso-kostní moučku (0,15 %), krevní vložky (0,15 %) sójový extrahovaný šrot (1,5 %), podzemnicový extrahovaný šrot (1,4 %), nebo etanolové kvasnice anebo sulfitové kvasnice.

²⁾ DB P 3 se skládal: vitamín A 2 000 000 m. j., vitamín D₃ 230 000 m. j., vitamín B₂ 866 mg, vitamín B₁₂ 2,2 mg, niacin 612 mg, metionin 100 000 mg, krmná mouka ad 1000 g.

³⁾ Obsahovala 57,0 % mikromletého krmného vápence, 20,0 % dikalciumfosfátu, 7,0 % pyrofosforečnanu sodného, 14,0 % kostní moučky vyklížené, 0,2 % CuSO₄·5 H₂O, 0,6 % FeSO₄·7 H₂O, 0,06 % ZnO, 0,1 % MnCO₃, 0,03 % CoSO₄·7 H₂O, 0,01 % KJ, 0,1 % sádry a 0,9 % krmné mouky pšeničné.

Obsah živin v této směsi je v souladu s vypracovaným návrhem potřeby (Navrátil, 1975) pro prasnice, který byl pojat do prozatímní normy MZVŽ ČSR (1977). Při krmení pokusných prasnic byla dodržena i normovaná denní potřeba kompletní směsi.

Krev jsme odebírali z přední duté žíly (*v. cava cranialis*) celkem čtyřikrát (přibližně vždy od 17 kusů). Od prasnic poprvé březích to bylo ve dnech 24. 8. 1976 a 28. 12. 1976 a od prasnic ve třetí březosti to bylo 28. 6. 1977 a 18. 10. 1977. Vzorky krve jsme odebírali standardní technikou dopoledne mezi 8.00 až 10.00 hodinou. Ve všech případech jsme vzorky analyzovali nebo připravovali k dalšímu zpracování ještě v den odběru.

Rozbory krmiva na obsah živin jsme dělali podle ČSN 46 7007 (1966). Hematologické a biochemické parametry jsme určili podle metodik, které popsali Mičan aj. (1975) a Mičan a Bouška (1973). Výsledky jsme zpracovali statisticky podle Snedecora a Cochran (1968).

VÝSLEDKY

Pokus začal zapuštěním prvních prasniček v červnu 1976 a byl ukončen oprášením posledních prasnic v lednu 1978. Během experimentu jsme vyloučili jedno zvíře po prvním porodu pro špatnou užitkovost — nenormální vrh (tab. II). Průměrná hmotnost zvířat v době odběru krve při první březosti byla 165,12 kg při průměrné délce březosti 59,32 dne. Prasnice ve třetí březosti dosáhly průměrné hmotnosti 197,36 kg přibližně ve stejné době březosti (59,48 dne). Průměrný věk zvířat při prvním odběru krve byl 318,18 dne a při druhém odběru 630,45 dne (tab. II). Pro doplnění výsledků uvádíme, že u prvníček se narodilo v průměru 8,3 živých selat ve vrhu a u prasnic při třetím vrhu to bylo 9,7 selete.

II. Základní údaje o pokusných zvířatech v době odběru krve (průměr ± střední chyba průměru) — Basic data on the experimental animals in blood sampling time (mean ± standard error of the mean)

Ukazatel ($\bar{x} \pm S_x$)	Měrná jednotka	Pořadí březosti		
		1.	2.	1., 3.
Počet testovaných zvířat	ks	34	33	67
Průměrná hmotnost zvířat	kg	165,12 ± 15,55	197,36 ± 21,59	181,00
Průměrný věk zvířat	dny	318,18 ± 87,63	630,45 ± 34,21	471,99
Průměrná délka březosti v době odběru krve	dny	59,32 ± 29,74	59,48 ± 27,66	59,40

Zjištěné výsledky jsou shrnuty do tab. III až V. Uvádíme vždy průměrné hodnoty, jejich interval spolehlivosti ($P = 0,05$), variační koeficient a střední chybu průměru.

Zaznamenali jsme významné zvýšení obsahu celkových bílkovin v séru prasnic ve třetí březosti proti zvířatům v první březosti (tab. III). Zvířata poprvé březí měla naopak významně ($P < 0,05$) vyšší obsah glukózy v krevním séru. Pořadí březosti nemělo významný vliv na hodno-

Ukazatel	Pořadí březosti	Průměr ¹⁾ $\bar{x}$	Interval spolehlivosti $P = 0,05$		Variační koeficient V_x	Střední chyba průměru $S_{\bar{x}}$
			dolní mez	horní mez		
Hemoglobin (g na 100 ml)	1.	10,266	9,766	10,767	13,30	0,245
	3.	9,371	8,898	9,844	12,76	0,230
	průměr	9,849	9,493	10,205	13,77	0,178
Hematokrit (obj. %)	1.	43,428	41,407	45,449	12,00	0,985
	3.	41,884	40,321	43,447	9,25	0,759
	průměr	42,685	41,420	43,950	10,86	0,631
Leukocyty (tisíce na mm ³)	1.	11,341	10,492	12,190	20,42	0,416
	3.	9,723	8,846	10,600	22,37	0,426
	průměr	10,603	9,975	11,231	22,41	0,314
Celkové bílkoviny (g na 100 ml)	1.	4,700 ^a	3,684	5,716	61,06	0,499
	3.	7,626 ^b	7,415	7,837	7,88	0,104
	průměr	6,163	5,542	6,784	41,07	0,311
Glukóza (g na 100 ml)	1.	80,235 ^b	77,082	83,388	11,09	1,548
	3.	59,438 ^a	55,771	63,105	17,12	1,798
	průměr	69,997	66,499	73,495	20,18	1,751
Močovina (mg na 100 ml)	1.	25,876	22,356	29,396	38,99	1,730
	3.	20,931	19,279	22,583	22,28	0,811
	průměr	23,441	21,438	25,444	35,08	1,004
Bilirubin (mg na 100 ml)	1.	0,184	0,174	0,194	16,85	0,005
	3.	0,197	0,179	0,215	27,41	0,009
	průměr	0,190	0,181	0,199	23,16	0,005
Cholesterol (mg na 100 ml)	1.	73,824	70,683	76,965	12,00	1,542
	3.	80,674	74,989	86,359	13,71	2,682
	průměr	76,153	73,285	79,021	13,26	1,427

¹⁾ Průměry stejného ukazatele označené rozdílnými písmeny jsou navzájem průkazně rozdílné ($P < 0,05$)

tu hemoglobinu, hematokritu, počet leukocytů a obsah močoviny, bilirubinu a cholesterolu.

V tab. IV uvádíme aktivitu sledovaných enzymů. Pořadí březosti mělo významný vliv ($P < 0,05$) na aktivitu alkalické fosfatázy (AF) a gamaglutamát transpeptidázy (GGTP). Aktivita obou enzymů se snížila u dospělých zvířat (třetí březost). Pořadí březosti v našem pokusu nemělo významný vliv na aktivitu transamináz (GPT, GOT). V téže tabulce jsou rovněž uvedeny aktivity laktát dehydrogenázy (LDH) a malát dehydrogenázy (MDH). Nedostatek standardních chemických látek nám nedovolil sledovat jejich aktivitu u prasnic ve třetí březosti. Obsah minerálních prvků v krevním séru prasnic uvádíme v tab. V. Nalezli jsme významně ($P < 0,05$) vyšší koncentraci vápníku, draslíku a manganu u zvířat při první březosti než u prasnic ve třetí březosti. Naproti tomu

IV. Výsledky aktivity enzymů v krevním séru pokusných zvířat ($\mu\text{M h}^{-1}/37^\circ\text{C}$) – Enzyme activity data as determined in the blood serum of the animals tested ($\mu\text{M h}^{-1}/37^\circ\text{C}$)

Ukazatel	Pořadí březosti	Průměr ¹⁾ $\bar{x}$	Interval spolehlivosti $P = 0,05$		Variační koeficient V_x	Střední chyba průměru $S_{\bar{x}}$
			dolní mez	horní mez		
Alkalická fosfatáza (AF)	1.	45,733 ^b	40,831	50,635	30,72	2,409
	3.	35,487 ^a	30,937	40,037	36,16	2,234
	průměr	40,687	37,196	44,178	35,20	1,749
Transamináza glutamanu-oxaloctanu (GOT)	1.	0,743	0,572	0,914	62,05	0,084
	3.	0,957	0,872	1,042	25,50	0,042
	průměr	0,855	0,762	0,948	43,98	0,047
Transamináza glutamanu-pyro- hroznanu (GPT)	1.	1,969	1,717	2,221	35,86	0,124
	3.	2,017	1,857	2,177	22,76	0,079
	průměr	1,993	1,848	2,138	29,55	0,073
Gama-glutamyl transpeptidáza (GGTP)	1.	29,566 ^b	23,434	35,698	55,56	2,999
	3.	17,718 ^a	14,367	21,069	52,45	1,643
	průměr	23,451	19,791	27,111	61,47	1,830
Malát dehydrogenáza (MDH) ²⁾	1.	1,460	1,351	1,569	21,64	0,054
Laktát dehydrogenáza (LDH) ²⁾	1.	13,682	12,512	14,852	24,54	0,575

¹⁾ Průměry stejného ukazatele označené rozdílnými písmeny jsou navzájem průkazně rozdílné ($P < 0,05$)

²⁾ Pro nedostatek standardních chemických látek nebyla aktivita zjišťována ve třetí březosti

prasnice — prvničky měly v krvi nižší obsah ($P < 0,05$) hořčíku, železa a mědi. Statisticky nevýznamné rozdíly jsme zaznamenali u anorganického fosforu, sodíku a zinku.

DISKUSE

Prasničky zvýší během první březosti (za stejného přívodu krmiva) svoji živou hmotnost (ž. h.) o 52 kg; ve třetí březosti je to průkazně méně ($P < 0,05$), jen o 40 kg (Navrátil a Zeman, 1978). To svědčí o tom, že metabolismus prasniček — prvniček je odlišný od metabolismu již dospělejších zvířat při třetím vrhu. Při tomto vrhu jsou také maximální výsledky v reprodukci (Navrátil a Zeman, 1976). Z tohoto důvodu jsme se rozhodli sledovat biochemické a hematologické ukazatele u prasnic v době první a třetí březosti.

Metabolické změny v organismu, spojené se snižující se růstovou intenzitou, způsobují snižování obsahu hemoglobinu, leukocytů i hematokritu. Podobnou tendenci v poklesu hemoglobinu u zvířat s vyšší hmotností (i starších) pozorovali např. Sova aj. (1971). Absolutní hodnoty

Ukazatel	Pořadí březosti	Průměr ¹⁾ $\bar{x}$	Interval spolehlivosti $P = 0,05$		Variační koeficient V_x	Střední chyba průměru $S_{\bar{x}}$
			dolní mez	horní mez		
Vápník (mg na 100 ml)	1.	10,482 ^b	10,071	10,893	11,08	0,202
	3.	9,576 ^a	9,210	9,942	10,85	0,180
	průměr	10,029	9,740	10,318	11,80	0,145
Fosfor anorganický (mg na 100 ml)	1.	6,393	6,171	6,613	9,97	0,109
	3.	6,265	5,999	6,531	12,04	0,131
	průměr	6,329	6,160	6,498	11,03	0,085
Hořčík (mg na 100 ml)	1.	1,885 ^a	1,826	1,944	8,86	0,029
	3.	2,137 ^b	2,078	2,196	7,81	0,029
	průměr	2,011	1,962	2,060	10,39	0,025
Sodík (mg na 100 ml)	1.	306,909	302,058	311,760	4,53	2,384
	3.	306,723	303,554	309,892	2,91	1,556
	průměr	306,817	303,979	309,655	3,79	1,422
Draslík (mg na 100 ml)	1.	19,235 ^b	18,930	19,540	4,51	0,150
	3.	17,176 ^a	16,396	17,956	12,84	0,383
	průměr	18,205	17,724	18,686	10,78	0,241
Železo (μ g na 100 ml)	1.	94,720 ^a	91,983	97,457	8,02	1,342
	3.	151,719 ^b	137,864	165,574	25,32	6,792
	průměr	123,220	113,294	133,146	32,26	4,968
Měď (μ g na 100 ml)	1.	233,095 ^a	219,890	246,300	15,98	6,483
	3.	279,500 ^b	246,503	312,497	32,73	16,175
	průměr	255,940	237,909	273,971	28,43	9,025
Zinek (μ g na 100 ml)	1.	142,625	131,217	154,033	21,81	5,587
	3.	122,382	107,436	137,328	32,71	7,309
	průměr	132,669	123,217	142,121	27,82	4,726
Mangan (μ g na 100 ml)	1.	6,713 ^b	6,104	7,322	25,62	0,299
	3.	5,595 ^a	5,258	5,932	16,23	0,165
	průměr	6,181	5,808	6,554	24,14	0,187

¹⁾ Průměry stejného ukazatele označené rozdílnými písmeny jsou navzájem průkazně rozdílné ($P < 0,05$)

hemoglobinu a leukocytů, stanovené v našem pokusu, jsou při dolní hranici rozpětí, které považují Slanina aj. (1975) za normální pro prasata. Hodnoty hematokritu se blíží výsledkům, které zjistil Schalm (1961) u březích prasnic.

Je zajímavé, že přes poměrně velký rozptyl ($s_{\bar{x}} = 0,499$) a malou přesnost ($V_x = 61,06\%$) v obsahu celkových bílkovin v krevním séru prasniček — prvníček vyšel průkazný rozdíl ve srovnání s hodnotami ze třetího vrhu. Především hodnota 4,700 g na 100 ml u prvníček je značně nižší, než jak uvádějí např. Atinmo aj. (1974) pro zvířata

poprvé březí (7,2 g na 100 ml). Naopak námi zjištěná hodnota 7,626 g na 100 ml u prasnic při třetí březosti je vyšší než jsou výsledky Komárka aj. [1975]. Posledně jmenovaní autoři získali svůj údaj 6,48 g na 100 ml s pravděpodobnostním rozsahem 5,82 až 7,14 g na 100 ml od 168 zvířat, převážně dvouletých a čtyřletých prasnic.

Hladina glukózy v séru je ovlivňována jinými metabolickými faktory, než je obsah energie nebo bílkovin v krmné dávce (Antinmo, aj., 1974). Podle těchto autorů se vliv březosti projevuje velmi významně po 70. dni od zapuštění. Především snížení citlivosti k inzulinu, objevující se během březosti, vysvětluje významné zvyšování obsahu glukózy v krevním séru v pozdějším stadiu březosti. Tato skutečnost mohla částečně ovlivnit (zvýšit) námi zjištěné údaje o obsahu glukózy v séru mladších zvířat, protože při první březosti byl větší rozptyl v její délce ($s_{\bar{x}} = 29,74$) než v pořadí třetí březosti ($s_{\bar{x}} = 27,66$). Námi zjištěný obsah glukózy v séru je v průměru v rozsahu, který považují Slanina aj. [1975] za fyziologický.

Obsah močoviny v krevním séru umožňuje sledovat kvalitu zkrmovaného proteinu, i když obsah močoviny v moči je lepším ukazatelem této kvality (Brown a Cline, 1974). Během březosti se hladina močoviny v séru od zapuštění postupně zvyšuje, dosahuje maxima asi v 70 dnech a pak opět klesá (Antinmo aj., 1974). Tato skutečnost neovlivnila výsledky v našem pokusu, protože údaje jsme zjišťovali v přibližně stejné době březosti. Absolutní hodnoty námi zjištěné leží na dolním okraji rozpětí, který pro tento ukazatel uvádějí např. Komárk aj. [1975].

Naše hodnoty absolutního obsahu cholesterolu v séru starších zvířat se blíží hodnotám, které u prasnic zjistili Okai aj. [1977]. Obecně pak jsou nižší než údaje, které uvádí Suchich [1977] u prasnic v 60 dnech březosti. Rozdíl mohl být ovlivněn především složením krmné dávky, odlišnými podmínkami pokusu, metodami zjišťování nebo odběru krve apod.

Aktivita alkalické fosfatázy v krevním séru během postnatálního vývoje prasat se snižuje (Smíšek aj., 1969b). Tuto tendenci podporují i naše výsledky, podle nichž jsme u mladších rostoucích prasniček — prvniček našli průkazně vyšší ($P < 0,05$) hodnoty než u starších zvířat při třetím vrhu. Námi zjištěná absolutní hodnota aktivity AF je při dolním okraji rozsahu, který považují Slanina aj. [1975] za fyziologický pro prasata. Aktivita transamináz (GOT, GPT) nebyla pořadím březosti významně ovlivněna. Neprůkazné tendence zvyšování jejich aktivity odpovídá údajům (GOT) pozorovaným Smíškem aj. [1969b] u vykrmovaných prasat plemene BU a údajům (GPT) pozorovaným Sovou aj. [1972]. Stanovené hodnoty aktivity GPT na našem materiálu prasnic se blíží údajům, které Sova aj. [1972] považují za zvýšené u prasat ve výkrmu. Naproti tomu Komárk aj. [1975] stanovili ještě vyšší aktivitu GPT u prasat, převážně prasnic dvou- až čtyřletých.

Je rovněž možné se domnívat, že na aktivitu některých enzymů může mít vliv kromě věku či intenzity růstu ještě plodnost, jak soudí Buschmann [1965, cit. Smíšek aj., 1969b]. Tomu by mohly nasvědčovat i lepší výsledky reprodukce našich zvířat ve třetím vrhu. Tuto úvahu však bude nutné ještě prověřit v samostatném sledování.

Hladina vápníku a anorganického fosforu v krevním séru prasnic je poměrně stálá (Procházk a Jambor, 1978) a není ovlivněna stadiem reprodukčního cyklu (jalovitostí, délkou březosti, kojením). Proto je zajímavé, že ve třetí březosti měly prasnice významně nižší ($P < 0,05$) hladinu vápníku v krvi než při první březosti (tab. V). Tento jev bude zřejmě souviset se snížením růstové intenzity u starších prasnic, protože — jak prokázali Ullrey aj. (1967) — klesá se zvyšujícím se věkem (hmotností) rostoucích prasat obsah vápníku i fosforu v krevním séru. Absolutní hodnoty zjištěné u našich zvířat ve třetí březosti se blíží údajům, které našel Suchich (1977) u starších prasnic v 60 dnech březosti a při přibližně stejné živé hmotnosti (178 kg).

Námi stanovená koncentrace sodíku je nižší než je normální rozsah, který uvádějí Slanina aj. (1975) obecně pro prasata nebo než stanovili Ullrey aj. (1967) u mladých rostoucích prasat. Naše zjištění podporuje úvahu, že hladina sodíku v krevním séru je velmi stálá a lze ji měnit především rozdílnou kvalitou diety (Zintzen, 1975).

Pozorovali jsme průkazně nižší koncentraci hořčíku v séru mladších prasnic (první březost) než u starších. To odpovídá přibližně údajům uváděným Ullreym aj. (1967), kteří našli neprůkazné zvýšení hladiny hořčíku ze 2,6 mg% ve třech měsících věku na 3,0 mg% v pěti měsících věku. Námi stanovené hodnoty jsou nižší než uvádějí Slanina aj. (1975), Ullrey aj. (1967), ale vyšší než stanovili Komárek aj. (1975).

V našem pokusu zjištěný významný pokles hladiny draslíku u starších zvířat odpovídá tendenci, kterou naznačují výsledky Ullreye aj. (1967). Tito autoři našli u zvířat ve věku dva, tři, čtyři a pět měsíců 21,4; 21,1; 20,8; 19,6 mg draslíku na 100 ml séra. Absolutní hodnoty zjištěné v našem pokusu jsou v rozsahu, který považují Slanina aj. (1975) nebo Komárek aj. (1975) za fyziologický.

Obsah železa v séru prasnic se v první polovině březosti zvyšuje o 9 až 33 % a ve druhé polovině se o 32 až 73 % snižuje ve srovnání s údaji zjištěnými u jalových prasnic (Klabuková, 1977). Tato tendence mohla částečně ovlivnit i údaje zjištěné v našem pokusu, když délka březosti u mladších prasnic měla větší střední chybu než u starších prasnic. Koncentrace železa v krevním séru pokusných prasnic kolísala v rozsahu, který uvádějí Slanina aj. (1975) jako optimální pro zdravá prasata.

Naše údaje o významném zvýšení obsahu mědi v séru starších prasnic vcelku odpovídají tendenci zvyšování obsahu mědi v séru rostoucích prasat (Ullrey aj., 1967). Koncentrace mědi v séru prasnic při třetí březosti pokračuje výši, kterou uvádějí Slanina aj. (1975) pro zdravá prasata.

O fyziologické hladině zinku v krevním séru březích prasnic jsme nenalezli v nám dostupných literárních pramenech zmínku. Ullrey aj. (1967) uvádějí údaje zjišťované na mladých rostoucích prasatech. Hladina zinku v jejich pokusech několikrát během raného života kolísala v rozsahu od 54 do 141 μg na 100 ml, což by částečně odpovídalo námi stanoveným hodnotám. Vyšší obsah manganu u mladších zvířat v našem pokusu bude zřejmě souviset s jejich ještě poměrně intenzivním růstem.

Literatura

- ATINMO, T. — POND, W. G. — BARNES, R. H.: Effect of dietary energy vs. protein restriction on blood constituents and reproductive performance in swine. *J. Nutr.*, 104, 1974, č. 8, s. 1033-1040.
- BROWN, J. A. — CLINE, T. R.: Urea excretion in the pig: An indicator of protein quality and amino acid requirement. *J. Nutr.*, 104, 1974, s. 542-545.
- JAMBOR, V.: Příspěvek ke studiu vápníku a fosforu u prasnic a selat [Kandidátská disertační práce.] Brno 1968a, 135 s. — Vysoká škola zemědělská. Veterinární fakulta.
- JAMBOR, V.: Beitrag zur Studie über die Kalzium-Phosphornährung von Sauen und Ferkeln. *Acta vet.*, Brno, řada B, XXXVII, č. 1, 1968b, s. 21-34.
- KLABUKOVA, L. N.: Úroveň železa i mědi v krvi svinomatok při roznom úrovni v racione vitamínu E v sočítaní s selenom v period suporostnosti i laktácii. *Bjul. VNII fiziol. biochim. pitan. s.-ch. životnych*, 2, (45), 1977, s. 13-16.
- KOMÁREK, J. — ŠTROSS, K. — KYNCLOVÁ, I. — BÍZOVÁ, I.: Některé biochemické hodnoty u prasat. *Veterinářství*, 25, 1975, s. 502-504.
- MÍČAN, P. — BOUŠKA, J.: Vliv zkrmování enzymaticky hydrolyzované pšeničné mouky v mléčné směsi Telexan V na některé biochemické a hematologické ukazatele v krvi telat. *Biologizace Chem. Výž. Zvíř.*, 1973, č. 3, s. 251-264.
- MÍČAN, P. — BOUŠKA, J. — HNILICKÁ, J. — SMEJKAL, J. — KUKLA, J. — GOLA, J. — NÁPRAVNÍKOVÁ, E. — HERA, A. — FRGALOVÁ, R.: Možnosti náhrady antibiotik v krmných směsích pro prasata přípravkem MECADOX — I. *Biologizace Chem. Výž. Zvíř.*, 1975, č. 2, s. 147-182.
- NAVRÁTIL, B.: Výzkum struktury a potřeby kompletních směsí včetně živin u prasnic při časném odstavu selat v 21-28 dnech. [Závěrečná zpráva.] Pohořelice, Výzkumný ústav výživy zvířat 1975.
- NAVRÁTIL, B. — ZEMAN, L.: Vliv denní dávky a typu kompletní směsi u březích prasnic na počet a hmotnost selat při narození a v 28 dnech věku. *Živočišná Výroba*, 21, 1976, s. 295-304.
- NAVRÁTIL, B. — ZEMAN, L.: Vliv denní dávky a typu kompletní směsi u březích prasnic na změny živé hmotnosti v průběhu mezidobí. *Živočišná Výroba*, 23, 1978, s. 27-34.
- OKAI, D. B. — AHERNE, F. X. — HARDIN, R. T.: Effects of sow nutrition in late gestation on the body composition and survival of the neonatal pig. *Can. J. Anim. Sci.*, 57, 1977, s. 439-448.
- PROCHÁZKA, Z. — JAMBOR, V.: Využití vápníku a fosforu u prasnic při jejich výživě kompletními krmnými směsí. *Živočišná Výroba*, 23, 1978, s. 35-42.
- SCHALM, O. W.: *Veterinary Hematology*. Philadelphia, Lea and Febiger 1961.
- SLANINA, L. — BARTOK, P. — ČANECKÝ, P. — FRIED, K. — HOJOVCOVÁ, M. — RADEMACHER, R. — VRZGULA, L.: *Klinická propedeutika vnitřních chorob hospodářských zvířat*. Bratislava, Příroda 1975. 583 s.
- SMÍŠEK, V. — PAVEL, J. — BUCHTA, S. — VENZAROVÁ, L.: Studium vztahu aktivity některých enzymů v krevním séru k intenzitě růstu a k jatečné hodnotě prasat plemene bílého ušlechtilého a landrace. *Sb. vys. šk. zem.*, Brno (řada A), Spisy fakulty agronomické, XVII, č. 4, 1969a, s. 796-773.
- SMÍŠEK, V. — PAVEL, J. — BUCHTA, S. — VENZAROVÁ, L.: Aktivita některých enzymů v krevním séru prasat plemene bílého ušlechtilého a landrace. *Živočišná Výroba* XVII, č. 9, 1969b, s. 675-682.
- SNEDECOR, G. W. — COCHRAN, W. G.: *Statistical methods* (6th Edition). Ames, Iowa, The Iowa State University Press, 1969, 593 s.
- SOVA, Z. — TREFNÝ, D. — VRBENSKÁ, A. — KALOUS, J.: Erytrogramy a leukogramy u skupin prasat různé váhy. *Biologizace Chem. Výž. Zvíř.*, 4, 1971, s. 377-384.
- SOVA, Z. — TREFNÝ, D. — KALOUS, J. — KOUDELA, K. — HOUŠKA, J. — VRBENSKÁ, A. — FRYDRYCH, Z. — SLAVÍK, L. — PYTLOUN, J. — NĚMEC, Z. — HRDINOVÁ, A. — JÍCHA, J.: Některé základní fyziologické hodnoty v krvi a játrech prasat různého věku. (II. sdělení). *Biologizace Chem. Výž. Zvíř.*, 8, 1972, č. 2, s. 159-166.
- SUCHICH, N. D.: Biochemické ukazatele krve svinomatok v svazích s suporostností i laktací. *Bjul. VNII fiziol. biochim. pitan. s.-ch. životnych*, 2, (45), 1977, s. 10-12.
- ULLREY, D. E. — MILLER, E. R. — BRENT, B. E. — BRADLEY, B. L. — HOEFER, J. A.: Swine hematology from birth to maturity. IV. Serum calcium, magnesium, sodium, potassium, copper, zinc and inorganic phosphorus. *J. Anim. Sci.*, 26, 1967, s. 1024-1029.

ZINTZEN, H.: A guide to the nutritional management of breeding sows and piglets. Basel, Schweiz, Hoffmann-La Roche Co. AG, 1975, 64 s.
CSN 46 7007: Výživná hodnota krmiv. ÚNM Praha, 1966.
POKYNY pro sestavování krmných dávek pro dojnice a prasata. MZVŽ ČSR (č. j. 595/77-322), Praha, 13. 6. 1977. 11 s.

Došlo dne 12. 7. 1978

ЗЕМАН, Л. — БОУШКА, Й. — МИЧАН, П. — НАВРАТИЛ, Б. (Научно-исследовательский институт питания животных, Погоржелице; Станция ветеринарного обслуживания, Густопече): Влияние порядка супоросности на некоторые биохимические и гематологические величины у свиноматок. Vet. Med., Praha, 24, 1979 (4) : 245-255.

В стандартных условиях питания у 34 супоросных свиноматок белой улучшенной породы определяли гемоглобин, гематокрит, лейкоциты, а в сыворотке крови также общие белки, глюкозу, мочевину, билирубин, холестерин, активность ферментов (AF, GOT, GPT, GGTP) и концентрации минеральных элементов (Ca, P-неорганического, Mg, Na, K, Fe, Cu, Zn, Mn). Кровь брали при первой и третьей супоросности при среднем живом весе 165,12 и 197,36 кг, в среднем возрасте 318 и 630 дней и при сравнительно равной средней продолжительности супоросности в момент обоих взятий крови (59 дней). У младших, еще развивающихся свиноматок (первая супоросность), установлено достоверно ($P < 0,05$) меньшее содержание общего белка, магния, железа и меди, чем у взрослых свиноматок. Содержание глюкозы, кальция, калия и марганца в сыворотке крови молодых первосупоросных свиноматок было достоверно ($P < 0,05$) большим, чем у животных при третьей супоросности. У взрослых свиноматок достоверно ($P < 0,05$) понижалась активность щелочной фосфатазы и гамма-глутамил транспептидазы по сравнению с младшими свиноматками.

свиноматки; первая и третья супоросность; метаболический тест; концентрация минеральных веществ; активность ферментов

ZEMAN, L. — BOUŠKA, J. — MIČAN, P. — NAVRÁTIL, B. (Research Institute of Animal Nutrition, Pohořelice; Station of Veterinary Care, Hustopeče): *The Effect of Pregnancy Order on Some Biochemical and Haematological Values in Sows*. Vet. Med., Praha, 24, 1979 (4) : 245-255.

The following blood indices were determined in the blood of 34 pregnant sows of the Large White breed under standard feeding conditions: haemoglobin, haematocrit, leucocytes, and — in the blood serum, — total protein, glucose, urea, bilirubin, cholesterol, enzyme activity (AP, GOT, GPT, GGTP) and mineral concentrations (Ca, P-inorg., Mg, Na, K, Fe, Cu, Zn, Mn). The blood was sampled in the first and third pregnancy at an average live weight of 165.12 and 197.36 kg, at an average age of 318 and 630 days and at about the same average length of pregnancy in the time of both samplings (59 days). In younger, still growing gilts (first pregnancy) a significantly ($P < 0.05$) lower content of total protein, magnesium, iron and copper was revealed, as compared with adult sows. The content of glucose, calcium, potassium and manganese in the blood serum of the gilts was significantly ($P < 0.05$) higher than in sows in their third pregnancy. The adult sows showed a significantly ($P < 0.05$) lowered activity of alkaline phosphatase and gamma-glutamyl transpeptidase, as distinct from gilts.

sows; first and third pregnancy; metabolic test; mineral concentration; enzyme activity

ZEMAN, L. — BOUŠKA, J. — MIČAN, P. — NAVRÁTIL, B. (Forschungsinstitut für Tierernährung, Pohořelice; Veterinäre Pflegestation, Hustopeče): *Einfluß der Trächtigkeitsreihenfolge auf einige biochemische und hämatologische Werte bei Sauen*. Vet. Med., Praha, 24, 1979 (4) : 245-255.

Unter Ernährungsstandardbedingungen bestimmten wir im Blut von 34 trächtigen Sauen der Weißen Edelschweinrasse das Hämoglobin, den Hämatokrit, die Leukozyten und im Blutserum die Gesamteiweißstoffe, die Glukose, den Harnstoff, das Bi-

lirubin, ferner das Cholesterol, die Enzymaktivität (AF, GOT, GPT und GGTP) sowie die Konzentration der Mineralelemente (Ca, anorg. P, Mg, Na, K, Fe, Cu, Zn und Mn). Das Blut entnahmen wir bei der ersten und der dritten Trächtigkeit der Sauen bei einer durchschnittlichen Lebendmasse von 165,12 kg bzw. 197,36 kg, im Durchschnittsalter von 318 bzw. 630 Tagen und bei einer durchschnittliche gleichen Trächtigkeitsdauer in der Zeit der beiden Blutentnahmen (59 Tage). Bei den jüngeren, noch wachsenden Jungsauen (erste Trächtigkeit) wurde ein signifikant niedrigerer Gehalt ($P < 0,05$) an Gesamteiweiß, Magnesium, Eisen und Kupfer im Vergleich zu den erwachsenen Sauen festgestellt. Der Glukose-, Kalzium-, Kalium- und Mangan-gehalt im Blutserum der Erstlingsjungsauen war signifikant ($P < 0,05$) höher als bei den Sauen in der dritten Trächtigkeit. Bei den erwachsenen Sauen verringerte sich signifikant ($P < 0,05$) die Aktivität der Alkaliphosphatase und der Gamma-Glutamyl-Transpeptidase im Vergleich zu den jüngeren Sauen.

Sauen; erste und dritte Trächtigkeit; Metabolismustest; Mineralienkonzentration; Enzymaktivität

Adresa autorů:

Ing. Ladislav Zeman, dr. ing. Boleslav Navrátil, CSc., Výzkumný ústav výživy zvířat, 691 23 Pohořelice

MVDr. Josef Bouška, MVDr. Petr Mičan, Okresní veterinární zařízení Břeclav, Stanice veterinární péče, 693 01 Hustopeče

Upozorňujeme čtenáře, že v čísle 5 časopisu

VETERINÁRNÍ MEDICÍNA

mají být uveřejněny články :

- A. Žuffa, A. Brányik, J. Zalaj, K. Mráček: Imunizační účinnost inaktivované vakcíny proti infekční boviní rinotracheitidě (IBR) s olejovým adjuvans
- P. Selinger: Grafická metoda statistického hodnocení metabolických testů
- J. Říha, J. Minář, Z. Lamatová, O. Matoušková: Ekonomický význam prevence ztrát působených dvoukřídly krev sajícím hmyzem u pasených dojníc
- J. Bartko: Toxoplazmóza oviec v nížinnej oblasti západného Slovenska
- M. Baran, I. Zeleňák, D. Jalča: Příjem vody, úroveň pH a amoniaku v bachorovom obsahu oviec kŕmených tvarovaným krmivom
- M. Dvořák: Účinky odlišného růstu odstavených selat, hladovění a hormonálního působení na některé metabolické parametry v krevní plazmě
- J. Raszyk, J. Čanderle, M. Dvořák, M. Toullová, O. Matoušková: Biochemické a hematologické změny u prasnic v údobí říje

Žuffa A., Brányik A., Salaj J.: Rezistencia sliznic horných ciest dýchacích u dobytky proti infekcii vírusom IBR vo vzťahu k obsahu humorálnych a sekretorických protilátok a lokálnej produkcie interferonu . . .	193
Pavlas M., Willomitzer J., Mrva V., Patloková V., Procházka F.: Preventivní a léčebná účinnost vakcíny proti trichofytóze u skotu . . .	209
Prokůpek K., Dvořák R., Poláček R.: Antraxový protektivní antigen a jeho příprava . . .	217
Lebeda M., Přikrylová J.: Beta-karotén krevní plazmy dojníc v různých fázích laktace a reprodukčního cyklu . . .	225
Marounek M., Kopečný J., Bartoš S.: Metoda kultivace bachorové tekutiny <i>in vitro</i> , vhodná ke srovnání různých zdrojů nebílkovinného dusíku pro přežvýkavce . . .	233
Navrátil S., Forejtek P.: Vliv bilaterální vazektomie na hladiny testosteronu v semenné a krevní plazmě kanců . . .	239
Zeman L., Bouška J., Mičan P., Navrátil B.: Vliv pořadí březosti na některé biochemické a hematologické hodnoty u prasnic . .	245

СОДЕРЖАНИЕ

Жуффа А., Браник А., Салай, Ю.: Устойчивость слизистых оболочек верхних дыхательных путей крупного рогатого скота против инфекции вирусом IBR в зависимости от содержания гуморальных и секреторных антител и локальной продукции интерферона . . .	193
Павлас М., Вилломицер Й., Мрва В., Патлокова В., Прохазка Ф.: Профилактическое и терапевтическое действие вакцины против трихофитоза крупного рогатого скота . . .	209
Прокупец К., Дворжак Р., Полачек Р.: Сибиреязвенный предохранительный антиген и его приготовление . . .	217
Лебеда М., Пржикрилова Я.: Бета-каротин кровяной плазмы дойных коров в разные фазы лактации и воспроизводственного цикла . . .	225
Мароунок М., Копечны Я., Бартош С.: Метод культивации рубцовой жидкости <i>in vitro</i> для сравнения разных источников небелкового азота . .	233
Навратил С., Форейтек П.: Влияние билатеральной вазектомии на уровни тестостерона в семенной и кровяной плазмах хряков . . .	239
Земан Л., Боушка Й., Мичан П., Навратил Б.: Влияние порядка супорочности на некоторые биохимические и гематологические величины у свиноматок . . .	245

CONTENTS

Žuffa A., Brányik A., Salaj J.: The Resistance of the Mucous Membranes of the Upper Respiratory Organs of Cattle to Infection with the IBR Virus, as Related with the Content of Humoral and Secretory Antibodies and Local Production of Interferon . . .	193
Pavlas M., Willomitzer J., Mrva V., Patloková V., Procházka F.: The Therapeutic and Preventive Effectiveness of Vaccine against Trichophytosis in Cattle . . .	209
Prokůpek K., Dvořák R., Poláček R.: The Anthrax Protective Antigen and its Preparation . . .	217
Lebeda M., Přikrylová J.: Beta-carotene Levels in Dairy Cow Blood Plasma at Different Stages of Lactation and Reproduction Cycle . . .	225
Marounek M., Kopečný J., Bartoš S.: Method of Cultivating the Rumen Fluid <i>in vitro</i> to Compare Different NPN Sources for Ruminants . .	233
Navrátil S., Forejtek P.: The Effect of Bilateral Vasectomy on Testosterone Levels in the Blood and Semen Plasma of Boars . . .	239
Zeman L., Bouška J., Mičan P., Navrátil B.: The Effect of Pregnancy Order on Some Biochemical and Haematological Values in Sows . . .	245

INHALT

Žuffa A., Brányik A., Salaj J.: Resistenz der Schleimhäute der oberen Atmungsorgane von Kälbern gegen Infektion mit IBR-Virus in bezug auf den Gehalt an humoralen und sekretorischen Antikörpern sowie auf die lokale Interferonproduktion	193
Pavlas M., Willomitzer J., Mrva V., Patloková V., Procházka F.: Vorbeugungs- und Heilwirkung der Vakzine gegen Trichophytose beim Rind	209
Prokůpek K., Dvořák R., Poláček R.: Anthraxprotektives Antigen und dessen Herstellung	217
Lebeda M., Přikrylová J.: Beta-Karotin des Milchkuhblutplasmas in unterschiedlichen Phasen der Laktation und des Reproduktionszyklus	225
Marounek M., Kopečný J., Bartoš S.: Methode des Pansenflüssigkeitskultivierung <i>in vitro</i> zum Vergleich verschiedener NPN-Ressourcen für Wiederkäuer	233
Navrátil S., Forejtek P.: Einfluß bilateraler Vasektomie auf Testosteronkonzentrationen im Samen- und Blutplasma der Eber	239
Zeman L., Bouška J., Mičan P., Navrátil B.: Einfluß der Trächtigkeitsreihenfolge auf einige biochemische und hämatologische Werte bei Sauen	245