

VĚDECKÝ ČASOPIS



VETERINÁRNÍ MEDICÍNA

8

ROČNÍK 26 (LIV)
PRAHA
SRPEN 1981
CENA 10 Kčs
CS ISSN 0590-5214

ČESKOSLOVENSKÁ AKADEMIE ZEMĚDĚLSKÁ
ÚSTAV VĚDECKOTECHNICKÝCH INFORMACÍ
PRO ZEMĚDĚLSTVÍ

VETERINÁRNÍ MEDICÍNA

Rídí redakční rada:

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

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

Redaktorka ing. Jovanka Václavíčková

© Ústav vědeckotechnických informací pro zemědělství, Praha 1981

■

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

■

Научный журнал VETERINÁRNÍ MEDICÍNA публикует обзоры, анализы и научные статьи о решенных задачах по научному исследованию в области ветеринарии. 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, 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.

OVlivNĚNÍ SUPEROVULACE U SKOTU PROtilÁTKOU PROTI SĚROVĚMU GONADOTROPINU

V. Kummer, Z. Zralý, V. Holčák, Z. Věžník, J. Schlegelová, K. Hruška

KUMMER, V. — ZRALÝ, Z. — HOLČÁK, V. — VĚŽNÍK, Z. — SCHLEGELOVÁ, J. — HRUŠKA, K. (Výzkumný ústav veterinárního lékařství, Brno): *Ovlivnění superovulace u skotu protilátkou proti sérovému gonadotropinu*. Vet. Med., Praha, 26, 1981 (8) : 449-456.

Ověřovali jsme účinnost GnRH (Luliberin) a kozího anti-PMSG séra připraveného na VÚVeL v Brně při superovulaci jalovic, ošetřených PMSG a Estrumate. Aplikací GnRH nebylo dosaženo pozitivního ovlivnění ve srovnání s kontrolní skupinou. Podáním anti-PMSG séra za pět hodin po stanoveném začátku říje (46—53 hodin po první aplikaci Estrumate) bylo dosaženo ve srovnání s kontrolní skupinou zkrácení délky říje (25,8 a 51,3 h), zvýšení počtu ovulací (22,1 a 18,0) a snížení počtu folikulů (4,1 a 22,3). U pokusných jalovic bylo získáno v průměru 17,8 vajíček, z toho 12,5 kvalitních embryí a u kontrolních jedinců 6,9 vajíček, z toho 2,9 embryí. Získané výsledky přesvědčivě dokládají perspektivnost užití kozího anti-PMSG séra při superovulacích skotu.

GnRH (Luliberin); kozí anti-PMSG sérum; Estrumate; délka říje; počet ovulací; počet folikulů

Základní podmínkou maximálního využití genofundu donorů a limitujícím faktorem praktického uplatnění transferu embryí skotu je produkce dostatečného počtu plnohodnotných embryí. Od první stimulace ovarií, kterou za tímto účelem uskutečnili Casida aj. (1943), bylo se střídavými úspěchy vyzkoušeno větší množství hormonálních přípravků a stimulačních režimů. Základním principem je stimulace folikulárního systému parenterálním podáním vyšších dávek FSH, než jsou jeho endogenní hladiny. Jako jeden z prvních byl k superovulaci používán hypofyzární FSH, který je však nutno podávat opakovaně po dobu několika dnů. Pro jedno stimulační ošetření se užívá přibližně 30 mg FSH (Seidel aj., 1977), což v přepočtu podle Stockell Hartreeho (1978) představuje množství získané extrakcí 100 až 500 ovčích nebo hovězích hypofýz. Koňské a lidské hypofýzy mají sice dvacetkrát vyšší obsah FSH, jsou však méně dostupné. Z těchto důvodů se později začalo používat extrahypofyzárních gonadotropinů (PMSG, hCG), které jsou dostupnější a lze jich použít jednorázově. Odpověď ovarií na podaný PMSG je rozdílná v závislosti na dávce, stadiu pohlavního cyklu, způsobu případné synchronizace a časové následnosti vyvolané luteolýzy. Významně se uplatňuje i poměr obou účinných složek obsažených v séru březích klisen, tj. FSH a LH, a stupeň purifikace preparátu, což dokládají výsledky s použitím různých komerčních

přípravků. Ovariální odpověď je dále ovlivněna plemennou příslušností, úrovní výživy, ročním obdobím a zdravotním stavem zvířete.

Přes velké množství vypracovaných stimulačních schémat jsou stále časté případy malého počtu ovulací a postupného dozrávání folikulů. Přetrvávající estrogenizace cílových tkání, vyvolaná neovulovanými a nově dozrávajícími folikuly, je příčinou hormonálních dysbalancí s následnou asynchronií motoriky a funkce vejcovodů a dělohy (Dickmann, 1969; Harper a Chang, 1971; Booth aj., 1975 a jiní). Za tím účelem byly vyvíjeny snahy o dosažení plnohodnotné ovulace, a to aplikací hCG, estrogenů a v poslední době také GnRH (Newcomb, 1980), v období indukované říje. Nestandardní výsledky stimulace superovulace však dosud nesplňují požadované parametry a jsou předmětem kritické analýzy mnoha autorů (Hahn aj., 1976; Elsdén aj., 1978; Schams aj., 1979; Kudláč aj., 1979 a další).

V poslední době se diskutuje o negativním ovlivnění superovulace přetrvávajícím účinkem PMSG (Saumande, 1977). K přerušení tohoto účinku použili Bindon a Piper (1977) ovčích, Dhondt aj. (1978) krutích a Kummer aj. (1980) kozích protilátek proti PMSG.

Účelem naší práce bylo ověřit účinek GnRH a kozího anti-PMSG séra při superovulaci skotu.

MATERIÁL A METODY

Účinek GnRH čs. provenience (Luliberin; VÚFB Praha) byl ověřován na sedmi jalovicích plemene české strakaté o hmotnosti 340 až 380 kg a ve věku 16 až 18 měsíců, u nichž byly klinicky sledovány dva předchozí cykly. Stimulační schéma bylo následující: 9. až 12. den cyklu jednorázově 2000 m. j. séra březích klisen (sp. Prolosan; Germel) i. m., za 36 hodin 500 μ g cloprostenolu (sp. Estrumate; ICI) i. m., Luliberin 1 mg i. v. na začátku říje a dále jedenkrát denně po dobu trvání říjových příznaků. U sedmi kontrolních jalovic bylo stimulační schéma stejné, vyjma GnRH. Jalovice byly inseminovány hluboce mraženým semenem vždy při první aplikaci GnRH, dále v 12hodinových intervalech až do ukončení říjových příznaků. Vajíčka byla získávána chirurgickou metodou čtvrtý až sedmý den po začátku říje a hodnocena morfologicky. K výplachům vejcovodů a dělohy bylo použito médium Dulbecco PBS. Na obou ovariích byl stanoven počet žlutých tělísek a folikulů větších než 10 mm.

Účinek kozího anti-PMSG séra připraveného na našem pracovišti (PV 383-80) byl ověřen na 16 jalovicích (10 plemene české strakaté a 6 české strakaté $\times$ ayrshire o stejné hmotnosti a věku jako v předchozím experimentu). Devátý až jedenáctý den cyklu byly jalovice jednorázově stimulovány i. m. aplikací PMSG Bioveta v dávce 5000 m. j. (první den pokusu), za 48 a 54 hodin bylo podáno i. m. vždy 500 μ m cloprostenolu. Za pět hodin po stanoveném začátku říje bylo osmi jalovicím pokusné skupiny podáno i. v. nebo i. m. 5 ml anti-PMSG séra zředěného 5 ml *aqua pro inj.* Jalovice byly inseminovány za pět hodin po stanoveném začátku říje a opakovaně v intervalu 12 hodin po ukončení říjových příznaků.

Vajíčka byla získána do 30 minut po odporažení jalovic 12. až 14. den pokusu výplachem vejcovodů a dělohy descendentní cestou médiem PBS. Pohlavní orgány byly podrobeny morfologickému a histologickému vyšetření. Během experimentu byla odebírána krev ke stanovení koncentrace progesteronu, 17- β estradiolu a testosteronu radioimunoanalýzou.

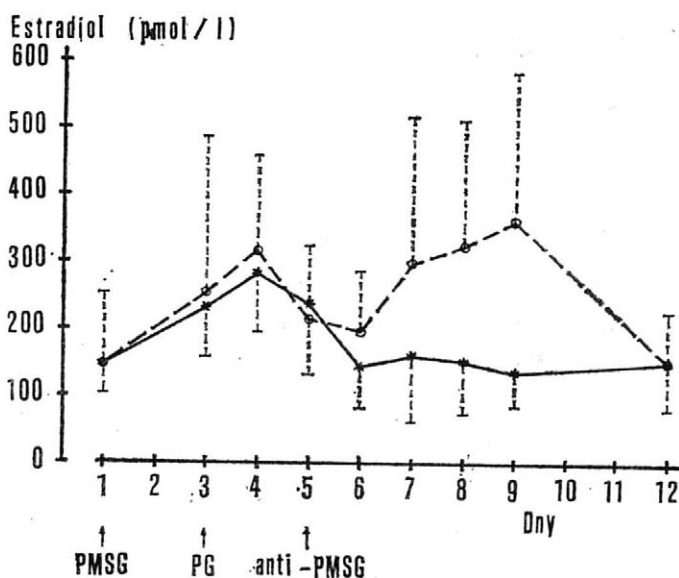
VÝSLEDKY

Aplikací GnRH nebylo dosaženo pozitivního ovlivnění ovulací u jalovic stimulovaných sérem březích klisen, i když se v některých pří-

Ukazatelé	Superovulace		Sérový gonadotropin 5000 m. j.	
	GnRH <i>n</i> = 7	kontrola <i>n</i> = 7	anti-PMSG sérum <i>n</i> = 8	kontrola <i>n</i> = 8
Délka říje	50,4	48,3	25,8	51,3
Počet inseminací	4,1	3,9	2,4	4,3
Počet CL	8,9	8,3	22,1	18,0
Počet folikulů	5,6	5,4	4,1	22,3
Zisk vajíček celkem	2,5	2,4	17,8	6,9
Zisk embryí	1,3	1,1	12,5	2,9

padech ošetření opakovalo třikrát a vícekrát. Rozdíly ve sledovaných ukazatelích (tab. I) nebyly signifikantní. V ovariální odpovědi byla zřejmá individuální variabilita, vyjádřená u některých zvířat anovulací spojenou s výskytem folikulárních a luteálních cyst, u jiných zvířat naopak vyšším či nižším stupněm ovulační míry.

Spolehlivé výsledky byly získány v druhém experimentu, ověřujícím možnost zlepšení celosvětově zatím nejčastěji používaného stimulačního režimu aplikací koziho anti-PMSG séra. Podáním anti-PMSG séra bylo dosaženo velmi významného ($P < 0,01$) zkrácení délky říje ve srovnání s kontrolní skupinou (25,8 a 51,3 h), zvýšení středního počtu ovulací (22,1 a 18,0) a významného ($P < 0,05$) snížení počtu folikulů větších než 10 mm (4,1 a 22,3). U jalovic kontrolní skupiny byla zjišťována žlutá tělíska různého stáří, což svědčí o prolongovaném průběhu



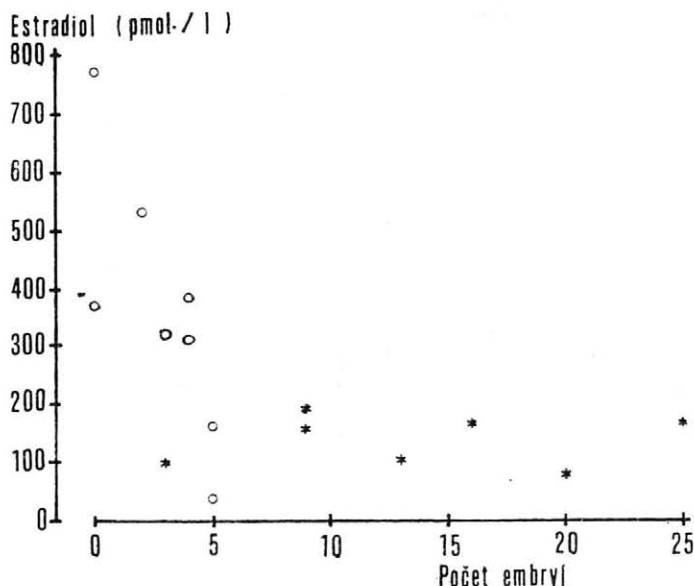
1. Koncentrace estradiolu v krevní plazmě pokusné (—) a kontrolní (---) skupiny jalovic — Oestradiol concentration in the blood plasma of the test (—) and control (---) group of heifers

ovulací v rozsahu minimálně dvou dnů. Tomu odpovídal i nález embryí v různém stadiu vývoje od šestnáctibuněčných vajíček až po rané blastocysty. U zvířat ošetřených anti-PMMSG sérem bylo získáno v průměru 17,8 vajíček, z toho 70,2 % embryí, a u kontrolních zvířat 6,9 vajíček, z toho 42,0 % embryí (tab. I). Rozdíly mezi oběma skupinami v počtu získaných embryí vhodných k přenosu byly významné ($P < 0,05$). Rozdíl v reakci ovárií mezi *i.v.* a *i.m.* aplikací anti-PMMSG séra nebyl významný.

Pozoruhodná byla koncentrace 17- β estradiolu v krevní plazmě, která měla u obou skupin charakteristický průběh do šestého dne pokusu, ale zatímco u skupiny ošetřené anti-PMMSG sérem po proběhlé říji poklesla a zůstala nízká, u kontrolní skupiny byl zaznamenán vzestup až do devátého dne pokusu (obr. 1). Analýzou lineární regrese byl stanoven úzký vztah ($r = 0,89$, $P < 0,01$) mezi koncentrací 17- β estradiolu a počtem folikulů, negativní závislost ($r = -0,56$, $P < 0,05$) byla mezi koncentrací estradiolu a počtem získaných embryí (obr. 2). V koncentraci progesteronu a testosteronu nebyly mezi pokusnou a kontrolní skupinou jalovic zjištěny významné rozdíly. Histologickým vyšetřením byla u kontrolní skupiny potvrzena hormonální dysbalance, charakterizovaná přetrvávajícím obrazem hyperestrogenizace. Detailní výsledky testování kozího anti-PMMSG séra a jeho využití při superovulaci skotu uvádějí ve své práci K u m m e r aj. (1980).

DISKUSE

Z fyziologického pohledu je ovulace výsledkem složitých neurohormonálních dějů, v nichž podle současných poznatků dominuje krátkodobé, šest až osm hodin trvající prudké zvýšení koncentrace LH začátkem říje nebo těsně před ní (Swanson a Hafs, 1971). Přibližně 24 hodiny před začátkem říje dosahuje koncentrace estrogenů produk-



2. Vztah mezi koncentrací estradiolu 9. den a počtem získaných embryí 12. až 14. den u pokusných (*) a kontrolních (○) jalovic — The relationship between oestradiol concentration on the 9th day and the number of embryos obtained on the 12th to 14th day in the test (*) and control (○) heifers

vaných Graafovým folikulem vrcholu s následným poklesem, což je podmínkou uvolnění LH na principu pozitivní zpětné vazby. Přihlédneme-li však ke strukturálním a endokrinním poměrům v průběhu stimulace superovulace, kdy dochází k překotnému růstu a zrání stále nových populací folikulů na ováriích, je zřejmé, že je vyšší pravděpodobnost výskytu časové dysharmonie výše popsaných dějů podmiňujících ovulaci. Časové poruchy ovulace mohou být vyvolány rozdíly v počtu a afinitě receptorů pro LH granulózních a thekálních buněk jednotlivých vývojových stadií folikulů.

Snahy o optimalizaci superovulace se soustřeďovaly především na substituci LH aplikací vyšších dávek hCG v první polovině říje. Tímto ošetřením lze dosáhnout poměrně solidního ovulačního efektu, mnohdy však s dvěma a více vlnami ovulací. Kvalita získaných vajíček je potom často snižena, jak ukázaly i naše zkušenosti získané při společných experimentech dočasného mezinárodního kolektivu RVHP. Uspokojivé výsledky nepřinesly ani snahy o uvolnění LH aplikací estrogenů.

Syntéza a později komerční výroba GnRH přinesla s sebou naději na jeho využití, mimo jiné i při superovulaci skotu. Dosavadní výsledky nejsou jednoznačné, nebo jsou zcela bez efektu, což dokládá Newcombova (1980) práce u krav a naše výsledky u jalovic. Naproti tomu Riedel aj. (1980) referují o užití GnRH u prepubertálních jalovic čtyři až osm měsíců starých, kdy i.v. aplikací 1 mg GnRH dosáhli ovulační míry srovnatelné s účinkem 6000 m.j. hCG. Nedostatkem metod vycházejících mnohdy neoprávněně z předpokladu insuficience LH je neznalost aktuálních endokrinních poměrů v organismu a stavu buněčné integrity folikulárního systému. Exogenně podané přípravky navozují dále hormonální dysbalanci (estrogeny), nebo při podání v nevhodnou dobu se minou účinku (hCG, GnRH).

Na základě rozsáhlých studií o fyzikálně-chemických, biochemických a biologických vlastnostech a účincích PMSG se v současné době předpokládá, že převážná část neúspěchů při superovulaci je způsobena příliš dlouhým biologickým poločasem rozpadu PMSG, který je možno ještě za 10 až 12 dnů po aplikaci prokázat v krvi. Důsledkem tohoto prolongovaného účinku je pokračující nárůst nových kategorií folikulů, jež jsou zdrojem vysokých koncentrací estrogenů v krvi ještě dlouhou dobu po ovulaci a způsobují hyperestrogenizaci se všemi negativními důsledky, zejména na oplození vajíček a na další vývoj embryí.

Z těchto nových pohledů je rychlá blokáda účinku PMSG při začátku říje anti-PMSG sérem racionálním a snad i kauzálním řešením poruch při superovulaci. Použitím kozího anti-PMSG séra bylo dosaženo ve všech sledovaných ukazatelích podstatně lepších výsledků ve srovnání s kontrolní skupinou. Nejcenějším ukazatelem je zisk významně vyššího počtu kvalitních embryí, převyšujícího průměr špičkových zahraničních pracovišť, nepochybně v důsledku nízké četnosti perzistujících a dorůstajících folikulů po proběhlé superovulaci. U zvířat s přetrvávající hyperestrogenizací, potvrzenou koncentracemi 17- β estradiolu v periferní krvi a histologickým vyšetřením cílových orgánů, byl počet embryí významně nižší.

Výsledky experimentu potvrdily časové omezení účinku PMSG, zřejmě ze synchronizace ovulací, minimálního počtu folikulů a snížené produkce estrogenů po superovulaci u jalovic ošetřených anti-PMSG sérem. Omezením pokračujícího růstu folikulů lze navíc předpokládat

pozitivní efekt anti-PMSG séra při opakovaných superovulacích u vysoce hodnotných plemenic, při kterých se o snížené úrovni ovulací diskutuje v souvislosti s vyčerpáním stimulačně schopné folikulární zásoby ovaríí (Saumande a Chupin, 1977). V tomto směru by mohlo anti-PMSG sérum přispět k racionální exploataci folikulárního systému donorů.

Literatura

- BINDON, B. M. — PIPER, L. R.: Induction of ovulation in sheep and cattle by injections of PMSG and ovine anti-PMSG immune serum. *Theriogenology*, 4, 1977, s. 171.
- BOOTH, W. D. — NEWCOMB, R. — STRANGE, H. — ROWSON, L. E. A.: Plasma oestrogen and progesterone in relation to superovulation and egg recovery in the cow. *Vet. Rec.*, 97, 1975, s. 366-369.
- CASIDA, L. E. — MEYER, R. K. — McSHANE, W. H. — WISNICKY, W.: Effects of pituitary gonadotropins on the ovaries and the induction of superfecundity in cattle. *Am. J. vet. Res.*, 4, 1943, s. 76.
- DICKMANN, Z.: Shedding of the zona pellucida. In: *Advances in reproductive physiology*. Ed. McLaren, A., 1969, Vol. 4, s. 187.
- DHONDT, D. — BOUTERS, R. — SPINCEMAILLE, J. — CORYN, M. — VAN DEPLASSCHE, M.: The control of superovulation in bovine with a PMSG-antiserum. *Theriogenology*, 9, 1978, č. 6, s. 529-534.
- ELSDEN, R. P. — NELSON, L. D. — SEIDEL, G. E.: Superovulating cows with follicle stimulating hormone and pregnant mare's serum gonadotrophin. *Theriogenology*, 9, 1978, č. 1, s. 17-26.
- HAHN, J. — HAHN, R. — LUHMANN, F. — BAUMGÄRTNER, G. — LORRMANN, W. — ZODER, H. F.: Ergebnisse der Superovulation bei Färsen nach kombinierter PMSG/PGF 2 alfa — Behandlung. *Berl. Münch. tierärztl. Wschr.*, 89, 1976, s. 89-93.
- HARPER, H. J. K. — CHANG, M. C.: Some aspect of the biology of mammalian eggs and spermatozoa. In: *Advances in reproductive physiology*. Ed. Bishop, M. W. H., 1971, Vol. 5, s. 167.
- KUDLÁČ, E. — KOZUMPLÍK, J. — VINKLER, A. — HRIVNÁK, J.: Superovulace a konzervativní získávání raných embryí u krav. *Veterinářství*, 29, 1979, č. 4, s. 158-163.
- KUMMER, V. — ZRALÝ, Z. — HOLČÁK, V. — VĚŽNÍK, Z. — SCHLEGELOVÁ, J. — HRUŠKA, K.: Superovulation in cattle: effect of goat anti-PMSG serum. *Theriogenology* (v tisku).
- NEWCOMB, R.: Investigation of factors affecting superovulation from lactating British Friesian cows. *Vet. Rec.*, 108, 1980, č. 3, s. 48-51.
- RIEDEL, B. — ROMMEL, P. — UMLAUFT, K.: Ergebnisse klinischer Befunderhebung bei der Superovulation und Eizellgewinnung beim präpuberalen Rind. *Mh. VetMed.*, 35, 1980, č. 4, s. 134-138.
- SAUMANDE, J.: Induction d'une superovulation dans l'espèce bovine. Caractéristiques de l'agent stimulant. Effet sur croissance folliculaire. Traitements utilisés. Conséquences hormonales. *Annls Méd. vet.*, 121, 1977, s. 449-477.
- SAUMANDE, J. — CHUPIN, D.: Superovulation: a limit to egg transfer in cattle. *Theriogenology*, 7, 1977, s. 141-149.
- SEIDEL, G. E. — ELSDEN, R. P. — NELSON, L. D. — BOWEN, R. A.: Superovulation of cattle with PMSG and FSH. In: SREENAN, J. M.: CEC Semin. Control of reproduction in the cow. Galway, 1977, s. 159-168.
- SCHAMS, D. — MENZER, CH. — SCHALLENBERGER, E. — HOFFMANN, B. — PROKOPP, A. — HAHN, B. — HAHN, R.: Superovulation beim Rind: Hormonprofile bei Stimulation mit Serumgonadotrophin PMSG bzw. hypophysären FSH. *Zuchthygiene*, 14, 1979, s. 11-25.

STOCKELL HARTREE, A.: Structure of gonadotrophins as related to function. In: GRIGHTON, D. B. — HAYENS, N. B. — FOXCROFT, G. R. — LAMMING, G. E.: Control of ovulation. London, Butterworths 1978, s. 91-99.

SWASON, L. V. — HAFS, H. D.: LH and prolactin in blood serum from estrus to ovulation in Holstein heifers. J. Anim. Sci., 33, 1971, s. 1038-1041.

Došlo dne 23. 4. 1981

КУММЕР, В. — ЗРАЛЫ, З. — ГОЛЧАК, В. — ВЕЖНИК, З. — ЩЕГЕЛОВА, Я. — ГРУШКА, К. (Научно-исследовательский институт ветеринарии, Брно): Регулирование суперовуляции у коров с помощью антител против сывороточного гонадотропина. Vet. Med., Praha, 26, 1981 (8) : 449-456.

Испытывали действие GnRH (Лулиберин) и козьей анти-PMSG сыворотки, приготовляемой в упомянутом институте для суперовуляции коров, обработанных PMSG и Эструматом. GnRH не дал положительного результата по сравнению с контролем. Благодаря анти-PMSG сыворотке, спустя 5 час. после ожидаемого начала охоты (46—53 час. после первой дачи Эструмата) добились сокращения продолжительности охоты по сравнению с контролем (25,8 и 51,3 час.), увеличения числа овуляций (22,1 и 18,0 и сокращения числа фолликулов (4,1 и 22, 3). От подопытных нетелей получили в среднем по 17,8 яиц, в том числе 12,5 качественных эмбрионов, а от контрольных — по 6,9 яиц, в том числе 2,9 эмбриона. Результаты убедительно говорят в пользу козьей анти-PMSG сыворотки и процессе суперовуляции коров.

GnRH (Лулиберин); козья анти-PMSG сыворотка; Эструмат, нетели; продолжительность охоты; число овуляций; число фолликулов

KUMMER, V. — ZRALÝ, Z. — HOLČÁK, V. — VĚŽNÍK, Z. — SCHLEGELOVÁ, J. — HRUŠKA, K. (Veterinary Research Institute, Brno): Influencing the Superovulation of Cattle with the Antibody to Serum Gonadotropin. Vet. Med., Praha, 26, 1981 (8) : 449-456.

The effectiveness of GnRH (Luliberin) and goat anti-PMSG serum prepared at the Veterinary Research Institute, Brno, was studied during the superovulation of heifers treated with PMSG and Estrumate. The use of GnRH did not exert any positive influence on superovulation, as compared with the control group. When anti-PMSG serum was administered five hours from the determined beginning of oestrus (46—53 hours from the first administration of Estrumate), the length of oestrus was reduced in comparison with the control group (25.8 and 51.3 h), the number of ovulations increased (22.1 and 18.0) and the number of follicles decreased (4.1 and 22.3). The tested heifers produced 17.8 ova, on an average, out of which 12.5 were good-quality embryos. The control heifers produced 6.9 ova including 2.9 embryos. The obtained results provide convincing evidence of the promising results of the use of goat anti-PMSG serum during the superovulation of cattle.

GnRH (Luliberin); goat anti-PMSG serum; Estrumate; heifers; length of heat; number of ovulations; number of follicles

KUMMER, V. — ZRALÝ, Z. — HOLČÁK, V. — VĚŽNÍK, Z. — SCHLEGELOVÁ, J. — HRUŠKA, K. (Forschungsinstitut für Veterinärmedizin, Brno): Beeinflussung der Superovulation durch Antikörper gegen das Serum-Gonadotropin beim Rind. Vet. Med., Praha, 26, 1981 (8) : 449-456.

Wir überprüften die Wirksamkeit des aus dem Forschungsinstitut für Veterinärmedizin in Brno stammenden GnRH (Luliberin) und des Ziegen-PMSG-Antiserums auf die Superovulation von Färsen, die mit PMSG und Estrumate behandelt wurden. Durch die GnRH-Applikation wurde, im Vergleich zur Kontrollgruppe, keine positive Bewirkung erzielt. Durch Verabreichung des PMSG-Antiserums fünf Stunden nach dem festgelegten Brunstbeginn (46—53 Stunden nach der ersten Estrumate-Applikation) wurde im Vergleich zu der Kontrollgruppe eine Verkürzung der

Brunstdauer (25,8, bzw. 51,3 Std.), eine Erhöhung der Ovulationsanzahl (22,1, bzw. 18,0) und ein Rückgang der Follikelanzahl (4,1, bzw. 22,3) erzielt. Bei den Versuchsfärsen wurden im Durchschnitt 17,8 Eizellen, davon 12,5 vollwertige Embryonen gewonnen, während es bei den Kontrollfärsen 6,9 Eizellen, davon 2,9 vollwertige Embryonen waren. Die erzielten Ergebnisse weisen überzeugend auf perspektivische Aussichten der Applikation des Ziegen-PMSG-Antiserums bei der Superovulation beim Rind hin.

GnRH (Luliberin); Ziegen-PMSG-Antiserum; Estrumate; Färsen; Brunstdauer; Ovulationsanzahl; Follikelanzahl

Adresa autorů:

MVDr. Vladimír Kummer, CSc., MVDr. Zdeněk Zralý, MVDr. Vlastimil Holčák, MVDr. Zdeněk Věžník, CSc., RNDr. Jarmila Schlegelová, doc. MVDr. Karel Hruška, CSc., Výzkumný ústav veterinárního lékařství, Hudcova 70, 621 32 Brno

VIRUS SLIZNIČNÍ CHOROBY JAKO PŘÍČINA ENZOOTICKÝCH ABORTŮ V CHOVECH SKOTU V ČSSR

J. Menšík, Z. Pospíšil, J. Machatý

MENŠÍK, J. — POSPÍŠIL, Z. — MACHATÝ, J. (Výzkumný ústav veterinárního lékařství, Brno): *Virus slizniční choroby jako příčina enzoootických abortů v chovech skotu v ČSSR*. Vet. Med., Praha, 26, 1981 (8) : 457-468.

Jako příčina enzoootických abortů byl na několika farmách skotu prokázán virus bovinní virové diarrhoey — slizniční choroby (BVD-MD). Z orgánů různě starých abortovaných plodů a předčasně narozených telat bylo izolováno celkem pět necytopatogenních kmenů viru BVD-MD, které byly identifikovány přímou imunofluorescenční technikou. Stejnou metodou byl virový antigen prokázán také v orgánech a tkáních předčasně nebo i v termínu narozených bezkolostrálních telat. Účast viru BVD-MD na vzniku abortů byla potvrzena nepřímo průkazem virusneutralizačních protilátek v sérech krav a jalovic, v pre-kolostrálních sérech novorozených telat a v tělních tekutinách abortovaných plodů. Diskuse se zabývá významem BVD-MD jako příčinou enzoootických abortů, fetálních malformací a rané postnatální mortality telat.

virus bovinní virové diarrhoey — slizniční choroby; skot; izolace; potrat; předčasně narozená telata

Výskyt bovinní virové diarrhoey — slizniční choroby (BVD-MD), která byla poprvé popsána Olafsonem aj. [1946], byl potvrzen v celé řadě zemí. Nákaza měla zpočátku, když byla poprvé diagnostikována, zpravidla epizootický charakter, v současné době se však vyskytuje převážně jako enzootie, probíhající často inaparentně, s občasnými sporadickými manifestacemi akutního celkového onemocnění mladých zvířat s letálním koncem, nebo jako enterální syndrom s mírným nebo i zhoubným průběhem (Kahrs, 1971). V této podobě byla slizniční choroba prokázána i v ČSSR (Žuffa aj., 1972; Vrtiak aj., 1974; Pospíšil aj., 1975; Čepica aj., 1975).

Jako další forma klinické manifestace slizniční choroby u březích zvířat byly popsány aborty a různé kongenitální anomálie fétů po intrauterinní infekci (Ward, 1969; Scott aj., 1970, 1973; Kahrs, 1973). Jejich etiologie byla opakovaně potvrzena izolací cytopatogenních i necytopatogenních kmenů viru (Gillespie, aj., 1967; Shope, 1968; Scott aj., 1972), nebo průkazem protilátek u fétů nebo novorozených telat (Kahrs, 1973).

I když je již známo asi 14 virů, které mohou infikovat hovězí placentu nebo plod (Hubert aj., 1973), jsou údaje o hromadném enzoootickém nebo epizootologickém výskytu abortů a kongenitálních malformací v souvislosti s virovou infekcí v literatuře jen ojedinělé; popisují buď aborty postvakcinační (Mitchell, 1974; Bittle a House, 1973),

nebo se zmiňují převážně jen o sporadických případech po přirozené nebo experimentální infekci (Kahrs, 1973; Scott aj., 1970; Ward aj., 1969).

Enzootický výskyt kongenitálních anomálií s převahou hydrocefalu po infekci virem bluetongue popsali (Mc Kercher aj. 1979) a o rozsáhlém vzplanutí kongenitálních malformací vyvolaných blíže neurčeným virem referovali Trainin a Meiom (1973). V předložené práci popisujeme případy enzootických abortů etiologicky souvisejících s virem BVD-MD v několika chovech skotu v ČSSR.

MATERIÁL A METODA

EPIZOOTOLOGICKÉ VYŠETŘENÍ A ODBĚR MATERIÁLU

Ve spolupráci s terénní veterinární službou byly evidovány případy abortů, fetálních malformací a porodů slabých, málo životných telat u krav a jalovic v tradičních chovech i ve specializovaných farmách prvotek. Ve všech případech byla zjištěna epizootologická anamnéza se zvláštním zřetelem na zdravotní stav novorozených telat a mladého skotu.

K laboratornímu vyšetření byla vybírána novorozená bezkolostránní telata, čerstvě abortované plody a novorozená telata se zjevnými malformacemi. Živá telata byla vykrvena, krev a tělní tekutiny (transsudát pleurální a peritoneální a obsah slezu) byly odebírány k sérologickému vyšetření. K pokusům o izolaci viru byly sterilně odebírány vzorky sleziny, jater, plic, kostní dřeně, mizních uzlin, thymu, mozku a mozečku, obsah slezu a střev, popřípadě i části placenty.

K imunofluorescenčnímu vyšetření byly získávány vzorky sleziny, mezenterálních mizních uzlin, plic, ledvin, jater, jícnu a střev.

IZOLACE A IDENTIFIKACE VIRU

K izolaci viru byly použity primární buněčné kultury fetálních bovinních ledvin a varlat, kultivované v Hanksově médiu s 10 % telecího séra, 0,5 % LAH a 0,1 % kvasničného extraktu. Souvislý buněčný porost ve zkumavkách byl infikován dávkou 0,1 ml vyšetřované 10% orgánové suspenze.

Po jednod hodinové adsorpci inokula na holém buněčném porostu byly kultury doplněny Earlovým médiem bez séra a inkubovány při teplotě 37 °C sedm až osm dní. Pro průkaz viru BVD byly kromě toho používány subpasáže fetální bovinní thyreoidey, pěstované v médiu MEM s přidávkou 10 % fetálního bovinního séra (FS). Jako udržovací médium bylo použito médium MEM bez FS a inokulace probíhala rovněž při teplotě 37 °C sedm až devět dní.

Infikované kultury nebo Roux-láhve byly denně prohlíženy, kultury s vytvořeným CPE byly sklizeny a zmrazeny a použity k další pasáži. Kultury bez CPE byly po čtyřech pasážích podrobeny imunofluorescenčnímu vyšetření s cílem detekce a identifikace necytopatogenních izolátů.

Izolované kmény byly identifikovány křížově virusneutralizačním testem při použití specifických antisér proti sbírkovým kmenům viru IBR (R-6), viru PI-3 (T1/59), viru BVD-, kmenu NADL a antisér připravených proti nově izolovaným kmenům.

SÉROLOGICKÉ VYŠETŘENÍ

Protilátky proti viru BVD v krevních sérech krav, v prekolostrálních sérech novorozených telat, v krvi a v tělních tekutinách abortovaných plodů byly zjišťovány virusneutralizačním testem v mikrosystému s použitím mikrotitračního zařízení. Mikrotitrační zařízení podle Takátsyho dodává Dynatech, Švýcarsko.

Dvojnásobná stoupající ředění séra v množství 0,05 ml byla smíchána aa s vi-

rovou suspenzí obsahující 100 TKID₅₀ viru. Po jednohodinové inkubaci při pokojové teplotě byla přidána buněčná suspenze v množství 0,05 ml linie bovinních fetálních thyreoidních buněk o hustotě 200 000 buněk v 1 ml v médiu Eagle-MEM s 10 % fetálního bovinního séra.

Pro každé vyšetřované sérum byly připraveny dvě řady sériových ředění. Plotny přikryté polystyrenovými víčky byly inkubovány v atmosféře s 5 % kyslíčků uhlíčitých při teplotě 37 °C a výsledek byl odečítán za čtyři až pět dní. Titr séra určoval pak nejvyšší ředění séra, které ještě inhibovalo CPE alespoň v jedné ze dvou jamek.

IMUNOFLUORESCENČNÍ VYŠETŘENÍ

Buněčné kultury, narostlé na krycích sklíčkách ve zkumavkách a sklizené druhý, třetí a čtvrtý den po infekci, byly opláchnuty v čistém udržovacím médiu a po zaschnutí fixovány pět minut ve vychlazeném acetonu. Virus byl prokazován přímou imunofluorescencí s konjugáty, které nám laskavě poskytl doc. A. Žuffa z Biovety, n. p., Nitra.

Virový antigen byl imunofluorescenční technikou prokazován také přímo v tkáňích předčasně narozených nebo v termínu narozených telat s příznaky malformací. Vzorky lymfatických tkání, parenchymatózních orgánů, jícnu a tenkých střev, odebrané ihned po vykrvení, byly zmrazeny při teplotě -70 °C, řezány v kryostatu a barveny specifickými konjugáty proti viru BVD a proti viru IBR, vyráběnými Biovetou, n. p., Nitra.

VÝSLEDKY

CHARAKTERISTIKA NÁKAZY V MÍSTECH VÝSKYTU

Lokalita P.

V listopadu 1974 proběhlo u starších telat a mladého skotu průjmové onemocnění, jehož vznik byl přičítán zkrmování nadměrného množství řepného chrástu. Průjmem onemocněly v lednu 1975 i krávy a jalovice. Jedna jalovice šest měsíců březí, nakoupená z malochovu, byla v akutním stadiu za tři dny po vzniku onemocnění nutně poražena. Potraty začaly v měsíci lednu, zpočátku sporadicky, později měly již enzootický charakter (tab. I).

I. Počet abortů na farmách P, K, S — The number of abortions on farms P, K, S

Farma	Rok	Měsíc											
		I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	IX	X	XI	XII
P	1974	nesledováno									0	0	1
	1975	4	7	11	9	2	6	8	4	0	0	1	0
K	1974	nesledováno								0	1	5	4
	1975	9	1	2	1	3	5	1	0	1	0	0	0
S	1975	1	0	0	0	0	2	0	9	8	7	6	6
	1976	7	8	7	9	4	4	2	1	0	0	0	0

Lokalita O.

Na farmě onemocněla 29. 12. 1974 za příznaků profúzního průjmu jedna kráva a pro těžký klinický stav byla hospitalizována; po bezvýsledné léčbě musela být 1. 1. 1975 poražena.

Za stejných příznaků onemocněla v posledním lednovém týdnu druhá kráva, která už měla zřetelně hemoragická féces. Předčasně porodila 7. 2. 1975 a tele přežilo. V téže době byla nemocná další kráva, která předčasně porodila dvojčata. Obě telata přežila, kráva uhynula. Nutnou porážkou po otelení skončilo ještě onemocnění další krávy a poslední nemocná kráva onemocnění přežila a otelila se normálně. Sporadické potraty se objevily v prosinci r. 1974, pokračovaly v lednu 1975 a pak se rozrostly do hrozivých rozměrů.

Zatímco v první fázi enzootie nebyly na abortovaných plodech patrné anomálie, byl konec enzootie poznamenán častým výskytem malformovaných plodů (hydrocefalus, zkrácení čelisti, hypoplazie mozečku, hypoplazie mízních uzlin). Rodila se také telata málo životná, která hylnula brzy po narození, ale i telata zdravá.

Lokalita K.

První sporadické případy zmetání se objevily na farmě, na které bylo 430 krav a 220 jalovic, v září 1974. Jejich etiologie byla připisována dietetickým chybám. S větší intenzitou pokračovaly ještě v r. 1975 a koncem roku 1975 zmetání postupně přestalo (tab. I). Dne 12. 1. 1976 byla převezena do centrálního teletníku pro 100 telat na jiné farmě dvě telata s hlenovitým hnědočerveným průjmem. Jedno z nich bylo v těžkém klinickém stavu nutně poraženo. Průjmy se pak objevovaly sporadicky i u starších telat v teletníku a byly provázeny zvýšeným hynutím. Ztráty telat se stupňovaly a ve druhém pololetí 1976 uhynulo ještě dalších 17 telat, 14 bylo nutně odporaženo.

Zatímco v lokalitách P. a O. předcházelo vzniku abortů průjmové onemocnění mladého i dospělého skotu, byl v lokalitě K. syndrom abortů prvním projevem nákazy. Zhoršení zdravotního stavu telat s výskytem průjmů a zvýšeným hynutím bylo zaznamenáno v lokalitách O. a K. Obdobný průběh nákazy jsme měli možnost sledovat ještě v dalších třech lokalitách této oblasti.

Lokalita H.

V únoru a březnu 1975 byly krávy a jalovice postiženy průjmovým onemocněním, které mělo za následek citelný pokles doживosti a které bylo údajně způsobeno špatným krmivem. Po odeznění průjmu u krav a jalovic onemocněli býci v žíru. U býků mělo onemocnění akutní průběh a bylo provázeno silným výtokem z nosu a očí, sliněním a kašlem. Jeden býk uhynul, dva další byli urychleně poraženi. Po uzdravení byli mladší býci odsunuti a ve stáji zůstali starší jedinci k dokrmení do jatečné hmotnosti. Do vyprázdněné části stáje byly bez dezinfekce převedeny koncem dubna a začátkem května březí jalovice, které byly shodou okolností umístěny na stání, na kterých probíhalo onemocnění býků velmi prudkou formou a skončilo ve třech případech uhynutím nebo odporažením. První vysokobřeží jalovice zmetala 12. června 1975 a za období od

června 1975 do března 1976 potratilo 18 jalovic a sedm krav. Jeden potrat u krávy a jeden u jalovice skončil nutnou porážkou.

Lokalita S.

K 1. 1. 1975 se v rámci kooperace zvýšila koncentrace zvířat, takže z původních 450 krav stoupl jejich počet na 1350. Současně bylo nutno přistoupit na otevřený obrat stáda.

Na farmě S., kde bylo průměrně 450 krav, potratily v době od 1. 1. 1975 do 30. 7. 1975 pouze tři krávy. V srpnu 1975 však bylo zaznamenáno devět potratů a aborty se objevovaly přibližně ve stejném rozsahu až do dubna 1976 (tab. I). Během této doby byly zjištěny tři případy malformací plodů — dvakrát silná brachygnathie, jednou palatoschiza.

Obdobný byl průběh nákazy v lokalitě J. v této oblasti.

II. Kmeny viru BVD-MD izolované z abortovaných fétů na farmách O, K a H — Strains of the BVD-MD virus isolated from aborted fetuses on farms O, K and H

Číslo	Farma	Stáří fétu	Orgán	Cytopatogenicitá
1	O	7 měsíců	plíce, játra, mozek	CPE —
2	O	7 měsíců	plíce, játra	CPE —
3	K	6 měsíců	plíce	CPE —
4	K	3 měsíce	játra	CPE —
5	H	6 měsíců	játra	CPE ±

Šest dalších fétů a zbývající orgány tříměsíčních až sedmi měsíčních fétů byly negativní
CPE ± počáteční známky cytopatického efektu
CPE — necytopatogenní

LABORATORNÍ VYŠETŘENÍ

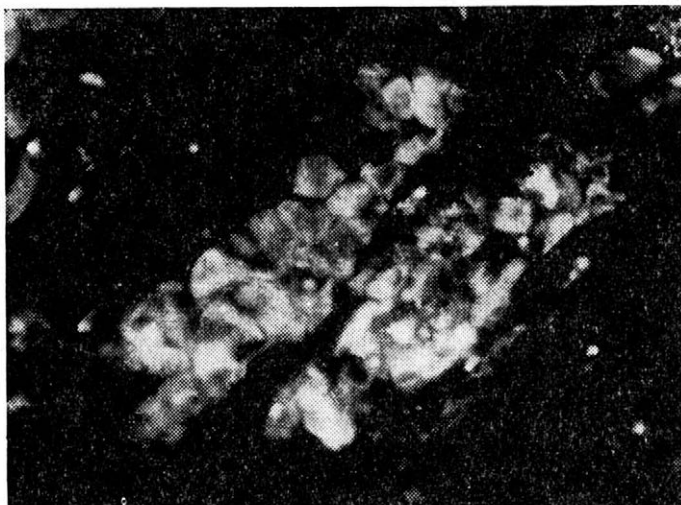
K vyšetření příčin zmetání jsme získali z lokalit O., H. a J. několik abortovaných fétů a novorozená, nedostatečně vyvinutá a málo životaschopná telata ještě před napitím kolostra. Ze všech lokalit jsme měli k dispozici k sérologickému vyšetření krev zmetalek i ostatních krav a jalovic, v některých případech i prekolostrální krev telat.

U některých předčasně narozených telat jsme zjišťovali více nebo méně nápadný teratogenní efekt (obr. 1). Ale i v případech, kdy výrazný teratogenní efekt chyběl, byla při pitvě zjišťována hypoplazie mizních uzlin mezenterálních, aplazie thymu, hypoplazie mozečku a někdy i slepota.

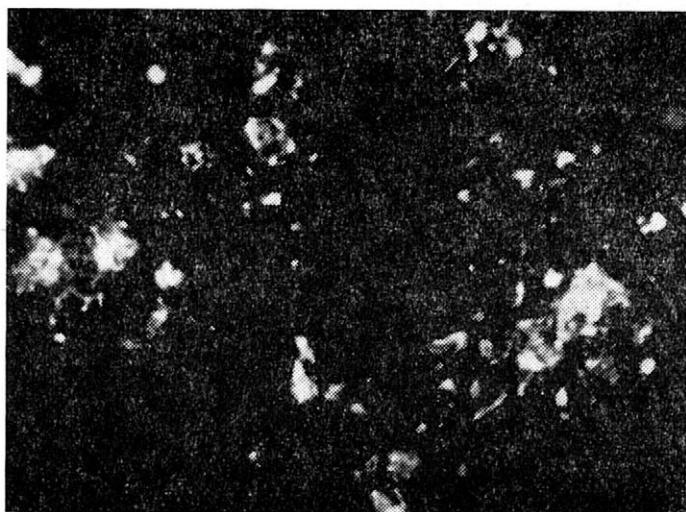
Imunofluorescenčním vyšetřením kryostatových řezů z živých orgánů předčasně narozených telat z lokality O., která nepila kolostrum, byl prokazován virus BVD v cytoplazmě buněk Lieberkühnských krypt a některých buněk *lamina propria mucosae* (obr. 2). Jádra těchto buněk byla vždy negativní. Buňky se specifickou fluorescencí byly rovněž pozorovány v Peyerových placích a mizních uzlinách mezenterálních (obr. 3), kde se však vyskytovaly i buňky s výraznou nespecifickou fluores-



1. *Brachygnathia inferior* u abortovaného fétu — *Brachygnathia inferior* in an aborted foetus



2. Specifická fluorescencce viru BVD-MD v cytoplasmě buněk Lieberkühnských krypt a buněk *lamina propria mucosae* u předčasně narozeného telete (X 320) — Specific fluorescence of BVD-MD virus in the cytoplasm of the cells of Lieberkühn's crypts and cells of *lamina propria mucosae* in a prematurely born calf (X 320)



3. Specifická fluorescencce viru BVD-MD v buňkách mezenterálních mizních uzlin předčasně narozeného telete (X 120) — Specific fluorescence of BVD-MD virus in the cells of mesenterial lymph nodes in a prematurely born calf (X 120)

4. Specifická fluorescence viru BVD-MD v erozích jícnu předčasně narozeného telete (X 120) — Specific fluorescence of BVD-MD virus in the erosions in the oesophagus of a prematurely born calf (X 120)



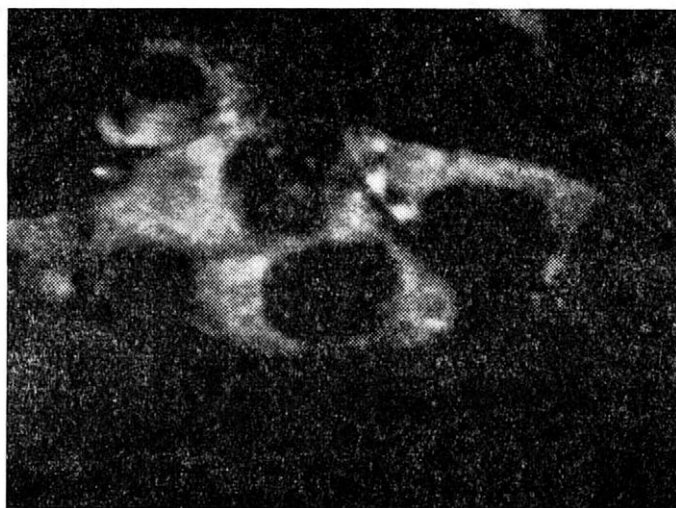
cenci. Specifická fluorescence byla zjištěna i ve slizničních erozích jícnu (obr. 4). Kontrolní vyšetření s konjugáty proti virům IBR a PI-3 bylo negativní.

IZOLACE VIRU

K izolačním pokusům byly použity vzorky orgánů tříměsíčních a sedmiměsíčních fétů. Vesměs necytopatogenní kmeny viru BVD byly izolovány na primárních buněčných kulturách bovinních fetálních ledvin z plic, jater, sleziny, mízních uzlin mezenterálních a mozečku. Všechny izolované kmeny byly identifikovány imunofluorescencí.

Imunofluorescenčním vyšetřováním buněčných kultur telecích ledvin infikovaných našimi izoláty byla zjišťována specifická fluorescence nejdříve ve formě jasně žlutozelených granul v perinukleární zóně,

5. Difúzní intracytoplazmatická fluorescence v buněčné kultuře fetálních telecích ledvin za tři dny po infekci virem BVD-MD izolovaným u telete z farmy O (X 640) — Diffuse intracytoplasmatic fluorescence in the cell culture of foetal calf kidneys three days from infection with the BVD-MD virus, isolated from a calf coming from farm O (X 640)



později byla pozorována difúzní intracytoplazmatická fluorescence (obr. 5).

Přehled izolovaných kmenů je uveden v tab. II.

III. Výsledky sérologického vyšetření skotu na farmách P a O — The results of the serological examination of cattle on farms P and O

Farma	Kategorie zvířat	Počet zvířat s odpovídajícími virusneutralizačními titry				
		2	2–16	32–128	256	celkem
P	krávy	0	0	18	8	26
	jalovice	3	0	26	2	31
O	krávy	4	3	6	12	25
	jalovice	54	1	4	0	59

Ve všech sledovaných lokalitách byla slizniční choroba prokázána také sérologicky. Virusneutralizační protilátky byly nalezeny v sérech krav a jalovic (tab. III a IV) i v prekolostrálních sérech jejich telat a abortovaných plodů. V ojedinělých případech byly protilátky prokázány v prekolostrálních sérech telat od sérologicky negativních matek.

IV. Průkaz virusneutralizační protilátky proti viru BVD-MD v prekolostrálním telecím séru a v séru matky — Demonstration of the virus-neutralization antibody to the BVD-MD virus in pre-colostral calf serum and in the cow's serum

Farma	Číslo zvířete	Protilátkový titr	
		matka	tele
O	46994	2	2
	47030	32	64
	15854	2	2
	61479	128	64
	66656	2	16
	29045	256	2
	66592	256	2
	66616	2	16
P	66850	256	2
	66892	256	2
	63200	256	128
	45324	256	128
	38935	256	2

7. Průkaz virusneutralizační protilátky proti viru BVD-MD v tělních tekutinách abortovaných fétů — Demonstration of the virus-neutralization antibody to the BVD-MD virus in the body fluids of aborted fetuses

Fétus č.	Titry protilátek		
	hrudní	peritoneální	slezová
1	2	64	4
2	2	2	128
3	2	2	64
4	NT	NT	8
5	16	64	8
6	NT	64	NT

NT — netestováno

PROFYLAKTICKÁ OPATŘENÍ

Po stanovení diagnózy byla ve všech případech doporučena plošná vakcinace živou, oslabenou vakcínou z Biovety, n. p., Nitra. Aborty ustaly do dvou měsíců po revakcinaci a zlepšil se i celkový zdravotní stav telat.

ZHODNOCENÍ VÝSLEDKŮ A DISKUSE

Schopnost viru BVD pronikat do březího uteru a infikovat plod v různém stadiu jeho vývoje byla potvrzena experimentálně. Tak např. po intravenózní infekci krav tři až pět měsíců březích došlo k odumření plodů, jejich mumifikaci a abortu (Scott aj., 1973), zatímco krávy infikované v rozmezí 150 až 217 dní gravidity rodily v termínu (Ward aj., 1969). U telat narozených v termínu byly však často pozorovány léze na bukalní sliznici, ataxie, defekty oční a poškození mozku (Scott aj., 1973).

Na experimentální intrauterinní infekci plodu virem BVD poukazovaly nejen četné izolace cytopatogenních i necytopatogenních kmenů viru z různých tkání abortovaných fétů (Gillespie aj., 1967; Scott aj., 1972), ale i průkaz protilátek u novorozených telat, která nepila kolostrum (Kahrs aj., 1971). Podobné nálezy jsou popisovány u sporadických případů abortů nebo normálních porodů v přirozených podmínkách výskytu nákazy (Kahrs aj., 1970).

V chovech, ve kterých jsme prokázali virus BVD jako příčinu abortů a fetálních malformací, měla nákaza charakter prudce vzplanuvší enzo-otie. Souvislost abortů s jinými klinickými projevy nákazy se podařilo zjistit v některých případech po pečlivé analýze anamnestických údajů. Ukázalo se totiž, že průjmové onemocnění telat a mladého skotu např. v lokalitách P. a O., k němuž došlo v deštivém podzimním období roku 1974, kde byl zkrmován znečištěný řepný chrást, byla vlastně prudká enterální forma slizniční choroby, která vzplanula v průběhu trvalých dietetických nedostatků. Její manifestace i u krav a jalovic poukazuje na vysoký stupeň virulence viru a na masívní rozšíření infekce.

Obdobná byla historie nákazy i v lokalitě H. Naproti tomu v lokalitách K. a S. byly aborty prvním klinickým projevem nákazy a zvýšená nemocnost a mortalita telat byla zaznamenána teprve v průběhu enzootie.

Charakteristickým rysem většiny námi sledovaných enzootií byl převládající výskyt abortů a předčasně odumřelých plodů na začátku enzootie a četné porody defektních, malformovaných plodů nebo málo životných, ale v termínu narozených telat ke konci enzootie.

Změny a defekty, které jsme na fétech a novorozených telatech zjišťovali, odpovídají nálezům popsáným Wardem aj. (1969), Kahrssem aj. (1971), Kendrickem (1971) a Scottem aj. (1973) u experimentálních a sporadicky se vyskytнуvších případů po přirozené infekci. Enzootický průběh BVD s převažujícím syndromem abortů a fetálních malformací v takovém rozsahu, jako jsme měli možnost sledovat v našich případech, je v historii slizniční choroby ojedinělý. Připomíná enzootie kongenitálních anomálií po infekci virem bluetongue (Mc Kercher aj., 1970) a jiné, způsobené blíže neurčeným virem (Trainin a Meiom, 1973).

Virusneutralizační protilátky v krvi novorozených bezkolostrálních telat, stejně tak jako v krvi abortovaných plodů, byly nalézány v těch případech, kdy došlo k infekci v době vyžívání imunitního systému (Kahrs aj., 1970; Kendrick, 1971; Ward aj., 1969). Proto je jejich nález nepřímým dokladem o intrauterinní infekci plodu, která však nemusí být vždy příčinou abortu. Námi s úspěchem použitá metoda detekce virového antigenu přímo v orgánech a tkáních novorozeného bezkolostrálního telete může být jako metoda přímého průkazu viru použita v diagnostice nákazy. Rychlá a přesná diagnóza je první podmínkou její úspěšné prevence a tlumení.

Ve všech námi popisovaných případech vzplanutí enzootických abortů se osvědčila plošná vakcinace krav a jalovic živou nepatogenní vakcínou vyráběnou v Biovetě Nitra. Vakcína může být bez nebezpečí komplikací použita v ohnisku nákazy i u březích zvířat. Nástup postvakcinační imunity se projevil postupným vymizením abortů a v případech, kdy byl virus příčinou vysoké nemocnosti a mortality novorozených telat, zlepšily se i výsledky odchovu. Podle našich zkušeností je zřejmé, že solidní celková imunita, která se vyvine po dvojí aplikaci vakcíny, zabrání infekci plodů a jejich poškození ve značném počtu případů. Předpokládáme však, že nejúčinnějším preventivním opatřením zůstává ochrana zdravých chovů před zavlečením nákazy.

Literatura

- BITTLE, J. L. — HOUSE, J. A.: Comments on bovine viral diarrhea vaccine reactions. J. Am. vet. med. Ass., 163, 1973, s. 878-879.
ČEPICA, A. — MENŠÍK, J. — POSPÍŠIL, Z. — ŘEZNÍČEK, P.: Izolace a identifikace viru bovinní virové diarrhoey — slizniční choroby (BVD-MD). Vet. Med., Praha, 20, 1975, s. 569-581.
GILLESPIE, J. — BARTOLOMEW, R. — THOMSON, P. — McENTEE, K.: Isolation of non-cytopathic virus diarrhea virus from two aborted bovine fetuses. Cornell Vet., 57, 1967, s. 564-571.
HUBBERT, W. T. — BRYNER, J. H. — FERNELIUS, A. L. — FRANK, G. H. — ESTES, P. C.: Viral infection of the bovine fetus and its environment. Arch. ges. Virusforsch., 41, 1973, s. 86-98.

- KAHRS, R. F.: Differential diagnosis of bovine viral diarrhea-mucosal disease. J. Am. vet. med. Ass., 159, 1971, s. 1383-1386.
- KAHRS, R. F.: Effects of bovine viral diarrhea on the developing fetus. J. Am. vet. med. Ass., 163, 1973, s. 877-878.
- KAHRS, R. F. — SCOTT, F. W. — DE LAHUNTA, A.: Bovine viral diarrhea-mucosal disease, abortion and congenital cerebellar hypoplasia in a dairy herd. J. Am. vet. med. Ass., 156, 1970, s. 851-857.
- KENDRICK, J. W.: Bovine viral diarrhea-mucosal disease virus infection in pregnant cows. Am. J. vet. Res., 32, 1971, s. 533-544.
- McKERCHER, D. G. — SAITO, J. K. — SINGH, K. V.: Serological evidence of an etiologic role of bluetongue virus in hydrencephaly of calves. J. Am. vet. med. Ass., 156, 1970, s. 1044-1047.
- MITCHELL, D.: An outbreak of abortion in a dairy herd following inoculation with an intramuscular infectious bovine rhinotracheitis virus vaccine. Can. vet. J., 15, 1974, s. 148-151.
- OLAFSON, P. — McCALLUM, A. D. — FOX, F. H.: An apparently new transmissible disease of cattle. Cornell Vet., 36, 1946, s. 205-213.
- POSPÍŠIL, Z. — ROZKOŠNÝ, V. — MENŠÍK, J. — ČEPICA, A. — KREJČÍ, J. — MESÁROŠ, E. — SUCHÁNKOVÁ, A. — MACHATKOVÁ, M. — ŠIŠÁK, F.: Aetiology, epizootiology and prevention of outbreaks of viral infections in calves. (Project Report.) Brno, Veterinary Research Institute 1975.
- SCOTT, F. W. — KAHRS, R. F. — PARSONSON, M. I.: A mummified bovine fetus following experimental bovine viral diarrhea-mucosal disease in a pregnant cow. J. Am. vet. med. Ass., 156, 1970, s. 867.
- SCOTT, F. W. — KAHRS, R. F. — PARSONSON, M. I.: A cytopathogenic strain of bovine viral diarrhea-mucosal disease virus isolated from a bovine fetus. Cornell Vet., 62, 1972, s. 74-84.
- SCOTT, F. W. — KAHRS, R. F. — DE LAHUNTA, A. — BROWN, T. T. — McENTEE, K. — GILLESPIE, J. H.: Virus induced congenital anomalies of the bovine fetus. I. Cerebellar degeneration (hypoplasia), ocular lesions and fetal mummification following experimental infection with bovine viral diarrhea-mucosal disease virus. Cornell Vet., 63, 1973, s. 536-560.
- SHOPE, R. E.: Comments on bovine viral diarrhea-mucosal disease. J. Am. vet. med. Ass., 152, 1968, s. 769.
- TRAININ, Z. — MEIROM, R.: Calf immunoglobulins and congenital malformation. Res. vet. Sci., 15, 1973, s. 1-7.
- VRTIAK, O. J. — BAJOVÁ, V. — POPLUHÁR, L. — GDOVINOVA, A. — VASIL, M. — BORKO, J.: Výskyt slizničnej choroby na východnom Slovensku. Veterinárstvi, 11, 1974, s. 485-487.
- WARD, G. M.: Bovine cerebellar hypoplasia apparently caused by BVD-MD virus. A case report. Cornell Vet., 59, 1969, s. 570-576.
- WARD, G. M. — ROBERTS, S. J. — McENTEE, L. — GILLESPIE, J. H.: A study of experimentally induced bovine viral diarrhea-mucosal disease in pregnant cows and their progeny. Cornell Vet., 59, 1969, s. 526-538.
- ZUFFA, A. — SALAJ, J. — DUŠEK, I. — ČERNÍK, K.: Výskyt protilátok proti vírusom infekčnej bovinej rhinotracheitidy (IBR), parainfluenzy (PI-3) a slizničnej choroby (VDV) v chovoch mladého dobytky v oblasti juhozápadného Slovenska. Vet. Med., Praha, 17, 1972, s. 309-320.

Došlo dne 23. 4. 1981

МЕНШИК, Я. — ПОСПИШИЛ, З. — МАХАТЫ, Й. (Научно-исследовательский институт ветеринарии, Брно): Вирус болезни слизистой оболочки как причина энзоотических аборт у коров в ЧССР. Vet. Med., Praha, 26, 1981 (8): 457-468.

В качестве причины энзоотических аборт на нескольких краевых фермах был установлен вирус бовиной вирусной диареи — болезни слизистой оболочки: BVD-MD. Из органов разновозрастных абортированных плодов и преждевременно рожденных телят изолировали 5 нецитопатогенных штаммов вируса BVD-MD, которые были идентифицированы с помощью непосредственной иммунофлуоресценции. Таким же способом вирусный антиген установлен в органах и тканях телят, рожденных преждевременно или в срок, но не содержащих молозива. Участие вируса BVD-MD в возникновении аборт косвенно подтверждено с помощью доказательства вирусонейтрализующих антител в сыворотках и коров,

и нетелей, в домолозивных сыворотках новорожденных телят и в телесных жидкостях абортировавшихся плодов. В дискуссии, рассматривается значение этого вируса как причина энзоотических абортов, фетальных деформаций и ранней послеродовой смертности телят.

вирус бовинной вирусной диареи — болезни слизистой; крупный рогатый скот; изоляция; аборт; преждевременно рожденные телята

MENŠÍK, J. — POSPÍŠIL, Z. — MACHATÝ, J. (Veterinary Research Institute, Brno): *The Virus of Mucosal Disease as the Causal Agent of Enzoitic Abortions in Cattle Stocks in Czechoslovakia*. Vet. Med., Praha, 26, 1981 (8) : 457-468.

Bovine viral diarrhoea — mucosal disease (BVD-MD) virus was demonstrated on some farms as the causal agent of enzootic abortions in cattle. On the whole, five non-cytopathogenic strains of the BVD-MD virus were isolated from the organs of aborted fetuses of different age and prematurely born calves. The strains were identified by the direct immunofluorescence method. The same method was also used in detecting the virus antigen in the organs and tissues of colostrum deprived prematurely born calves and also calves born at term. The involvement of the BVD-MD virus in the abortions was demonstrated indirectly by detecting virus-neutralizing antibodies in the serum of heifers and cows, in the pre-colostral sera of newly born calves, and in the body fluids of aborted fetuses. The discussion deals with the importance of the BVD-MD virus as a cause of enzootic abortions, foetal malformations and early postnatal mortality of calves.

bovine viral diarrhoea — mucosal disease virus; cattle; isolation; abortion; prematurely born calves

MENŠÍK, J. — POSPÍŠIL, Z. — MACHATÝ, J. (Forschungsinstitut für Veterinärmedizin, Brno): *Das Mucosal-Disease-Virus als Ursache enzootischer Aborte in den Rinder Beständen der ČSSR*. Vet. Med., Praha, 26, 1981 (8) : 457-468.

Als Ursache enzootischer Aborte wurde auf mehreren Rinderfarmen das Virus der bovinen Virusdiarrhoe — Mucosal-Disease (BVD-MD) nachgewiesen. Aus Organen von verschiedenen alten abortierten Foeten und vorzeitig geborenen Kälbern wurden insgesamt fünf nichtzytopathogene Stämme des BVD-MD-Virus isoliert, die mit Hilfe der direkten Immunofluoreszenztechnik identifiziert wurden. Durch dieselbe Methode wurde das Virus-Antigen ebenfalls in Organen und Geweben vorzeitig geborener, oder evtl. auch rechtzeitig geborener jedoch ohne Kolostrum aufzogener Kälber nachgewiesen. Die Beteiligung des BVD-MD-Virus beim Vorkommen der Aborte wurde indirekt durch den Nachweis virusneutralisierender Antikörper in Seren von Kühen und Färsen, in präkolostralen Seren neugeborener Kälber und in den Körperflüssigkeiten der abortierten Foeten bestätigt. In der Diskussion wird die Bedeutung des BVD-MD-Virus als Ursache der enzootischen Aborte, der fetalen Mißbildungen und der zeitigen postnatalen Mortalität der Kälber besprochen.

Virus der bovinen Virusdiarrhoe — Mucosal-Disease; Rind; Isolierung; Abort; vorzeitig geborene Kälber

Adresa autorů:

Doc. MVDr. Jaromír Menšík, CSc., MVDr. Zdeněk Pospíšil, CSc., MVDr. Josef Machatý, Výzkumný ústav veterinárního lékařství, Hudcova 70, 621 32 Brno

MIKROBIÁLNÍ OSÍDLENÍ PREPUCIÁLNÍHO VAKU MLADÝCH BÝČKŮ

J. Mazurová, M. Ryšánek, L. Doubravová, Z. Macháčová, D. Svačinová

MAZUROVÁ, J. — RYŠÁNEK, M. — DOUBRAVOVÁ, L. — MACHÁČOVÁ, Z. — SVAČINOVÁ, D. (Státní veterinární ústav, Pardubice): *Mikrobiální osídlení prepuciálního vaku mladých býčků*. Vet. Med., Praha, 26, 1981 (8) : 469-479.

Sledovali jsme mikrobiální osídlení prepuciálního vaku u skupiny mladých býčků, ustájených v jednom oddělení odchovny pro plemenné býky, ve věku od 2 do 14 měsíců, kdy byli přeřazeni na inseminační stanice. Z běžné mikroflóry byl nejčastěji izolován *Proteus* sp. a *Pseudomonas aeruginosa*. Z dalších mikroorganismů byly zjištěny *E. coli*, nehemolytické a viridující streptokoky, *Staphylococcus epidermidis*, mikrokoky, aerobní sporulující bakterie, saprofytní korynebakterie a gramnegativní nekvasící tyčinky. *Campylobacter fetus* subsp. *fetus* ani ostatní druhy tohoto rodu (*Campylobacter* sp.) nebyly prokázány. Po příchodu býčků do odchovny nebyla mykoplazmata ze sliznice prepucia izolována. Po šestiměsíčním pobytu v kolektivu byla mykoplazmata zjištěna u všech sledovaných zvířat. Izolované kmeny byly identifikovány metodou epiimunofluorescence jako *M. bovis genitalium*.

prepuciální vak; mikroflóra; *Campylobacter* sp.; *Mycoplasma* sp.

Zkušenosti s konzervací ejakulátů býků ukázaly, že jedním ze závažných negativně se uplatňujících činitelů je jejich mikrobiální znečištění. Zdrojem kontaminace jsou při současném poměrně dokonalém způsobu odběru a zpracování ejakulátů převážně mikroorganismy žijící na sliznici prepuciálního vaku. Většina těchto mikroorganismů, kromě některých známých původců nebezpečných nákaz, je pokládána za saprofyty nepatogenní nebo podmíněně patogenní pro skot. Výjimečně se dávají do spojitosti s nespecifickým onemocněním genitálního traktu skotu, popřípadě s jiným onemocněním. Otázka patogenity jednotlivých druhů i kmenů však není zcela jasná. O závažnosti některých mikrobních druhů se často diskutuje také z hlediska hygieny odběru ejakulátů, neboť byl pozorován škodlivý vliv jejich metabolitů na spermie. Hlavním cílem této práce bylo sledovat mikrobiální osídlení prepuciálního vaku mladých býčků od zařazení do odchovny pro plemenné býky po převedení na plemenářské stanice a ověřit možnost kontaminace patogenními a podmíněně patogenními mikroorganismy, včetně mykoplazmat.

Na význam *Pseudomonas aeruginosa* v reprodukci skotu poukazuje již v roce 1949 Goetze, jenž považuje tento mikroorganismus za původce genitálních infekcí.

Rollinson (1949) zjistil *Pseudomonas aeruginosa* u 41 % neplodných býků. Mikroorganismus izoloval z močové roury, semenných váčků a z nadvarlat.

Pseudomonas aeruginosa v prepuciálním vaku býků se sníženou plodností prokázal Gamčík (1959).

Schwerdtner (1961) izoloval *P. aeruginosa* z prepuciálních výplášků 10 % vyšetřovaných býků. Při opakovaných vyšetřeních se prokázalo nosičství u 25 % býků. Při bližším vyšetření nebyly u býků, v jejichž prepuciu byl zjištěn *P. aeruginosa*, rozdíly v kvalitě spermatu, ani patologické změny na sliznici prepucia a na jiných částech pohlavních orgánů, včetně přídatných pohlavních žláz.

O výskytu *P. aeruginosa* ve spermatu a výpláscích z překožkového vaku býků píše Króliński a Obuchowska (1975). U 772 býků sledovali ejakulát a 1499 výplášků prepucia. *P. aeruginosa* se vyskytoval v 5,9 % vzorků spermatu a 18,5 % vzorků výplášků. Překvapivý byl vysoký podíl pozitivních nálezů u býků pocházejících ze státních provozů umělé inseminace.

Króliński (1977a) popisuje také vliv *Pseudomonas aeruginosa* na přežitelnost spermií v ejakulátech býků. Podle výsledků vyšetření se ukázalo, že vliv tohoto mikroorganismu je nepříznivý. Při teplotě 46,5 °C byla přežitelnost spermií v kontaminovaném ejakulátu o 18 minut kratší než u kontrolních nekontaminovaných vzorků. U spermatu uchovávaném při teplotě 4 °C byl tento rozdíl v průměru 47 hodin ve prospěch nekontaminovaných kontrol. Zkrácení doby přežitelnosti bylo vyvoláno zvýšenou koncentrací toxinů, které vznikají při látkové výměně bakterií, nebo při jejich rozpadu po odumření. Intenzita vlivu *P. aeruginosa* na životnost spermií závisela na jeho množství ve spermatu.

Baier aj. (1955) pochybují o patogenitě *P. aeruginosa*. Většina pracovníků nevylučuje patogenitu působení tohoto mikroorganismu, ale domnívá se, že se jedná pouze o některé patogenní kmeny.

Duffy aj. (1975) sledovali 22 herefordské býky z hlediska vzniku nosičství *Campylobacter fetus*. Uvádějí, že dlouhodobé nosičství vznikalo u býků ve věku 40 až 70 měsíců. U mladších býků se občas objevovalo krátkodobé nosičství na dobu 4 až 29 dní.

Bisping (1974) uvádí, že infekce *Campylobacter fetus* je rozšířenější u starších býků než u mladých.

Podle Roslanowského aj. (1972) nebyl *Camp. fetus* u býčků do věku 1,5 roku nalezen.

O skotu jako nosiči *Campylobacter fetus* subsp. *intestinalis* informuje podle výsledků vyšetření Skulin (1975). Sledovaný mikroorganismus se však nepodařilo izolovat z prepuciálních výplášků ani z pohlavních orgánů kastrováných zvířat, nýbrž ze žluče telat a krav.

Izolacemi mykoplazmat z prepuciálního vaku býků se zabývali Jasper aj. (1974), kteří ze 160 vyšetřených zvířat izolovali mykoplazmata ve 133 případech (83 %).

Rovněž Onoviran aj. (1975) izolovali ze 132 prepuciálních výplášků mykoplazmata v 87 případech. Hlavním druhem byly *M. bovirhinalium* a *A. laidlawii*.

Savov a Bečvarová (1976) ve své studii o mykoplazmatech v pohlavních orgánech skotu uvádějí nálezy mykoplazmat vedle *Campylobacter fetus* a některých druhů dalších mikroorganismů ze smegmatu.

MATERIÁL A METODA

POUŽITÉ KMENY A ANTISÉRA A JEJICH PRACOVNÍ OZNAČENÍ

Druh	Kmen podle CCM	Pracovní označení	Antisérum
<i>M. bovirhinalium</i>	M-49	2	2-5-1
	M-62		
	M-69		
<i>A. laidlawii</i>	M-52	3	3-2-2
<i>M. bovirhinalis</i>	M-22	4	4-1-6
<i>M. bovis</i>	M-66	5	5-1-7
<i>A. modicum</i>	M-53	6	6-2-4
<i>M. sp. sk. 7</i>	M-54	7	7-1-1
<i>M. alcalescens</i>	M-55	8	8-1-2
<i>M. arginini</i>	M-43	10	10-1-4

K testaci medií pro záchyt mikroorganismů rodu *Campylobacter* byl použit kmen *Campylobacter fetus* sp. *fetus* CCM 5994.

KULTIVAČNÍ MEDIA

K izolaci běžné bakteriální flóry jsme používali krevní agar (KA) připravený ze základu pro KA č. 4 — Imuna Šarišské Michaľany (IS) a Endovu půdu (IS).

Pro záchyt mikroorganismů rodu *Campylobacter* bylo používáno thioglykolátové medium (TM) připravené z agaru No-3 Oxoid, thioglykolátové půdy — IS, chloridu sodného, 10% defibrinované beraní krve a antibiotik v kombinaci 2500 jednotek Bacitracinu a 5 mg Novobiocinu na 0,5 l media. Zároveň bylo používáno Fluid Thioglycollate medium-Difco s přidávkem 2% agaru-Difco a stejného obsahu krve i antibiotik.

Pro izolaci a identifikaci mykoplazmat byla použita standardní agarová média připravená podle předpisu, který uvádějí Jurmanová aj. (1977).

VYŠETŘOVANÝ MATERIÁL

Ke sledování byla vybrána skupina deseti býčků, ustájená v jednom oddělení odchovny pro plemenné býky. U býčků ve věku od dvou měsíců byly ve čtrnáctidenních intervalech odebírány výtěry z prepucia sterilními vatovými tampóny upevněnými na nerezovém drátě. Od šesti měsíců věku se místo výtěrů prepucia dělaly laváže prepuciálního vaku fyziologickým roztokem ve stejných časových intervalech. Zároveň byly v nepravidelných časových intervalech odebírány vzorky krve pro zjišťování protilátek proti mykoplazmatům.

ZPRACOVÁNÍ MATERIÁLU

Výtěry prepucia byly kultivovány bezprostředně po odběru přímo na místě na KA a EN náterem s následným rozočkováním sterilní skleněnou tyčinkou. Pro zjištění přítomnosti kampylobakterů byla očkována dvě thioglykolátová media obdobným způsobem. Zároveň byly výtěry prepucia kultivovány na standardní agarová media pro izolaci mykoplazmat. Prepuciální výplašky byly zpracovány filtrací přes membránové filtry Synpor, velikost pórů 0,64 μ , a filtrát byl kultivován na thioglykolátová media s antibiotiky a na agarová media pro kultivaci mykoplazmat. Zároveň byl výplasek odstředěn (2000 ot. min⁻¹ po dobu 10 minut) a sediment kultivován na KA, EN a na agarová media pro mykoplazmata.

KA a EN byly dále inkubovány po dobu 48 hodin při teplotě 37 °C v termostatu s první kontrolou narostlých kolonií po 24 hodinách inkubace. Thioglykolátová media byla po naočkování (popř. předsušení v termostatu při vyšetřování laváží) umístěna do anaerostatu, odkud byl pomocí vývěvy odčerpán vzduch a doplněn kyslíkem uhlíčitý (5–10 obj. %), a po dopravení do laboratoře inkubována čtyři až pět dní při teplotě 37 °C v termostatu. Naočkováná agarová media pro kultivaci mykoplazmat byla vložena do igelitových sáčků spolu se zvlhčeným vatovým tampónem, umožňujícím udržet dostatečnou vlhkost media, a inkubována při teplotě 37 °C čtyři až osm dní.

Narostlé kultury byly hodnoceny běžným způsobem používaným v bakteriologické laboratoři. Izolované čisté kultury bakteriálních kmenů byly podrobeny typizaci podle morfologických, biochemických a růstových vlastností, uvedených v Laboratorních vyšetřovacích metodách ÚSVÚ. Přítomnost narostlých kolonií mykoplazmat byla zjišťována mikroskopicky při 36 až 60násobném zvětšení. Agary s narostlými koloniemi mykoplazmat byly zasílány do laboratoře VÚVeL v Brně, kde byly identifikovány metodou nepřímé epiimunofluorescence.

Vzorky krve byly zpracovány způsobem běžným pro získání séra. Vzorky sér byly zpracovány ve VÚVeL v Brně.

Plemenní býci chovaní na inseminačních stanicích a býčci chovaní v odchovnách pro plemenné býky byli vyšetřováni podle platných laboratorních vyšetřovacích metodik filtrační metodou dvakrát ročně.

Datum odběru	1	1	3	4
20. 4. 1979	P, S, X	P, Pa	P, S	P, Pa, S
4. 5. 1979	P	P, C	P	P, Pa
11. 5. 1979	P	P	P	Pa
1. 6. 1979	P, Pa, C	P, C	P, C	P, Pa
15. 6. 1979	P, Pa	P	P	P, Pa
29. 6. 1979	P	P	P	P, Pa
10. 8. 1979	P, Pa	P, Pa	P, C, S	P
7. 9. 1979	P	P	P, C, S	P
21. 9. 1979	P	P, C	P	P
5. 10. 1979	P, C	P, C	C, X	P, Pa
26. 10. 1979	P, X	P, X	P, C	P
9. 11. 1979	P	S, X	P	X
23. 11. 1979	Pa	P	P	P, Pa, X
7. 12. 1979	P	P, C	P	Pa
21. 12. 1979	P	P, S, X	P	X
25. 1. 1980	P, Pa	P	P	P, S
8. 2. 1980	P	P	P	Pa, S
22. 2. 1980	P	P, S, X	P	P, Pa, X
12. 3. 1980	P	P	P	P
28. 3. 1980	P	P	P	P, Pa

Vysvětlení: P — *Proteus* sp., Pa — *Pseudomonas aeruginosa*, C — *E. coli*, S — viridující strepto-

VÝSLEDKY

O výsledcích vyšetření běžné bakteriální mikroflóry informuje tab. I. Jak je z údajů v tabulce zřejmé, byly nejčastějšími izolovanými druhy *Proteus* sp. a *Pseudomonas aeruginosa*. Z dalších mikroorganismů byly zjištěny *E. coli* (vč. hemolytických kmenů), *Streptococcus* sp. (viridující i nehemolytické kmeny, které se nám nepodařilo biochemickou typizací ani sérologicky zařadit do skupin), *Staphylococcus epidermidis*, *Micrococcus* sp., aerobní sporulující mikroorganismy, saprofytní korynebakterie a gramnegativní nekvasící tyčinky. Závažným mikroorganismem v reprodukci je *Campylobacter fetus* subsp. *fetus*. U skupiny vyšetřovaných býčků nebyl tento mikroorganismus prokázán ani v jednom případě. Kromě jednoho aerobně rostoucího kmene nebyly zjištěny ani ostatní druhy kampylobakterů. Tab. II informuje o výsledcích vyšetření prepuciálních laváží, zaměřeném na zjištění *Campylobacter fetus* subsp. *fetus* za poslední tři a půl roku ve dvou odchovných Východočeského kraje. Sledovaný mikroorganismus rovněž nebyl prokázán ani v jednom případě. Izolované kmeny byly určeny převážně jako *Campylobacter sputorum* subsp. *bubulus*, ojediněle jako *Campylobacter fecalis*. Pro doplnění přehledu o výsledcích vyšetření prepuciálních laváží na

The results of the bacteriological examination of the preputial sacs of bullocks

5	6	7	8	9	10
P, S	P	P	P	P, C, S	P
P	P	P	P	P	P
P	P	P	P	P	P
P, C	P, C	P, C, X	P, C, X	P, C	P, C
P	P	P	P	C, S, X	P
P	P	P	P	P	P
P	P	P, C	P	P	P
P	P	C, S	P	P	P
P	P	P	P	P	P
P	P	O	P	P	P
S, X	P	O	P	P	P
P	P	S, X	P	X	P
Pa	P	P	P	P	P
P	P, Pa	S, X	P, Pa	P, Pa	P
P	P, S, X	S	P	P, S	P
P	P	S	P	S, X	P, S
P	P	S	P	P	P
P	P, S	S, X	P	P	P
P	P, X	S	P	P	P
P	P	P, X	P	P	P

koky blíže neurčené, X — ostatní mikroorganismy, O — bez bakteriologického nálezu

II. Výsledky vyšetření prepuciálních laváží býčků se zaměřením na přítomnost *Campylobacter fetus* subsp. *fetus* za rok 1977 až 1980 (I. pololetí) — The results of the examination of the preputial lavations for the *Campylobacter foetus* subsp. *foetus* for 1977 to 1980 (first half)

Rok	Odchovna	Celkem vzorků	Z toho pozitivní	
			<i>Camp. fetus</i> subsp. <i>fetus</i>	ostatní <i>Camp. sp</i>
1977	Osík	121	0	20
	Vlčice	143	0	15
1978	Osík	151	0	21
	Vlčice	133	0	26
1979	Osík	108	0	6
	Vlčice	106	0	8
1980 (1. pol.)	Osík	93	0	9
	Vlčice	87	0	6

III. Výsledky vyšetření prepuciálních laváží býků se zaměřením na přítomnost *Campylobacter fetus* subsp. *fetus* za rok 1977 až 1980 (I. pololetí) — The results of the examination of praeputial lavations for the *Campylobacter foetus* subsp. *foetus* for 1977 to 1980 (first half)

Rok	Inseminační stanice	Celkem vzorků	Z toho pozitivní	
			<i>Camp. fetus</i> subsp. <i>fetus</i>	ostatní <i>Camp. sp.</i>
1977	Brná	139	0	20
	Kostelec n. O.	59	0	16
	Pomezí	180	0	54
	Nechanice	44	0	16
	Vlačice	68	0	31
1978	Brná	180	0	16
	Kostelec n. O.	52	0	23
	Pomezí	139	0	37
	Nechanice	65	0	16
	Vlačice	67	0	20
1979	Brná	80	0	11
	Kostelec n. O.	24	0	5
	Pomezí	85	0	17
	Nechanice	35	0	4
	Vlačice	34	0	1
1980 (1. pol.)	Brná	58	0	16
	Kostelec n. O.	19	0	5
	Pomezí	68	0	4

kampylobakteriózu byla vypracována tab. III. V ní jsou uvedeny výsledky vyšetření plemenných býků chovaných na inseminačních stanicích Východočeského kraje za léta 1977 až 1980. Ani zde nejsou údaje o zjištění *Campylobacter fetus* subsp. *fetus*. Zvyšují se však počty záchytů ostatních druhů, zejména *Campylobacter fecalis*. Posledními sledovanými mikroorganismy byla mykoplazmata. V tab. IV jsou shrnuty údaje o výsledcích kultivačního vyšetření sliznice prepuciálního vaku. Po příchodu do odchovny nebyla mykoplazmata v prepuciu zjištěna. Během pobytu v odchovně docházelo k ojedinělým záchytům a po šestiměsíčním pobytu byla mykoplazmata izolována od všech býčků (100 %). Většina izolovaných kmenů byla určena jako *M. bovis* genitalem. Nálezy protilátek proti mykoplazmatům v sérech sledovaných býčků jsou uvedeny v tab. V.

IV. Nález mykoplazmat z prepuciálních vaků býčků (OPB Osík) — The findings of mycoplasmas from the preputial sacs of bullocks (Bull Rearing Station Osík)

Datum odběru	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	Typiz.
20. 4. 1979	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
4. 5. 1979	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
11. 5. 1979	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
1. 6. 1979	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
15. 6. 1979	0	+	0	0	0	0	0	+	0	+	6
29. 6. 1979	K	K	K	K	K	K	K	+++	K	K	6
10. 8. 1979	0	K	K	0	++	K	0	+	K	K	
24. 8. 1979	0	0	K	K	K	K	K	0	0	K	
7. 9. 1979	0	0	0	0	+++	+++	+++	0	0	0	2
21. 9. 1979	0	0	0	0	K	K	K	K	K	K	
5. 10. 1979	0	0	+	+	0	++	++	++	0	0	2
26. 10. 1979	0	0	+	+++	+	+++	0	++	+	K	2
9. 11. 1979	+++	+++	K	+++	+++	+++	+++	+++	K	+++	2
23. 11. 1979	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	2
7. 12. 1979	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	2,4
21. 12. 1979	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	2
10. 1. 1980	+++	+++	0	+++	+++	+++	+++	+++	0	+++	2
25. 1. 1980	+++	+++	+++	0	+++	+++	+++	+++	+++	+++	2
8. 2. 1980	+++	+	K	+++	+++	K	++	+	K	K	2
22. 2. 1980	K	+++	+++	+	+++	+++	+++	+++	K	+++	2
12. 3. 1980	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	2
28. 3. 1980	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	2

Vysvětlení: K — kontaminace

Do 24. 8. vyšetřovány výtěry prepucia, dále vyšetřovány prepuciální laváže

DISKUSE

Závažným problémem v reprodukci jsou infekční onemocnění pohlavních orgánů. Přes řadu známých původců těchto onemocnění je však ještě mnoho nevyjasněných otázek týkajících se zejména tzv. podmíněně patogenních mikroorganismů, mezi které patří i *Proteus* sp. a *Pseudomonas aeruginosa*. Jak je zřejmé z výsledků vyšetření, byly tyto mikroorganismy izolovány nejčastěji. V oboru reprodukce se jim dosud nevěnuje dostatečná pozornost. Je popsána řada onemocnění urogenitálního traktu, zejména u lidí, způsobená proteem. Pro svou biochemickou aktivitu, přítomnost endotoxinu a schopnosti vytvářet různé toxické produkty by neměl být tak opomíjen jako dosud. Jak vyplývá ze zajímavých prací Króliňského a Obuchovské [1975] a Króliňského [1977a, b], je neméně závažný i *Pseudomonas aeruginosa*. I když u zdravých býčků nevyvolává na sliznici prepucia zjevné klinické příznaky a ani v případě onemocnění pohlavního aparátu

V. Nálezy protilátek proti mykoplazmatům v sérech býčků (OPB Osík) — The findings of antibodies to mycoplasmas in the sera of bullocks (Bull Rearing Station Osík)

Datum odběru	Anti-gen	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
18. 5. 1979	2	16	16	16	32	64	4	8	16	8	8
	4	256	64	64	32	64	8	128	16	64	16
	5	0	16	0	8	16	0	32	0	4	4
	7	0	0	0	0	4	0	0	0	8	0
	8	0	0	0	0	8	0	8	0	8	0
	10	0	0	0	4	8	0	0	0	4	0
21. 9. 1979	2	16	16	64	64	64	16	64	64	32	16
	4	128	128	1024	64	128	128	512	64	128	128
	5	0	8	8	16	16	0	8	16	4	4
	7	0	0	4	0	0	0	16	32	4	0
	8	32	0	4	16	8	8	8	8	16	16
	10	0	0	8	32	0	0	0	16	4	0
23. 11. 1979	2	32	16	64	64	64	32	32	64	32	32
	4	1024	128	512	64	128	128	512	64	256	128
	5	8	0	8	0	16	8	8	8	4	4
	7	128	0	32	8	128	0	8	32	16	8
	8	64	0	4	4	8	8	4	8	16	16
	10	8	0	8	4	0	0	0	16	0	0
10. 1. 1979	2	64	32	64	32	64	64	32	64	64	32
	4	1024	256	512	32	128	128	32	64	64	32
	5	0	0	8	0	16	8	4	8	8	4
	7	32	4	32	8	64	0	8	32	8	16
	8	32	4	4	4	8	16	0	4	16	16
	10	4	0	4	4	32	0	0	16	0	0
22. 2. 1980	2	64	64	32	64	64	64	64	64	64	32
	4	512	128	1024	32	128	64	256	128	128	256
	5	0	0	8	0	0	0	0	4	4	4
	7	8	4	8	8	8	0	8	8	16	8
	8	8	0	4	4	8	16	0	16	16	16
	10	0	0	4	4	0	0	0	4	0	0

se nedává do souvislosti s etiologií, bylo by zajímavé tyto názory ověřit, neboť v tomto tak rozšířeném druhu mohou být některé kmeny patogenní [Baier aj., 1955]. Vliv metabolismu a toxických produktů těchto mikroorganismů na přežívání spermií byl již experimentálně prokázán [Króliński, 1977]. Otázku možnosti patogenních a nepato-

genních kmenů v jednom druhu nelze opomíjet ani u ostatních tzv. nepatogenních mikroorganismů, vyskytujících se v reprodukčním materiálu, zejména u býků, kteří prostřednictvím kontaminovaného ejakulátu mohou být nebezpečnými šířiteli infekce.

Zavedením umělé inseminace je zatím, zdá se, vyřešen problém nakažlivého zmetání způsobeného mikroorganismem *Campylobacter fetus* sp. *fetus*. Preventivní vyšetřování býků ustájených v inseminačních stanicích je však neodmyslitelným předpokladem dosažení úspěchu. Otázkou nosičství původce tohoto onemocnění se zabývali autoři Roslanowski aj. (1972), Bisping (1974), Dufty aj. (1975). Všichni autoři ve svých pracích uvádějí, že infekce *Campylobacter fetus* subsp. *fetus* je rozšířenější u starších býků než u mladých. Podle Roslanowského aj. (1972) nebyl tento mikroorganismus nalezen u býčků do věku 1,5 roku. Naše výsledky vyšetření prepuciálních vaků zvířat ve sledované skupině, stejně i výsledky získané během posledních 3,5 let z vyšetření býčků chovaných v odchovnách Východočeského kraje, se s údaji autorů shodují. Přestože sledování osídlení sliznice prepuciálních vaků u starších býků chovaných na inseminačních stanicích nebylo předmětem této práce, chceme uvést, že pozorujeme rozdíly v zachytu ostatních druhů kampylobakterů mezi jednotlivými inseminačními stanicemi (*Campylobacter sputorum* subsp. *bubulus*, *Campylobacter fecalis*, *Campylobacter fetus* subsp. *intestinalis*). V dalším období bude třeba sledovat výskyt také ostatních druhů kampylobakterů u skotu. Kahlich a Paleček (1980) publikovali přehled o stoupajícím počtu onemocnění lidí, jejichž příčinou jsou tyto mikroorganismy, a uvádějí na prvním místě zvířata jako zdroj infekčního agens. Člověk jako možný nosič tohoto druhu snad v budoucnu objasní některé sporadické výskyty onemocnění u zvířat.

Mykoplazmaty a jejich úlohou v reprodukci skotu se zabývá v současné době řada světových pracovišť. O patogenitě mykoplazmat bylo často pochybováno (Albertsen, 1955). Ernø (1971), Kurbanov aj. (1977) a Jurmanová aj. (1975) dělali pokusy s experimentálně vyvolanou mastitidou krav různého stupně podle virulence použitých kmenů, které tyto nejasnosti vysvětlují, neboť v druhu *M. bovis genitalium*, kterým byla infekce prováděna, prokazují přítomnost virulentních a nevirulentních kmenů. Při posuzování vztahu mykoplazmat a hostitele je však třeba mít na mysli, že všechna mykoplazmata jsou paraziti, a některá z nich patogeni. Předurčují je k tomu jejich biologické vlastnosti. Rozšíření mykoplazmat na všechny býčky dané skupiny v průběhu odchovu dokazuje, že těsným stykem plemenných býků v odchovnách jsou předávány skryté infekce, které telata přinášejí z jednotlivých zemědělských závodů. Je pravděpodobné, že totéž platí i o jiných druzích mikroorganismů osídlujících pohlavní orgány. Tímto způsobem se vytvářejí společné charakteristiky infekcí a protilátkové odezvy. Tuto skutečnost by bylo třeba respektovat při rozmísťování býků z odchoven na inseminační stanice.

Literatura

- ALBERTSEN, B. E.: Pleuropneumonia-like organisms in the semen of Danish artificial insemination bulls. Nord. VetMed., 7, 1955, s. 169-201.
- BAIER, W. — LEIDL, W. — MAHRLA, A.: Fortpfl. Zuchthyg. n. Haustieres, 5, 1955. Cit. SCHWERDTNER, H. 1961.
- BISPING, W. J.: Zur bakteriologischen Diagnose der Vibrio-fetus-Infektion beim Bullen. Berl. Münch. tierärztl. Wschr., 87, 1974, s. 330-333.
- DUFFY, J. H. — CLARK, B. L. — MONSBOURGH, M. J.: The influence of age on the susceptibility of bulls to *Campylobacter fetus* subsp. *veneralis*. Anat. vet. J., 6, 1977, s. 294-297.
- ERNØ, H.: Mycoplasmosis: Experimental mastitis. Demonstration of antibody in milk. Acta vet. scand., 12, 1971, s. 451-453.
- GAMČÍK, P.: — Veterinářství, 9, 1959, s. 211-214. Cit. SCHWERDTNER, H. 1961.
- GOETZE, R.: Besamung und Unfruchtbarkeit der Haussäugetiere. Hanover 1949.
- JASPER, D. E. — AL-AUBAIDI, J. M. — FABRICANT, J.: Isolation of Mycoplasma from preputial washing of bulls. Cornell Vet., 2, 1974, s. 296-302.
- JURMANOVÁ, K. — HÁJKOVÁ, M. — RYŠÁNEK, M. — JIRÁNEK, E. — MAZUROVÁ, J.: Návrh standardního postupu mykoplazmologického vyšetření ejakulátů býků. [Dílčí zpráva výzkumné etapy P-11-329-227-02-02.] Brno, Výzkumný ústav veterinárního lékařství 1977.
- JURMANOVÁ, K. — HÁJKOVÁ, M. — KREJČÍ, J.: Účast mykoplazmat na respiračních onemocněních telat ve velkokapacitních teletnicích v ČSSR. Vet. Med., Praha, 20, 1978, č. 10-11, s. 583-593.
- KAHLICH, R. — PALEČEK, A.: *Campylobacter* — základní charakteristika. Bull. Čs. Spol. Mikrob. ČSAV, 4, 1980, s. 6-8.
- KURBANOV, I. A. — MITRIFANOV, P. M. — LABUTINA, L. F.: Mikoplazmenný mastit u korov. Trudy vses. Inst. eksp. Vet., 46, 1977, s. 40-44.
- KRÓLIŃSKI, J. — OBUCHOWSKA-DUS, B.: Występowanie *Pseudomonas aeruginosa* w nasieniu i w wypluczynach z napletka buhajów. Medycyna wet., 1975, č. 3, s. 169-170.
- KRÓLIŃSKI, J.: Wpływ *Pseudomonas aeruginosa* na przeżywaenose plemeników w nasieniu buhajów. Medycyna wet., 1977a, č. 5, s. 298-299.
- KRÓLIŃSKI, J.: Wpływ *Pseudomonas aeruginosa* na skuteczność zabiegów unasienniania krów. Medycyna wet., 1977b, č. 10, s. 603-604.
- Laboratorní vyšetřovací metody ÚSVÜ.
- ONOVIRAN, O. — TRUSCOTT, R. B. — FISCH, U. A. — BARKER, C. A.: The recovery of mycoplasmas from the genital tracts of bulls in artificial breeding units in Ontario. Can. J. comp. Med., 39, 1975, č. 4, s. 474-475.
- PATOČKA, F. — SOUČKOVÁ, A.: Problematika potenciálně patogenních mikroorganismů. Čs. Epidem. Mikrob. Imunol., 23, 1974, s. 65-76.
- ROLLINSON: Vet. J. 108, 1949. Cit. SCHWERDTNER, H. 1961.
- ROSLANOWSKI, K. — LOSIŃSKI, T. — WYSZANOWSKI, J.: Wibriosa buhajów. I. Badania nad wartoscia testu biologicznego w diagnostyce *Vibrio fetus*. Medycyna wet., 28, 1972, s. 104-107.
- SAVOV, N. — BAČVAROVA, J.: Proučvane na mikoplazmi ot polovija aparat na goveda. Veter. med. Nauki, 5, 1976, s. 13-17.
- SCHWERDTNER, H.: Über das Vorkommen und die Bedeutung von *Pseudomonas aeruginosa* bei Besamungsbullen. Zuchthygiene, 5, 1961, s. 260-267.
- SKULIN, I. M.: Pro nosijstvo *Vibrio fetus intestinalis* u velikoi rogatoi khudoby. Veterinarija, Kyjev, 41, 1975, s. 23-26.

Došlo dne 14. 1. 1981

МАЗУРОВА, Я. — РЫШАНЕК, М. — ДОУБРАВОВА, Л. — МАХАЧОВА, З. — СВАЧИНОВА, Д. (Государственный ветеринарный институт, Пардубице): Микробияльное заселение препуциального мешка у молодых бычков. Vet. Med., Praha, 26, 1981 (8): 469-479.

Нами изучалось микробияльное заселение препуциального мешка у десяти молодых бычков, содержащих в одном отделении помещения для выращивания быков-производителей, в возрасте от 2 до 14 месяцев, откуда они переводились в станцию по искусственному осеменению. Из нормальной микрофлоры чаще всего изолировались *Proteus* sp. и *Pseudomonas aeruginosa*. Из дальнейших микроорганизмов были установлены *E. coli*, негемолитические и ви-

ридирующие стрептококки, *Staphylococcus epidermidis*, микрококки, аэробные спорулирующие бактерии, сапрофитные коринебактерии и грамотрицательные небродильные палочки. Не были доказаны ни *Campylobacter fetus* subsp. *fetus*, ни остальные виды рода *Campylobacter* sp. После перевода бычков в помещение для выращивания микоплазма из слизистой оболочки препуция не изолировалась. После шестимесячного пребывания в коллективе была установлена микоплазма у всех изучаемых животных. Изолированные штаммы определялись при помощи метода эпитимунофлуоресценции как *M. bovis genitalium*.

препуциальный мешок; микрофлора *Campylobacter* sp., *Mycoplasma* sp.

MAZUROVÁ, J. — RYŠÁNEK, M. — DOUBRAVOVÁ, L. — MACHAČOVÁ, Z. — SVAČINOVÁ, D. (State Veterinary Institute, Pardubice): *The Microbial Population of the Praeputial Sac of Young Bulls*. Vet. Med., Praha, 26, 1981 (8) : 469-479.

The microbial population of the preputial sac was studied in a group of ten young bulls housed in one section of the rearing farm in the age period from 2 to 14 months when they were transferred to A. I. stations. As to currently occurring microflora, *Proteus* sp. and *Pseudomonas aeruginosa* were isolated most frequently. The remaining micro-organisms isolated during the study included *E. coli*, non-haemolytic and viridizing streptococci, *Staphylococcus epidermidis*, micrococci, aerobic sporulating bacteria, saprophytic corynebacteria and gamma-negative non-fermenting rods. *Campylobacter fetus* subsp. *fetus* was not detected and the same applies to the other species of this genus (*Campylobacter* sp.). When the bullocks were transferred to the rearing farm, the mycoplasmas were no longer isolated from the preputial mucous membrane. Mycoplasmas were determined in all the studied animals after six months' stay in group. The isolated strains were identified as *M. bovis genitalium* by the epiimmunofluorescence method.

preputial sac; microflora; *Campylobacter* sp.; *Mycoplasma* sp.

MAZUROVÁ, J. — RYŠÁNEK, M. — DOUBRAVOVÁ, L. — MACHAČOVÁ, Z. — SVAČINOVÁ, D. (Staatsinstitut für Veterinärmedizin, Pardubice): *Population von Mikroben im Vorhautsack von jungen Bullenkälbern*. Vet. Med., Praha, 26, 1981 (8) : 469-479.

Wir verfolgten die Population von Mikroben im Vorhautsack bei einer Gruppe von zehn Jungbullen, die in einer Abteilung des Zuchtbullenstalles im Alter von 2 bis 14 Monaten aufgestallt wurden, in dem angeführten Alter wurden sie in die Inseminationsstation überführt. Von der üblichen Mikroflora wurde am öftesten *Proteus* sp. und *Pseudomonas aeruginosa* isoliert. Von den weiteren Mikroorganismen wurden *E. coli*, unhemolytische und viridierende Streptokokken, *Staphylococcus epidermidis*, Mikrokokken, aerobe sporulierende Bakterien, saprophytäre Corynebakterien und negative nicht gärende Gama-Stäbchen festgestellt. Weder *Campylobacter fetus* subsp. *fetus* noch andere Arten dieser Gattung (*Campylobacter* sp.) wurden nachgewiesen. Nach dem Eintreffen der Bullen in den Stall wurden die Mykoplasmen aus der Schleimhaut der Vorhaut nicht isoliert. Nach dem sechsmonatigen Aufenthalt im Kollektiv wurden die Mykoplasmen bei allen verfolgten Tieren festgestellt. Die isolierten Stämme wurden durch die Methode der Epiimmunofluoreszenz als *M. bovis genitalium* indentifiziert.

Vorhautsack; Mikroflora; *Campylobacter* sp.; *Mycoplasma* sp.

Adresa autorů:

MVDr. Jaroslava Mazurová, MVDr. Miroslav Ryšánek, CSc., Livia Doubravová, Dagmar Svačinová, Zdeňka Macháčová, Státní veterinární ústav, Štrossova 57, 530 03 Pardubice

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.

D 69.964

Naučnyje trudy Kazanskogo ordena Lenina Gosudarstvennogo instituta im. N. E. Baumana. Tom. 131.

Kazaň, n. vl. 1979. 114 s., obr., tab. (Veterinární školy vysoké — SSSR — Kazaň — sborník)

D 71.328

Von der staatlichen Tierarzneischule in Dresden zur Fachrichtung Veterinärmedizin der Sektion Tierproduktion und Veterinärmedizin der Karl-Marx-Universität Leipzig. 1780—1980.

Leipzig, n. vl. 1980. 309 s., obr., tab. (Veterinární školy vysoké — Německo — 1780—1980 — výzkum — NDR / Lipsko — Vysoká škola veterinární — organizace a činnost — výzkum — NDR)

D 56.096

Annali della Facoltà di medicina veterinaria di Pisa.

Pisa, n. vl. Vol. 20. 1967. (1968). 408 s., obr., tab.; 21. 1968. (1969). 337 s., obr., tab.; 22. 1969. (1970). 355 s., obr., tab.; 23. 1970. (1971). 496 s., obr., tab.; 25. 1972. (1973). 369 s., obr., tab.; 26. 1973. (1974). 513 s., obr., tab.; 27. 1974. (1975). 224 s., obr., tab.; 28. 1975. (1976). 372 s., obr., tab.; 29. 1976. (1977). 353 s., obr., tab.; 30. 1977. (1978). 508 s., obr., tab.; 32. 1979. (1980). 471 s., obr., tab. (Veterinární školy vysoké — Itálie — Pisa — sborníky)

C 22.698

Publikasjoner fra Norges veterinærhøgskole.

Oslo, n. vl. 15. 1972. přeruš. str., obr., tab.; 18. 1975. přeruš. str., obr., tab.; 19. 1976. přeruš. str., obr., tab.; 20. 1977. přeruš. str., obr., tab.; 21. 1978. přeruš. str., obr., tab.; 22. 1979. přeruš. str., obr., tab. (Veterinární školy vysoké — Norsko — Oslo — sborníky)

STANOVENÍ KONCENTRACE ALBUMINU V KREVŇÍ PLAZMĚ PRASAT S POUŽITÍM BROMKREZOLOVÉ ZELENĚ

M. Dvořák

DVOŘÁK, M. (Výzkumný ústav veterinárního lékařství, Brno): *Stanovení koncentrace albuminu v krevní plazmě prasat s použitím bromkrezolové zeleně*. Vet. Med., Praha, 26, 1981 (8) : 481-489.

V krevní plazmě prasečích plodů ve 112. dnu březosti, selat při časném odstavu od prasnice a po 14 dnech, prasat v jatečné hmotnosti a dvou skupin běhounů při experimentálně odlišném příjmu bílkovin od odstavu po dobu 122 dnů jsme stanovili koncentraci celkového proteinu a albuminu. Byl prokázán vztah hladiny plazmatického albuminu k tělesné hmotnosti a obsahu bílkovin v krmivu. Naproti tomu rozdíly v hladinách celkového proteinu, pokud byly zjištěny, nebyly u běhounů a jatečných prasat s odlišnou hmotností statisticky průkazné. U selat po odstavu od prasnice se výrazně snížila koncentrace celkového proteinu, ne však plazmatického albuminu, ačkoliv příjem krmiva i přírůstky tělesné hmotnosti byly malé. Je upozorněno na některé fyziologické zvláštnosti u obou parametrů při vývoji prasat a zdůrazněna diagnostická hodnota plazmatického albuminu. Při jeho stanovení inverzní kolorimetrickou metodou, spočívající ve schopnosti vázat v pufrovaném roztoku bromkrezolovou zeleň, byl použit korekční faktor odvozený z rozdílné kapacity vepřového a lidského sérového albuminu sloužícího jako standard.

protein; albumin; tělesná hmotnost; výživa; věk; diagnostika

Při posuzování úrovně výživy hospodářských zvířat z hlediska kvantity a kvality bílkovin je důležité znát především složení krmiva, ale neméně důležité informace může poskytnout i biochemické vyšetření krve. Předpokladem ovšem je dobrá korelace mezi příjmem určité složky krmiva a koncentrací zjišťované látky. Je známo, že příjem bílkovin je jedním z faktorů určujících obsah sérového proteinu. Stanovení koncentrace celkového proteinu však není přikládána taková diagnostická hodnota, jako určení hladiny sérového, popřípadě plazmatického albuminu.

Koncentrace albuminu v krevním séru reaguje na dietní alterace proteinu a obsahu aminokyselin. Všeobecně se zvyšuje jak s množstvím nutričních bílkovin, tak i s jejich kvalitou. U krys bylo ukázáno, že hladina sérového albuminu, jakož i přírůstky tělesné hmotnosti jsou funkcí příjmu proteinu a aminokyselinového složení (Mercer aj., 1979). U telat byla poznána korelace mezi přírůstky hmotnosti, příjmem krmiva a koncentrací albuminu, ne však globulinu (Little aj., 1977). Ani u ovcí nebylo ovlivněna koncentrace globulinu proteinovým stavem zvířat (Sykes, 1978). Při praktickém hodnocení metabolického profilu u skotu je stanovení celkového proteinu považováno za nepostačující

a hladina albuminu spolu s močovinou za nejlepší indikátor bilance dusíku (Wolter, 1979). Vztah nízké koncentrace sérového albuminu k proteinové deprivaci byl zjištěn také u prasat (Grimble a Whitehead, 1969; Atinmo aj., 1976) a jeho stanovení bylo zařazeno mezi 11 parametrů biochemického profilu prasnic (Ursache aj., 1979). Určování koncentrace jen celkového proteinu bylo hodnoceno vzhledem k růstu, nutrici a interpretaci výsledků jako méně vhodné u selat (Dvořák, 1978, 1979).

Ke kvantitativnímu stanovení albuminu v krevním séru, popřípadě plazmě jsou k dispozici různé metody založené na různých vlastnostech jeho molekuly. Nejčastěji používané elektroforetické dělení je podobné jako frakcionovaná precipitace vysolováním nebo techniky ultracentrifugační a imunochemické náročné na čas a laboratorní vybavení. Poměrně jednoduché a rychlé jsou přímé metody spočívající v selektivní schopnosti albuminu vázat barviva. Vysoká specifika byla prokázána u bromkrezolové zeleně, která je použita v inverzní kolometrické metodě Rodkeyově (1965). Cílem předložené práce je ověřit její použitelnost při biochemickém vyšetřování krve prasat různého věku a tělesné hmotnosti. Údaje o koncentraci albuminu u prasat nejsou ojedinělé (Mašek a Holub, 1970; Tumbleson a Kalisch, 1972; Svendsen aj., 1972; Okai aj., 1977, 1978; Kertiles aj., 1979), jsou však většinou omezeny jen na určitou věkovou kategorii a byly získány různými laboratorními metodami.

MATERIÁL A METODY

Jednorázově jsme vyšetřili krevní plazmu 13 plodů prasat 112. den březosti, 60 selat odstavených čtyři týdny po narození, 46 selat za 14 dní po odstavu a 72 prasat jatečných. Použitá selata pocházela z deseti vrhů, jatečná prasata z jednoho chovu a byla přibližně stejně stará. V každé věkové kategorii byla zvířata rozčleněna podle tělesné hmotnosti na dvě až tři skupiny. Dále byly opakovaně vyšetřovány dvě skupiny 15 a 14 běhounů — sourozenců, pocházejících ze čtyř vrhů, při odlišném příjmu bílkovin v krmivu od odstavu čtvrtý týden života po dobu 122 dnů. První skupina s relativně optimálním zajištěním proteinem kompletními směsmi dostávala 14 dní prestarter ČOS 1, 21 den starter ČOS 2 a potom směs A 1 až do konce pokusu; podle receptur na r. 1980 obsahovaly 28,4, 21,2 a 14,5 % dusíkatých látek (NL). Druhá skupina dostávala v tutéž dobu prestarter ČOS 1 spolu se stejným dílem kukuřičného šrotu s 3 % vepřového sádla (19,3 % NL), starter ČOS 2 se stejným dílem kukuřičného šrotu s 3 % vepřového sádla (15,7 % NL) a potom směs SOL (11,9 % NL). Prasata byla krmena suchými směsmi *ad libitum*. Vážení zvířat a odběry krve z *V. cava cran.* k laboratornímu vyšetření byly prováděny v ranních hodinách.

Koncentrace albuminu v krevní plazmě byla stanovena metodou podle Rodkeye (1965), která je založená na snížení absorpance roztoku bromkrezolové zeleně při vazbě na albumin. Jako standard byl užíván lyofilizovaný lidský albumin pro diagnostické účely (Imuna, n. p., Šarišské Michaľany) po zjištění rozdílu ve vazebné schopnosti od albuminu vepřového, připraveného na zdejší ústavě (Hampl aj.) a s použitím korekce při výpočtu. Při srovnání byl také určen stupeň vazby bromkrezolové zeleně albuminem hovězím (Ústav sér a očkovacích látek, Praha). Z lyofilizovaných albuminů byly připraveny vodné roztoky 4,0 až 4,5 % a jejich konečná koncentrace byla určena biuretovou analýzou. Čistota albuminu byla ověřena imunoelektroforeticky. Absorbance byla měřena při 615 nm na spektrálním kolorimetru Spekol hned po promíchání plazmy s reagentií. Koncentrace celkového proteinu v krevní plazmě byla stanovena s použitím Bio-LA-testu (Lachema, Brno). Výsledky jsou uváděny v aritmetických průměrech se směrodatnou odchylkou, v grafech se střední chybou průměru. Statistická průkaznost rozdílů byla vypočítána použitím Studentova *t*-testu.

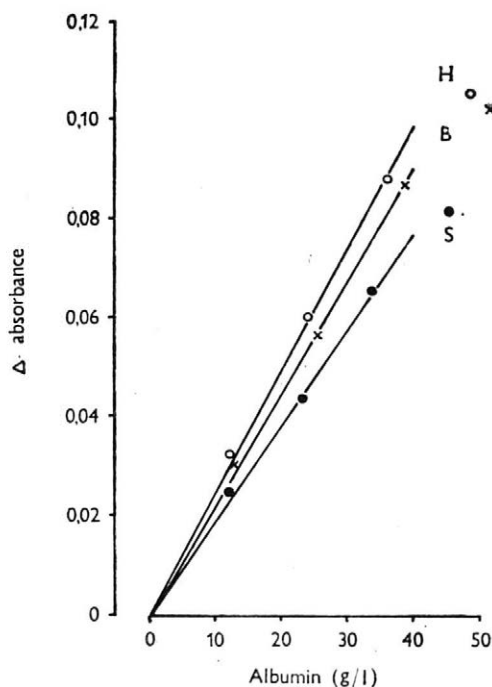
VÝSLEDKY

Srovnáním rozdílů v absorbanci mezi pufovaným roztokem brom-krezolové zeleně (bez proteinu) a s testovaným sérovým albuminem lidským, hovězím a vepřovým byly při respektování skutečného obsahu proteinu zjištěny odchylky v kapacitě albuminů odlišných živočišných druhů vázat použitého barvivo (obr. 1). Největší odchylka je u albuminu lidského, vepřový měl asi 79 % jeho vazby. Bylo proto nutné při použití lidského albuminu jako standardu násobit rozdíl v absorbanci měřených vzorků vypočteným faktorem 1,25. Vztah koncentrace k absorbanci byl lineární, s výjimkou roztoků obsahujících více než 40 g albuminu v litru. Chyba metody, vyjádřená variačním koeficientem při sedmi analýzách téhož vzorku séra s koncentrací $32,6 \text{ g} \cdot \text{l}^{-1}$, činila 7,6 %.

U prasečích plodů těsně před ukončením jejich intrauterinního vývoje byly zjištěny nejnižší hladiny celkového proteinu i albuminu ze všech vyšetřených vzorků. U šesti plodů s tělesnou hmotností $0,90 \pm 0,15 \text{ kg}$ byla koncentrace albuminu nižší než u sedmi plodů těžších ($1,12 \pm 0,05 \text{ kg}$), ne však statisticky průkazně (obr. 2).

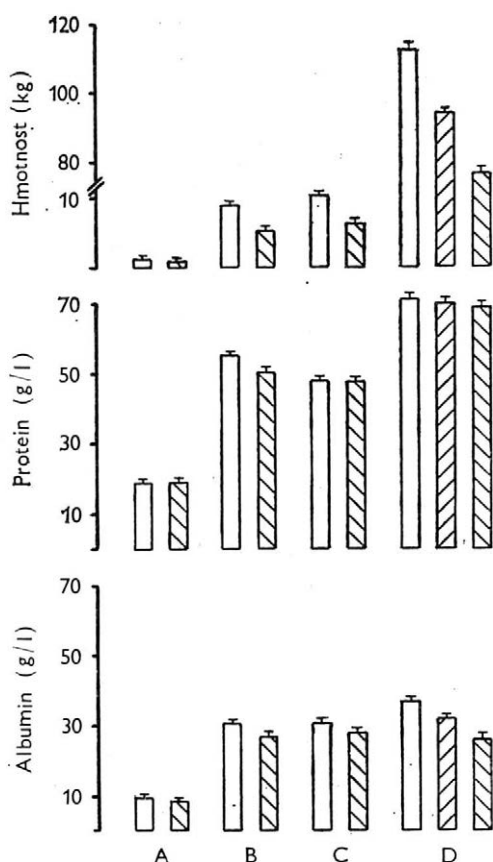
U selat při odstavu byla hladina plazmatického albuminu třikrát vyšší než u plodů. U selat s hmotností $5,17 \pm 1,33 \text{ kg}$ byla průkazně ($P < 0,05$) nižší než u selat těžších ($9,04 \pm 1,70 \text{ kg}$). Podobně tomu bylo i u celkového proteinu (obr. 2). U selat vyšetřených 14 dní po odstavu byla koncentrace celkového proteinu snižená, albuminu nezměněná u těžších, nebo zvýšená u lehčích a rozdíly mezi nimi pozbyly statistické průkaznosti (obr. 2).

Jatečná prasata byla rozčleněna podle hmotnosti teplých půlek po porážce do tří skupin: 18 lehkých ($77,11 \pm 5,26 \text{ kg}$), 20 těžkých ($112,90 \pm 6,63 \text{ kg}$) a 34 se střední hmotností ($94,18 \pm 5,16 \text{ kg}$). V hladině celko-



1. Vztah rozdílů v absorbanci mezi vzorkem bez proteinu a s roztoky albuminu lidského (H), hovězího (B) a vepřového (S) a jejich koncentrací — The relationship of the differences in absorbance between the protein-free sample and solutions with human (H), bovine (B) and swine (S) albumin and its concentrations

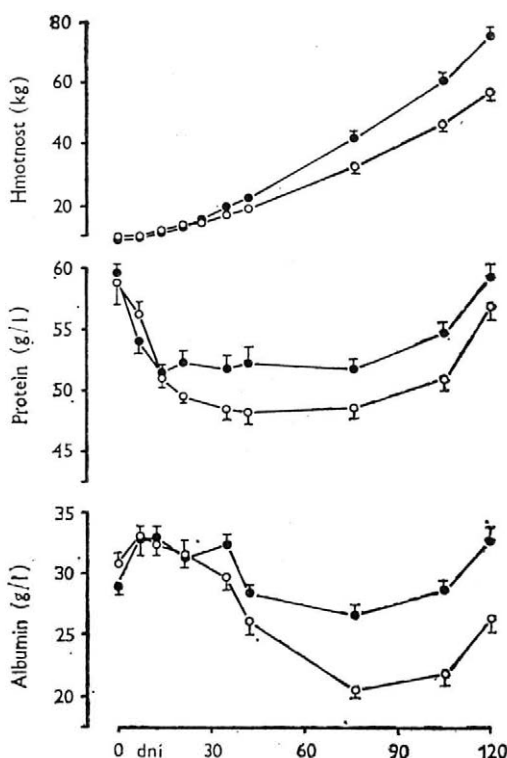
2. Koncentrace celkového proteinu a albuminu v krevní plazmě prasečích plodů (A), selat při odstavu (B) a po odstavu (C) a jatečných prasat (D) ve srovnání s hmotností těla, popřípadě půlek po porážce — The concentration of total protein and albumin in the blood plasma of swine foetuses (A), piglets at weaning (B) and after weaning (C) and slaughter pigs (D) in comparison with the weight of body, or half-carcases, after slaughter



vého proteinu nebyly mezi nimi rozdíly, nejvyšší ze všech vyšetřených vzorků byla u prasat těžkých ($72,16 \pm 8,75 \text{ g} \cdot \text{l}^{-1}$). U nich byla také nejvyšší koncentrace plazmatického albuminu ($36,50 \pm 4,98 \text{ g} \cdot \text{l}^{-1}$), která se průkazně lišila od lehkých ($P < 0,01$) i středních kusů ($P < 0,05$). Rovněž mezi lehkými prasaty a prasaty se střední hmotností byl průkazný ($P < 0,01$) rozdíl (obr. 2).

U dvou pokusných skupin běhounů lišících se (počínaje odstavem) rozdílným příjmem bílkovin, se rozdíl v růstu začal projevovat 35. den, kdy přírůstky tělesné hmotnosti za poslední týden byly již průkazně rozdílné ($P < 0,01$). Růstová deprese prasat s částečným nedostatkem bílkovin pokračovala až do konce sledování (obr. 3), s určitým zlepšením během posledních 17 dní. Průměrný denní přírůstek od 21. do 122. dne pokusu byl u první skupiny $0,62 \pm 0,08 \text{ kg}$, u druhé $0,43 \pm 0,08 \text{ kg}$. V koncentraci celkového proteinu krevní plazmy byl zaznamenán zpočátku prudký pokles s minimální hodnotou u první skupiny 14. den, u strádajících prasat 42. den (obr. 3). Přestože rozdíly mezi skupinami byly výrazné, nedosáhly nikdy statistické průkaznosti. Hladiny plazmatického albuminu byly v prvních třech týdnech překvapivě zvýšené. Rozdíly mezi skupinami se začaly projevovat až od 35. dne a statistické průkaznosti ($P < 0,01$) nabýly 77. den, kdy u strádajících prasat bylo zjištěno jen $20,77 \pm 3,17 \text{ g} \cdot \text{l}^{-1}$, tj. téměř o 1/4 méně než u první skupiny.

3. Tělesná hmotnost, koncentrace celkového proteinu a albuminu v krevní plazmě u prasat s relativně optimálním (vyplněné značky) a sníženým (nevyplněné značky) příjmem bílkovin od časného odstavu (0 dní) — Body weight, concentration of total protein and albumin in blood plasma in pigs with a relatively optimum (full marks) and reduced (empty marks) intake of protein from early weaning (0 days)



Rozdíl 6 až 7 g $\cdot$ l⁻¹ albuminu se pak udržoval i při jeho zvyšující se koncentraci u obou skupin a při zvyšující se intenzitě růstu prasat strádajících až do konce pokusu.

DISKUSE

Určení koncentrace plazmatického albuminu u různě starých prasat a u skupin s odlišnou tělesnou hmotností umožnilo poznat základní věkové a nutriční vlivy působící na tento významný ukazatel bílkovinného metabolismu a srovnat jej se simultánně získanými hodnotami druhého, častěji používaného ukazatele — hladiny celkového proteinu. Shodně nízké hodnoty u prasečích plodů v době blízké narození jsou fyziologickým důsledkem typu placenty; mohou však být u albuminu ovlivněny i výživou prasnice během březosti (Atinmo aj., 1976). Situaci u časně odstavených selat lze charakterizovat jak vývojovými zvláštnostmi popsanými u celkového proteinu dříve (Dvořák, 1978, 1979), tak i silněji se projevujícími vlivy vnějšího prostředí, zejména kvantitou a kvalitou přijímaného pevného krmiva i intenzitou tělesného růstu. Zcela překvapivé je, jak se chová koncentrace plazmatického albuminu v prvních třech až čtyřech týdnech po odstavu: diametrálně se liší od změn hladiny celkového proteinu. U starších prasat pak převládají nutriční účinky projevující se v tělesné hmotnosti i ve sledovaných parametrech metabolismu bílkovin, u jatečných prasat však jen v hladině albuminu. Koncentrace globulinu zřejmě není podobně jako

u telat a ovcí (Little aj., 1977; Sykes, 1978) ovlivněna proteinovým stavem výživy.

Z diagnostické upotřebitelnosti stanovených koncentrací celkového proteinu a plazmatického albuminu lze tak vyloučit ta údobí, která jsou silně ovlivněna fyziologickými zvláštnostmi vývoje prasat. Vzhledem k obsahu globulinů v krevní plazmě, k jejich pasívnímu přenosu mlezi-
vem a později nastupující vlastní syntéze, zejména imunoglobulinů, se jeví stanovení celkového proteinu k průkazu bílkovinné malnutrice méně vhodné u selat a — jak již bylo uvedeno — u prasat v jatečné hmotnosti. Ani u běhounů při experimentálně omezeném příjmu bílkovin však nebyla jeho koncentrace statisticky průkazně nižší. Naproti tomu hladina plazmatického albuminu u běhounů s tělesnou hmotností nad 20 kg i u jatečných prasat celkem věrně korespondovala s nutričním stavem a s tělesnou hmotností. Ovšem ani u plazmatického albuminu nelze očekávat zřetelné snížení jeho koncentrace bezprostředně po krátkodobém nedostatku dietních bílkovin. Jeho poločas je asi 26 dní; je udáváno, že pokles tvorby albuminu v játrech na 50 % vyvolá teprve během 16 dnů úbytek koncentrace v plazmě o 20 % (Hořejší aj., 1970).

U prasnic je shodně udávána vysoká koncentrace plazmatického, popř. sérového albuminu, a to v průměrech 39 až 43 g.l⁻¹ (Okai aj., 1977; Hermansson aj., 1978; Ursache aj., 1979), výjimečně 31 g.l⁻¹ (Svendson aj., 1972), u prasnic s velmi redukováným příjmem bílkovin klesá pod 30 g.l⁻¹ (Atinmo aj., 1976). Nejnížší průměrné hodnoty jsou udávány u novorozených selat: 2,7 g.l⁻¹ (Radomínski aj., 1977), 5,5 a 7,0 g.l⁻¹ (Mašek a Holub, 1970), 5,9 g.l⁻¹ (Tumbleson a Kalish, 1972), 7,0 až 10,0 (Okai aj., 1978). U plodů 15. týden březosti bylo zjištěno v závislosti na příjmu bílkovin březí prasnicí 4 až 8 g.l⁻¹ albuminu (Atinmo aj., 1976). Námi stanovené hodnoty odpovídají informacím o plodech pocházejících od dobře živěných matek. Také hodnoty zjištěné u selat odstávaných a u jatečných prasat jsou v souladu s literárními údaji (Svendson aj., 1972; Perrin aj., 1978); u zvířat ve skupině těžších jsou někdy poněkud vyšší.

Diference v koncentraci plazmatického albuminu mezi prasaty s odlišným příjmem bílkovin nebo s rozdílnou hmotností v určitém věku opravňují k závěru, že zvolená analytická metoda je vhodná k hodnocení stavu proteinového metabolismu u prasat. Méně přesné výsledky může dávat, jak vysvítá z obr. 1, při koncentraci přesahující 40 g.l⁻¹, tj. u prasnic, ale právě u těch byla již bromkrezolová zeleň k analýze úspěšně použita (Atinmo aj., 1976; Hermansson aj., 1978; Ursache aj., 1979). Metoda podle Rodkey (1965) je poměrně jednoduchá, rychlá a nenáročná na chemikálie. Potíže však činí její kalibrace. Jako standard má být použit albumin téhož živočišného druhu, jehož vzorky jsou vyšetřovány (Rodkey, 1965). Sérový vepřový albumin není komerčně vyráběn (není uveden ani v katalogu Calbiochem — Behring Corp., 1980). Podle literárních sdělení byl při vyšetřování séra nebo plazmy prasat přímými metodami s barvivou použit jako standard albumin hovězí (Kertiles aj., 1979), nebo byla kolorimetrická reakce kalibrována pomocí elektroforetického vyšetření několika vzorků vepřového séra při současném stanovení celkového proteinu (Grimble a Whitehead, 1969). V této studii sloužil vepřový albumin ke zjištění odlišné schopnosti vázat bromkrezolovou zeleň a k výpočtu korekce

nutné při použití lidského albuminu používaného jako standardu při vyšetřování plazmy prasat. Násobením faktorem 1,25 se získá konečná hodnota. Přesnou standardizaci dále komplikují hmotnostní rozdíly mezi albuminovými preparáty a jejich skutečným obsahem albuminu. Ty mohou být dokonce větší než 10 % a jsou zřejmě působeny hlavně rozdílnou vlhkostí. Určitou nevýhodou této metody je i vysoká absorbance samotného roztoku barviva, což však při správném seřízení Spekolu nečiní potíže. Při použití bromkrezolové zeleně ke stanovení albuminu nejsou zjištěné hodnoty ovlivněny vyšetřením séra nebo plazmy získané přidávkem heparinu jako antikoagulantia, ani skladováním vzorků deset dní po odběru (T a s k e r, 1978).

Při metabolických testech v chovech prasat, jak lze očekávat, určení koncentrace plazmatického albuminu výhodně nahradí stanovení celkového proteinu. Ale i současné zjištění hladiny proteinu může být cenné, např. pro vypočítání podílu globulinové složky, pro kvantitativní hodnocení příjmu mleziva u sajících selat i k posouzení hemokoncentrace. Při proteinové malnutrici lze sice teoreticky očekávat snížení koncentrace albuminu i celkového proteinu, první uvedený parametr je však spolehlivější. V některých případech nejsou ve vzájemném souladu. Tak u vyšetřených tří skupin jatečných prasat byla hladina plazmatického proteinu téměř stejná, ale u hladiny albuminu se projevovala závislost na tělesné hmotnosti. Vzhledem k tomu, že všechna prasata přijímala stejné krmivo, lze usuzovat, že nízká koncentrace albuminu u lehkých prasat byla vyvolána vedle potenciálních důsledků chorob kvantitativně menším příjmem potravy, působeným pravděpodobně konfliktními situacemi pramenícími ze sociálních vztahů a pořadí zvířat ve větších skupinách. V takovém případě by stanovení plazmatického albuminu odhalovalo individuálně rozdílné množství skutečně přijatých bílkovin, což poskytuje informace nenahraditelné kvalitativní analýzou krmiva. Disproporci ve změnách hladiny albuminu a celkového proteinu po odstavu selat od prasnice, její význam a interpretaci bude žádoucí dále studovat.

Literatura

- ATINMO, T. — BALDIJAO, C. — POND, W. G. — BARNES, R. H.: Prenatal and postnatal protein malnutrition in pigs: effects on growth rate, serum protein and albumin. *J. Anim. Sci.*, 43, 1976, s. 606-612.
- DVOŘÁK, M.: Main nutrient plasma metabolite levels in piglets from birth through six weeks of age and in feeder pigs. *Acta vet.*, Brno, 47, 1978, s. 115-122.
- DVOŘÁK, M.: Účinky odlišného růstu odstavených selat, hladovění a hormonálního působení na některé metabolické parametry v krevní plazmě. *Vet. Med.*, Praha, 24, 1979, s. 301-310.
- GRIMBLE, R. F. — WHITEHEAD, R. G.: The relationship between an elevated serum amino acid ratio and the development of other biological abnormalities in the experimentally malnourished pig. *Br. J. Nutr.*, 23, 1969, s. 791-804.
- HERMANSSON, I. — EINARSSON, S. — EKMAN, L. — LARSSON, K.: On the agalactia *post partum* in the sow. A hematological and blood chemical study in affected and healthy sows. *Nord. VetMed.*, 30, 1978, s. 474-481.
- HOREJŠÍ, J. aj.: Základy klinické biochemie ve vnitřním lékařství. Avicenum — zdravotnické nakladatelství, Praha 1970, 548 s.
- KERTILES, L. P. — ANDERSON, L. L. — PARKER, R. O. — HARD, D. L.: Ma-

ternal serum metabolites during prolonged starvation in pregnant pigs. *Metabolism*, 28, 1979, s. 100-104.

LITTLE, W. — KAY, R. M. — MANSTON, R. — ROWLANDS, G. J. — STARK, A. J.: The effect of age, live-weight gain and feed intake on the blood composition of young calves. *J. agric. Sci., Camb.*, 89, 1977, s. 291-296.

MAŠEK, J. — HOLUB, A.: Blood serum protein components in newborn piglets of different birth weights. *Acta vet., Brno*, 39, 1970, s. 391-395.

MERCER, L. P. — MORGAN, P. H. — FLODIN, N. W. — EPPS, J. M.: Prediction of serum albumin levels in rats by the four-parameter model equation for nutritional responses. *Nutr. Rept. Intl.*, 19, 1979, s. 583-592.

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.

OKAI, D. B. — WYLLIE, D. — AHERNE, F. X. — EWAN, R. C.: Glycogen reserves in the fetal and newborn pig. *J. Anim. Sci.*, 46, 1978, s. 391-401.

PERRIN, W. R. — AHERNE, F. X. — BOWLAND, J. P. — HARDIN, R. T.: Effects of age, breed and floor type on the incidence of articular cartilage lesions in pigs. *Can. J. Anim. Sci.*, 58, 1978, s. 129-138.

RADOMIŃSKI, W. — ŻMUDZIŃSKI, J. — ŚWIATEK, Z.: Stres niepokożenia ciążnych macior a podatność prosiat na doświadczalne zakażenie *E. coli*. *Medycyna wet.*, 33, 1977, s. 118-121.

RODKEY, F. L.: Direct spectrophotometric determination of albumin in human serum. *Clin. Chem.*, 11, 1965, s. 478-487.

SVENDSEN, J. — WILSON, M. R. — EWERT, E.: Serum protein levels in pigs from birth to maturity and in young pigs with and without enteric colibacillosis. *Acta vet. scand.*, 13, 1972, s. 528-538.

SYKES, A. R.: The relationship between serum albumin concentration and body protein loss in pregnant sheep. *J. agric. Sci., Camb.*, 91, 1978, s. 173-179.

TASKER, J. B.: Studies on the use of coulter chemistry in the veterinary laboratory. *Cornell Vet.*, 68, 1978, s. 480-505.

TUMBLESON, M. E. — KALISH, P. R.: Serum biochemical and hematological parameters in crossbred swine from birth through eight weeks of age. *Can. J. comp. Med.*, 36, 1972, s. 202-209.

URSACHE, O. — QUINCHON, C. — TILLON, J. P.: Profils biochimiques chez les truies reproductrices. *Revue Méd. vét.*, 130, 1979, s. 1027-1037.

WOLTER, R.: Intérêt pratique, signification et limites d'interprétation des profils biochimiques en élevage. *Recl Méd. vét.*, 155, 1979, s. 677-683.

Došlo dne 14. 4. 1981

ДВОРЖАК, М. (Научно-исследовательский институт ветеринарии, Брно): Определение концентрации альбумина в плазме крови свиней с применением бромкрезоловой зелени. *Vet. Med., Praha*, 26, 1981 (8) : 481-489.

В плазме крови у 112-дневного зародыша, поросят при раннем отъеме от свиноматок и после 14 дней, свиней в убойной массе и у двух групп подсвинков при экспериментально разным усвоении белков с момента отъема, в течение 122 суток, нами определялась концентрация сырого протеина и альбумина. При этом было доказано отношение уровня плазматического альбумина к массе тела и содержанию белков в корме. Наоборот, различия в уровнях сырого протеина, поскольку были установлены, у подсвинков и убойных свиней с разной массой оказались статистически недостоверными. У поросят после отъема от свиноматки резко понизилась концентрация сырого (общего) протеина, а не плазматического альбумина, хотя и усвоение корма и привесы массы отмечались малыми. Обращается внимание на некоторые физиологические свойства у обоих параметров при развитии свиней и подчеркивается диагностическая ценность плазматического альбумина. При его определении обратным колориметрическим методом, заключающимся в способности связывать в буферном растворе бромкрезоловую зелень, учитывался коррекционный фактор, выведенный из разной емкости свиного и человеческого сывороточного альбумина, принятого в качестве стандарта.

протеин; альбумин; масса тела; питание; возраст; диагностика

DVOŘÁK, M. (Veterinary Research Institute, Brno): *The Determination of Albumin Concentration in the Blood Plasma of Pigs: The Use of Bromocresol Green*. Vet. Med., Praha, 26, 1981 (8) : 481-489.

The concentration of total protein and albumin was examined in the blood plasma of pig foetuses on the 112th day of pregnancy, piglets early weaned from sows and after 14 days, pigs at slaughter weight, and two groups of porkers given different amounts of protein from weaning to the age of 122 days. A relationship was demonstrated between the level of plasma albumin on the one hand and body weight and feed protein content on the other. As distinct from this, the differences in the levels of total protein were not statistically significant in porkers and pigs with different weight. In piglets weaned from sows, the concentration of total protein showed a marked decrease but plasma albumin content did not drop, although feed intake and body weight gains were low. Attention is drawn to some physiological peculiarities of both parameters in pig development and emphasis is laid on the diagnostic value of plasma albumin. The correction factor derived from different capacity of the swine and human serum albumin, serving as standard, was used for the determination of plasma albumin by the inversion colorimetric method based on the ability of binding bromocresol green in buffered solution.

protein; albumin; body weight; nutrition; age; diagnostics

DVOŘÁK, M. (Forschungsinstitut für Veterinärmedizin, Brno): *Festlegung der Konzentration von Albumin im Blutplasma der Schweine mit der Anwendung des Bromkresolgrünes*. Vet. Med., Praha, 26, 1981 (8) : 481-489.

Im Blutplasma der Schweineleibesfrüchte am 112 Tag der Trächtigkeit, der Ferkel bei einem frühen Absetzen von der Sau und nach 14 Tagen, der Schweine in der Schlachtmasse und der zwei Gruppen der Läufer Schweine mit einer experimental unterschiedlichen Aufnahme von Eiweißstoffen seit dem Absetzen im Laufe von 122 Tagen legten wir die Konzentration von Gesamtprotein und Albumin fest. Es wurde das Verhältnis des Spiegels des plasmatischen Albumins zur Körpermasse und dem Gehalt an Eiweißstoffen im Futter nachgewiesen. Demgegenüber waren die Unterschiede in den Spiegeln von Gesamtprotein, soweit sie festgestellt wurden, bei Läuferschweinen und Schlachtschweinen mit einer unterschiedlichen Masse statistisch unsignifikant. Bei den Ferkeln nach dem Absetzen von der Sau sank deutlich die Konzentration von Gesamtprotein, jedoch nicht die Konzentration des plasmatischen Albumins, obwohl die Aufnahme von Futtermitteln und auch die Zuwächse an Körpermasse klein waren. Es wird auf einige physiologische Besonderheiten bei beiden Parametern während der Entwicklung der Schweine aufmerksam gemacht. Es wird der diagnostische Wert des plasmatischen Albumins betont. Bei seiner Festlegung durch die inverse kolorimetrische Methode, die in der Fähigkeit liegt, in der Pufferlösung das Bromkresolgrün zu binden, wurde der Korrekturfaktor angewendet, der von einer unterschiedlichen Kapazität des als Standard dienenden Schweine- und menschlichen Serumalbumins abgeleitet wurde.

Protein; Albumin; Körpermasse; Ernährung; Alter; Diagnostik

Adresa autora:

MVDr. Miroslav Dvořák, CSc., Výzkumný ústav veterinárního lékařství, Hudcova 70, 621 33 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.

D 71.119

Gruppy krovi u krupnogo rogatogo skota gollano-frizskoj porody, importirovannogo v Polšu, i jeho vlijanije na populaciju skota černo-pestroj porody.

Krakov, Institut zootechniki 1980. 19 s., tab. (Krevní skupiny — skot — výzkum — Polsko)

JENSEN, P. T.

D 30.900/611

A simple method for determination of pepsinogen in bovine serum and plasma.

Copenhagen, Stat. veter. serumlab. 1977. S. 10-14. Meddelelser fra Statens veterinære serumlab. 611. (Krevní plazma — pepsinogen — stanovení — metody — skot — výzkum — Dánsko)

D 58.901/181

Bases physiologiques de la réalisation des aliments d'allaitement pour veaux.

Paris, INRA 1975. S. 70-100. 6 obr., 10 tab. L'alim. et la vie, 1975, 63, n. 2. (Látková přeměna — telata — výzkum / Telata — výživa — fyziologie — výzkum — Francie)

FIGUEREDO, A.

D 70.596

Algunos aspectos histologicos del TGI del cerdo y su relacion con los procesos digestivos.

La Habana, Centro de informacion y documentacion agropecuario 1979. 40 s., 28 obr., 1 tab. (Trávicí ústrojí — prase — histologický výzkum — Kuba)

SINOWATZ, F.

C 26.264/29/13

Neuere Ergebnisse zur Morphologie und Funktion des Nebenhodens.

Regensburg, Inst. f. Anatomie der Universität 1980. 8 s. Fachtagung Wels 1980. (Nadvarlata — morfologie — hospodářská zvířata — výzkum / Nadvarlata — funkce — hospodářská zvířata — výzkum — NSR)

VLIV KRMNÉ TECHNOLOGIE NA PRAŠNOST OVZDUŠÍ VÝKRMNY PRASAT

J. Drybčák

DRYBČÁK, J. (Výzkumný ústav veterinárního lékařství, Brno): *Vliv krmné technologie na prašnost ovzduší výkrmny prasat*. Vet. Med., Praha, 26, 1981 (8) : 491-495.

Během roku 1979 a 1980 jsme sledovali prašnost ovzduší výkrmových hal typu TEROZ TACHOV; v jedné byla původní krmná technologie, ve druhé byla ke krmné lince instalována soustava spádových trubek. Při vzájemném srovnání byla ve stáji s upravenou technologií krmení podstatně nižší prašnost se sníženým obsahem respirabilních částic. V této stáji byly vyšší přírůstky a nižší úhyny.

stáje; prostředí; stájový prach; užítkovost

Intenzifikace živočišné výroby a přechod na průmyslové způsoby chovu při vysoké koncentraci zvířat vyžaduje růst nároků na vytváření optimálního stájového prostředí. Zajištění odpovídajících požadavků prasat na mikroklima je nanejvýš žádoucí, neboť může spolurozhodovat o celé ekonomice výkrmu (Zeman, 1979). Jedním ze závažných nedostatků mikroklimatu výkrmu prasat je vedle nevhodné teploty a vlhkosti, hluku a zápachu také nadměrný obsah prachu a mikroorganismů ve stájovém ovzduší (Zeman, 1975; Cermak a Ross, 1978). Prašné prostředí patří nesporně k závažným faktorům ovlivňujícím negativně hygienu ustájených zvířat.

Biologická agresivita jemných prachových částic se projevuje u prasat dráždivými a alergickými účinky, protože stájový prach obsahuje vysoké procento organických látek s jistým podílem jemně mletých složek biofaktorů. Prach svými škodlivými účinky postihuje především dýchací orgány zvířete. Hloubka pronikání prachových částic do dýchacího traktu závisí na jejich velikosti a rychlosti sedimentace, dále pak na intenzitě a hloubce dýchání zvířete (Mehlhorn, 1979). Vdechnuté částice jsou odstraňovány z dýchacích cest činností řasinkového epitelu, fagocytózou makrofágů a mikrofágů, kašlem a kýcháním. Prach hrubší disperzity s částicemi nad 5 μm má poměrně malý hygienický význam, poněvadž je zachycen na nosní sliznici. Nejnebezpečnější je jemně disperzní prach s částicemi do 5 μm , jelikož proniká do plicních sklípků a v nich se natrvalo usazuje.

Kromě zatížení dýchacího a gastrointestinálního systému zvířat a ošetřovatelů postihuje prach také jejich kůži a oči. Ucpává vývody potních žláz, a tím znesnadňuje výdej tepla kůží a může způsobovat hnisavé kožní onemocnění. Na povrchu prachových částic jsou vázány

mikroorganismy, zápašné látky a škodlivé plyny, které při vysokých koncentracích mohou snižovat užitek a narušit zdravotní stav zvířat (Matthes, 1979). Stájový prach se skládá z proměnlivého množství mechanických příměsí, které ve formě jemných prachových částic jsou rozptýleny v ovzduší. Podle Mehllhorna (1979) je stájový prach složen ze čtyř frakcí, jež se od sebe liší průměrem částic a rychlostí sedimentace. Hrubý prach představují částice o průměru 500 až 50 μm a rychlosti sedimentace 300 až 15 $\text{cm} \cdot \text{s}^{-1}$, střední prach 50 až 10 μm a 15 až 0,6 $\text{cm} \cdot \text{s}^{-1}$, jemný prach 10 až 0,5 μm a 0,6 až 2 $\cdot 10^{-3}$ $\text{cm} \cdot \text{s}^{-1}$, nejjemnější prach 0,5 až 0,1 μm a 2 $\cdot 10^{-4}$ $\text{cm} \cdot \text{s}^{-1}$.

Prašnost ovzduší výkrmnů je značně rozdílná. Tak např. Russak (cit. Fischer, 1976) stanovil ve výkrmně prasat s podestýlkou v průměru 1761 prachovou částicí a v bezstelivové výkrmně v průměru 564 prachové částice v 1 ml vzduchu. Podle Mehllhorna (1979) v jednom litru vzduchu vepřinů s tradiční a průmyslovou technologií je obsaženo 5,0 až 6,0 $\cdot 10^4$ a 1,0 až 3,0 $\cdot 10^5$ prachových částic, přičemž četnost výskytu respirabilních částic menších než 5 μm se pohybuje od 70 do 80 %.

Úkolem této práce je ověřit možný vliv krmné technologie na prašnost ovzduší výkrmny prasat.

MATERIÁL A METODY

V r. 1979 a 1980 jsme sledovali v SZP M. prašnost ovzduší dvou výkrmových hal typu TEROZ TACHOV, což jsou bezokenní stáje příčně rozdělené na dvě samostatná oddělení se šesti řadami celoroškových kotců o kapacitě oddělení 850 až 950 prasat (v kotci 10 až 11 zvířat). Ve stáji se netopí, krmivo (granulované) se sype do koryt z dávkovačů umístěných cca 1,30 m nad úroveň podlahy. Protože krmná linka vykazovala značnou prašnost, byla v jedné stáji k dávkovačům instalována soustava spádových trubek, které měly zabránit rozprašení krmiva do ovzduší výkrmny. Větrání je podtlakové a má ventilátory ve stropních šachtách podél osy stáje a přírodní otvory v podélných stěnách pod stropem a nad podlahou.

Ke stanovení počtu a velikosti prachových částic jsme použili konimetr (VEB Carl Zeiss, Jena). Prašnost ovzduší byla sledována před krmením a 5 a 30 minut po spadu krmiva do koryt. Na každém ze tří předem zvolených stání byly odebrány tři vzorky a z nich byla vypočtena průměrná prašnost (průměrný počet prachových částic v 1 ml vzduchu). Za sledované období bylo v obou stájích odebráno po 270 vzorcích ovzduší.

VÝSLEDKY

Průměrná prašnost prostředí výkrmny s pozměněnou krmnou technologií (tab. I) kolísala před krmením od 25 do 32 částic v 1 ml vzduchu; 5 a 30 minut po spadu krmiva do koryt od 101 do 114 a od 35 do 44 částic v 1 ml vzduchu. Zastoupení respirabilních částic menších než 5 μm se ve sledovaném období pohybovalo od 68,0 do 78,2 %.

Ve výkrmně s původní technologií krmení (tab. I) bylo před krmením zjištěno od 58 do 69 částic v 1 ml vzduchu; 5 a 30 minut po spadu krmiva do koryt od 648 do 682 a od 274 do 305 částic v 1 ml vzduchu. Obsah částic menších než 5 μm kolísal od 72,4 do 85,8 %.

V hale s upravenou krmnou technologií činil ve sledovaném období průměrný denní přírůstek tělesné hmotnosti 0,532 kg při průměrné spo-

I. Průměrná prašnost ovzduší sledovaných výkrmen prasat v období před krmením a 5, resp. 30 minut po spadu krmiva do koryt — The average dust content in the air inside the studied pig fattening houses before feeding, and five and thirty minutes from pouring the feed into the troughs

Výkrmna s krmnou technologií	Období odběru vzorku	Počet částic v 1 ml vzduchu	Zastoupení částic $\leq 5 \mu\text{m}$ %	Zastoupení částic $> 5 \mu\text{m}$ %
Upravenou	A	25–32	68,0–71,9	32,0–28,1
	B	101–114	75,4–78,2	24,6–21,8
	C	35–44	70,5–71,4	29,5–28,6
Původní	A	58–69	72,4–73,9	27,6–26,1
	B	648–682	83,0–85,8	17,0–14,2
	C	274–305	78,1–82,6	21,9–17,4

Poznámka: A = odběr vzorků ovzduší před krmením, B = odběr vzorků ovzduší 5 minut po krmení, C = odběr vzorků ovzduší 30 minut po krmení

třebě krmiva 4,05 kg na 1 kg přírůstku; bylo evidováno 2,0 % úhynů a 6,1 % nutných porážek.

Ve stáji s původní krmnou technologií bylo dosaženo průměrného denního přírůstku tělesné hmotnosti 0,524 kg při průměrné spotřebě krmiva 4,07 kg na 1 kg přírůstku; úhynů bylo 2,6 % a nutných porážek 5,8 %.

DISKUSE

Praktické zkušenosti ukázaly, že postižení dýchacích cest u nutně poražených zvířat je v zimním období trojnásobně větší než v létě (Fischer, 1969). Zdravotní stav prasat během roku je zřejmě podmíněn celou řadou faktorů působících na organismus jak jednotlivě, tak i v celém svém souboru. Z tohoto komplexu činitelů se může uplatňovat vliv teploty, relativní vlhkosti a mikrobiálního zamoření ovzduší při vysoké prašnosti výkrmu. Nadměrná prašnost vepřinů totiž zvyšuje mikrobiální kontaminaci stájového prostředí a může spolupůsobit při vzniku některých onemocnění dýchacího ústrojí (Plocek aj., 1975; Fenske, 1978; Mehlhorn, 1979). U prasat ustájených v moderních výkrmnách jsou na jatkách mnohdy zjišťovány rozsáhlé změny na plicích a ty jsou příčinou jejich konfiskace. Proto je snižování prašnosti prostředí výkrmu prasat vysoce aktuální a řeší se řadou opatření, jako je např. úprava technologie krmení (volba vhodné výše spadu krmiva do koryt nebo na podlahu, utěsnění zásobníků krmiva nad kotci atd.).

V našem sledování jsme v období před krmením a po něm zaznamenali dynamické změny prašnosti ovzduší dvou výkrmu. Ukázalo se, že prašnost ovzduší, zjištěná 5, resp. 30 minut po spadu krmiva do koryt, byla ve stáji s původní krmnou technologií proti stáji s upraveným spa-

dem krmiva pětkrát až šestkrát, resp. šestkrát až devětkrát vyšší. Dále pak ve výkrmně s upravenou krmnou technologií stoupla prašnost 5 minut po spadu krmiva do koryt asi na čtyřnásobek prašnosti zjištěné před krmením; v hale s neupravenou linkou krmení se prašnost zvýšila desetkrát až jedenáctkrát. V období 30 minut po spadu krmiva do koryt se v ovzduší obou sledovaných stájí snížila prašnost proti prašnosti zjištěné 5 minut po krmení dvojnásobně až trojnásobně. Ve stáji se soustavou spádových trubek byl počet částic menších než $5\ \mu\text{m}$ v ovzduší mírně zvýšen 5 minut po spadu krmiva do koryt a ve stáji s původní krmnou linkou výrazně zvýšen 5 a 30 minut po spadu krmiva do koryt. Ve výkrmně s upravenou linkou krmení byly ve sledovaném období dosaženy vyšší přírůstky a procenta úhynů byla nižší.

Literatura

- CERMAK, J. P. — ROSS, P. A.: Airborne dust concentrations associated with animal housing tasks. *Fm Bldg Progr.*, 1978, č. 51, s. 11-15.
- FENSKE, G.: Industrielle Luftverunreinigungen und Tiergesundheit. *Mh. VetMed.*, 33, 1978, č. 19, s. 721-727.
- FISCHER, A.: Mikrobiální zamoření stájového ovzduší výkrmu pro prasata s technologií suchého výkrmu. *Acta vet.*, Brno, 38, 1969, s. 273-286.
- FISCHER, A.: Prašnost stájového ovzduší. *Veterinářství*, 26, 1976, č. 5, s. 221-222.
- MATTHES, S.: Art und Zusammensetzung der Luftverunreinigungen in der Nutztierhaltung und ihre Wirkungen in der Stallumgebung. *Dtsch. tierärztl. Wschr.*, 86, 1979, č. 4, s. 154-155.
- MEHLHORN, G.: *Lehrbuch der Tierhygiene*. 1. vyd. Jena, VEB Gustav Fischer Verlag 1979, 557 s.
- PLOCEK, F. aj.: Průmyslová výroba jatečných prasat. 1. vyd. Praha, Stát. zeměd. nakl. 1975, 186 s.
- ZEMAN, J.: Zoohygiena a ochrana zdraví v chovech, zvláště pak ve velkochovech prasat. *Česká zeměd. společnost ve Vyškově* 1975, 36 s.
- ZEMAN, J.: Vliv zevního prostředí při odchovu a výkrmu prasat. *Náš Chov*, 39, 1979, č. 1, s. 21-24.

Došlo dne 24. 4. 1981

ДРЫБЧАК, И. (Научно-исследовательский институт ветеринарии, Брно): Влияние технологии кормления на запыленность воздуха в свинооткормочнике. *Vet. Med.*, Praha, 26, 1981 (8) : 491-495.

В течение 1979 и 1980 гг. определяли запыленность среды в свинооткормочниках типа TEROZ TACHOV; в одном осуществляли старую технологию кормления, а во втором установили к кормовой линии систему самотечных труб. Сравнение показало гораздо меньшую запыленность при втором способе, процент частиц, могущих попасть в органы дыхания, там меньше. В этом втором откормочнике отмечены повышенные привесы и меньше падежа свинарники; среда; запыленность свинарника; продуктивность

DRYBČÁK, J. (Veterinary Research Institute, Brno): *The Influence of the Technology of Feeding on Dust Nuisance in a Pig Fattening House*. *Vet. Med.*, Praha, 26, 1981 (8) : 491-495.

Dust nuisance was studied in the pig fattening halls of the TEROZ TACHOV type in 1979 and 1980. One of these halls was equipped with the original feeding technology, in the other a set of gravity pipes was added to the feeding line. The

comparison showed that the house with the adjusted feeding system had a much lower dust nuisance with a reduced content of respirable particles. In this house better weight gains and lower mortality were observed.

pig housing premises; environment; stable dust; performance

DRYBČÁK, J. (Forschungsinstitut für Veterinärmedizin, Brno): *Einfluß der Fütterungstechnologie auf die Staubbelaftung der Schweinemaststallluft*. Vet. Med., Praha, 26, 1981 (8) : 491-495.

Im Verlauf der Jahre 1979 und 1980 untersuchten wir die Staubbelaftung der Luft in Masthallen des Typs TEROZ TACHOV; in der einen Halle war die ursprüngliche Fütterungstechnologie betätigt, in der zweiten war zu der Futterbahn ein System von Fallrohren installiert. Beim gegenseitigen Vergleich dieser zwei Hallen wurde im Stall mit der umgeformten Fütterungstechnologie eine beträchtlich niedrigere Staubbildung mit herabgesetztem Anteil respirabler Partikeln verzeichnet. Auch gab es in diesem Stall höhere Massezunahmen und ein niedrigeres Mortalitätsprozent.

Ställe; Umweltbedingungen; Stallstaub; Nutzleistung

Adresa autora:

Ing. Jiří Drybčák, Výzkumný ústav veterinárního lékařství, Hudcova 70, 621 32 Brno

Upozorňujeme čtenáře, že v čísle 9 časopisu

VETERINÁRNÍ MEDICÍNA

mají být uveřejněny články:

- L. Valíček, B. Šmíd, J. Štěpánek, J. Menšík: Elektronově mikroskopický průkaz koronavirů u telat s průjemem
- J. Staník, J. Tetřevová, A. Ižariková, V. Čierna: Cytogenetické štúdium leukózy hovädzieho dobytká
- M. Machatková, J. Menšík, V. Rozkošný: Růst fetálních bovinních buněk po intrauterinní virové infekci plodů
- P. Forejtek, S. Navrátil: Klinické limity vybraných biochemických ukazatelů krevního séra u kanců plemene bílé ušlechtilé, landrase a duroc
- S. Navrátil, P. Forejtek: Vztahy mezi některými spermologickými, biochemickými, endokrinologickými a fertilizačními ukazateli kančích ejakulátů
- J. Gilka, P. Krejčí, Z. Matyáš, B. Janková: Vliv přídatku sušených prasečích výkalů v dietě nosnic na jakost produkovaných vajec
- D. Lamošová: Vplyv elektrokonvulzivného šoku na proteosyntézu u japonskej prepelice

OPAKOVANĚ PROVÁDĚNÁ DEHELMINTIZACE A JEJÍ VLIV NA PRŮBĚH PŘIROZENÉ INVAZE HLÍSTIC U OVCÍ

B. Kotrlá, O. Koždoň

KOTRLÁ, B. — KOŽDOŇ, B. (Parazitologický ústav ČSAV, Praha; Veterinární zařízení, Hradiště): *Opakovaně prováděná dehelmintizace a její vliv na průběh přirozené invaze hlístic u ovcí*. Vet. Med., Praha, 26, 1981 (8) : 497-504.

Dlouhodobé používání levamizolu proti gastrointestinálním hlísticím ovcí v provozu pastevního chovu ukázalo, že diskrepance ve výsledcích získaných při experimentálních pokusech a při použití v terénu souvisí s fyziologií hostitelů a cizopasníků. Při praktickém použití v terénu byl účinek dehelmintizace jednou 85%, jinak dosahoval v průměru 61,1 % a trval pět až šest týdnů i ve stádech, ve kterých byla zvířata odčervována pětkrát do roka. Odčervení, které se uskutečnilo později než v říjnu, neničilo larvy v mukóze, neboť v této době jsou již v anabíóze; kladně ovlivnilo pouze dospělé. Od února larvy z mukózy dospívají a dochází k překotnému vylučování vajíček ("spring rise phenomenon"), které dubnová aplikace léčiva většinou nesníží. Hlístice *Bunostomum phlebotomum*, *Oesophagostomum* spp., *Cooperia* spp. a *Trichostrongylus* spp. se po třech letech léčení téměř ve stádě nevyskytovaly. *Chabertia ovina*, *Ostertagia* spp. a *Strongyloides papillosus* byly nejodolnější.

levamizol; *Bunostomum*; *Oesophagostomum*; *Cooperia*; *Trichostrongylus*; *Chabertia*; *Ostertagia*; *Haemonchus*; *Strongyloides*; *Nematodirus*; *Capillaria*; *Trichuris*

MATERIÁL A METODA

Pokusy jsme dělali v Doupovských horách v letech 1977 až 1979 u dvou stád ovcí plemene cigája a jednoho stáda valašek. Ve stádech bylo kolem 400 matek. Nilverm byl podáván perorálně jednorázově v dávce 20 mg.kg⁻¹ hmotnosti dvakrát až pětkrát za rok, jak je patrné z obr. 1—3. Kontrola byla provedena kvantitativní koprologickou metodou podle Brezy koncem každého měsíce a pitvami ovcí v prosinci a lednu. Larvy ve slezu byly sledovány pomocí 0,5% kyseliny chlorovodíkové.

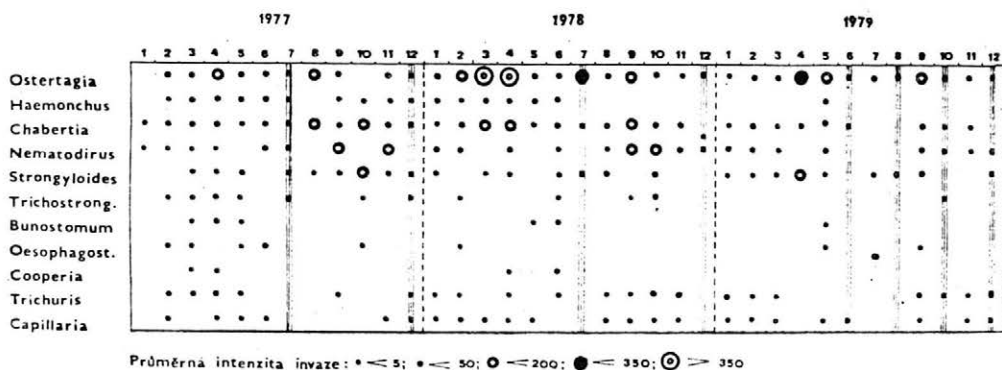
VÝSLEDKY

Vylučování vajíček hlístic u prvního stáda ovcí plemene cigája v prvním roce, odčervovaného třikrát, i u stáda druhého, odčervovaného pětkrát za rok, mělo obdobný průběh. Probíhalo ve dvouvrcholové křivce s jarním maximem v dubnu u prvního stáda 85 %, u druhého stáda 87 %. Ani dubnová dehelmintizace tento vrchol nesnížila. Podzimní invaze vrcholily u prvního stáda v říjnu, u druhého v září. Říjnová dehelmintizace ve druhém stádě ovlivnila vylučování vajíček v únoru a v březnu následujícího roku, kdy byla extenzita invaze 62,5 %. Dehelmintizace v dubnu tentokrát procento dále snížila na 40 %, ale v květnu vyvrcho-

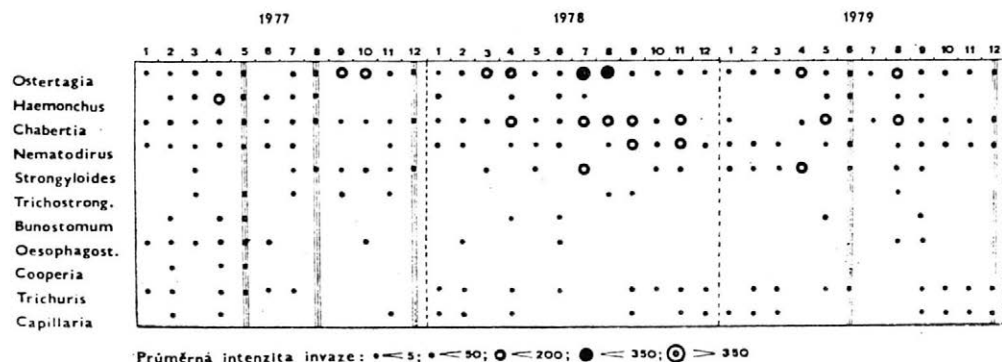
lila invaze maximem 96,6 %. Ve stádě prvním, které nebylo odčerveno celý rok, probíhaly jarní invaze obdobně jako v roce předchozím, od srpna však docházelo při vyšetřování trusu k větším výkyvům jak v počtu vajíček, zejména u *Chabertia ovina*, *Nematodirus* spp. a *Strongyloides papillosus*, tak i v počtu napadených zvířat. Třetím rokem nebylo ve druhém stádě zaznamenáno po dubnovém odčervení snížení invadovaných zvířat. Nižší počet vajíček byl zaznamenán teprve v květnu. Stejně tomu bylo u stáda prvního, kterému byl lék poprvé aplikován v červnu. V průběhu letních a podzimních invazí byly v obou stádech rozdíly. První stádo mělo dva vrcholy: v srpnu a v říjnu (60 %), druhé stádo mělo jeden vrchol v září (80 %). U stáda, které bylo během tří let nejvíce odčervováno, byla ve třetím roce pokusu extenzita v letních a podzimních měsících vyšší (převládala *Ostertagia* spp., *Chabertia ovina* a *Haemonchus contortus*) než u stáda ovcí plemene cigája, odčervovaného v prvním roce třikrát, v posledním roce dvakrát.

Stádo valašek bylo odčervováno po dva roky v červenci a prosinci. Přestože lék nebyl podáván v jarních měsících, invaze probíhaly obdobně jako v ostatních stádech. Maximum intenzity i extenzity bylo v březnu a v dubnu. Snížení po červencovém léčení bylo jen krátkodobé, protože

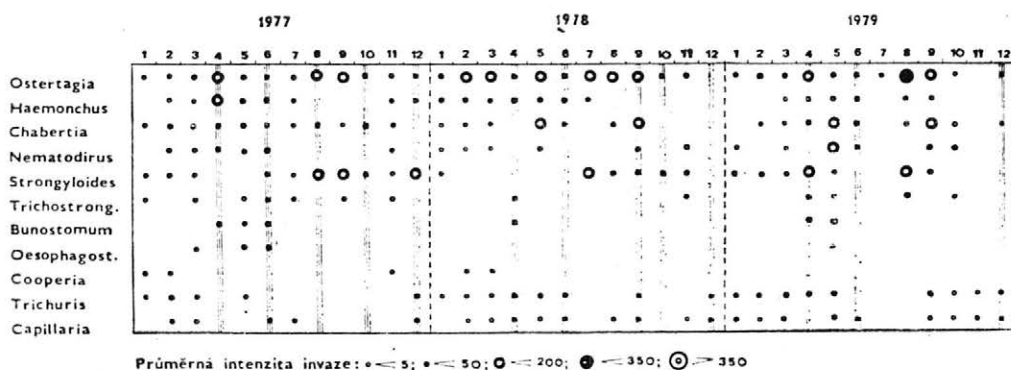
I. Vylučování vajíček u stáda valašek v průběhu tří let (svislé čáry = odčervování)
— Egg production in a flock of the Wallachian sheep during three years (vertical lines = treatment)



II. Vylučování vajíček u prvního stáda ovcí plemene cigája v průběhu tří let —
Egg production in the first flock of Tsigai sheep during three years



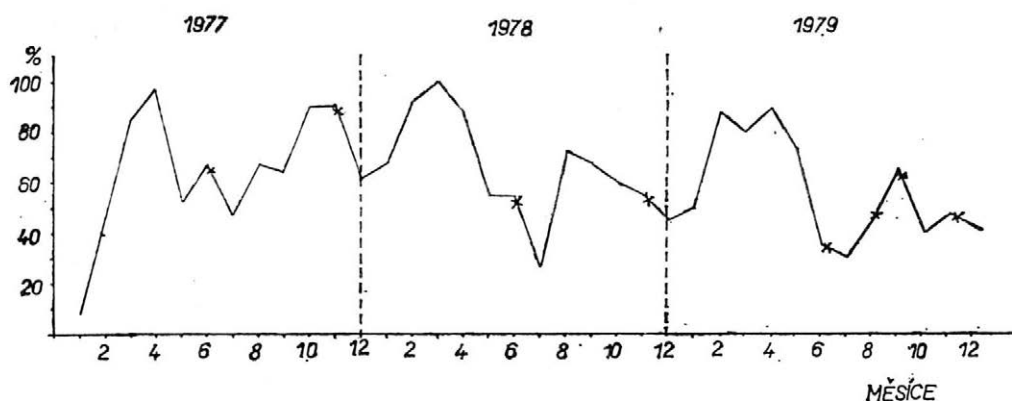
III. Vylučování vajíček u druhého stáda ovčí plemene cigája v průběhu tří let — Egg production in the second flock of Tsigai sheep during three years



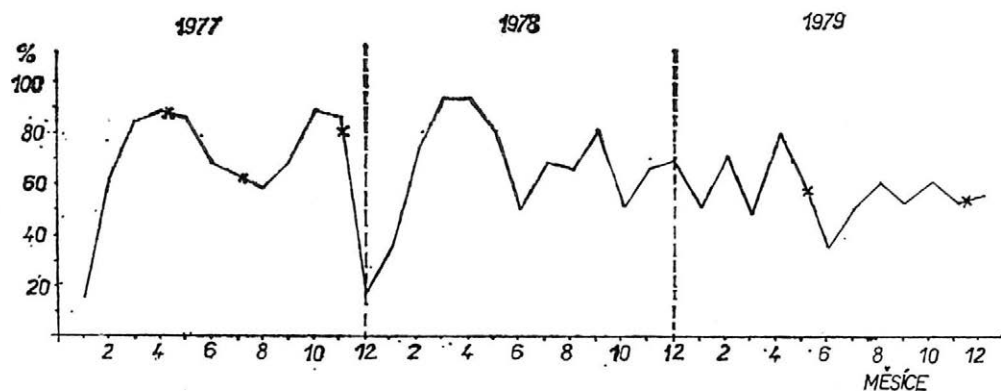
v září a druhý rok dokonce v srpnu invaze opět stouply. Třetím rokem se v jarních měsících projeví ve všech třech stádech výkyvy (tab. I—III). U valašek dosahovaly invaze vyšší hodnoty, při červnové kontrole, která se dělala v den aplikace léku, klesly na 35 %. Způsobovaly je hlístice *Ostertagia* spp., *Chabertia ovina* a *Capillaria bovis*. V červenci dvě poslední jmenované zmizely, zůstala *Ostertagia* spp. a přidružil se *Strongyloides papillosus*. V září jsme však již nacházeli vajíčka sedmi druhů (tab. I) i přes srpnovou dehelmintizaci. Říjnové podání léků snížilo extenzitu na 40 % a zůstaly opět *Ostertagia* spp., *Chabertia ovina*, *Nematodirus* spp., *Capillaria bovis* a *Trichuris* spp.

DISKUSE

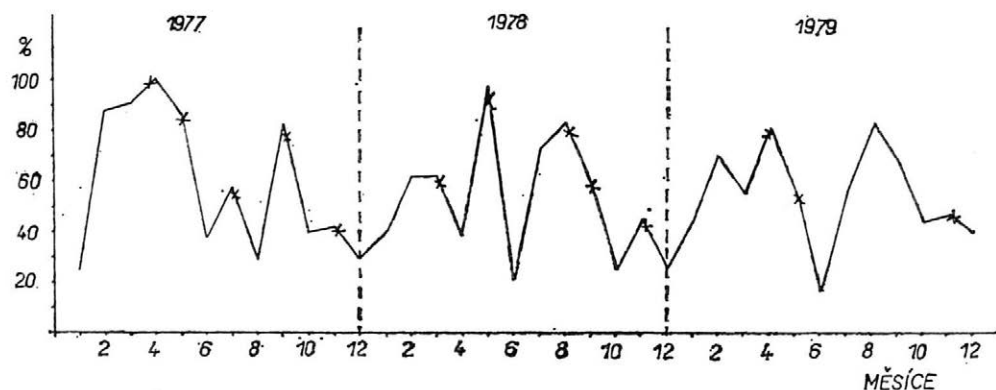
Dlouhodobé pokusy ukázaly, že účinek anthelmintika, projevující se sníženým počtem vajíček na pět až šest týdnů, souvisí s tím, že vývoj helmintůz ve stádě podléhá mnoha činitelům: jednak hostitel a změny v jeho organismu jak hormonální, tak i imunitní reakce ovlivňují dospívání cizopasníků, jednak biologie a fyziologie cizopasníků (i zárodků) závisí na klimatu a povětrnostních podmínkách. Nakonec i léky samy působí nejen na cizopasníky, nýbrž i na různé pochody a reakce v hostitelových orgánech. Je známo, že levamisol a thiabendazol jsou schopné zvýšit imunitní reakce zvířat, neboť aktivují makrofágy a zvyšují hladinu gamaglobulinu. To má vliv na dospívání cizopasníků, procento inhibujících larev i ovulační činnost samic červů. Proto všechny tyto faktory musíme mít na zřeteli, jestliže chceme hodnotit získané výsledky. Pokles vajíček po zásahu léčivem ukazuje, že léčivo usmrtilo dospělé cizopasníky. Trvá-li pokles vylučování vajíček pět až šest týdnů i během letních měsíců, kdy je neustálý příjem larválních stadií na pastvinách, znamená to, že obranná schopnost hostitelů přetrvává o něco déle. Většina červů totiž dozrává v hostitelském zvířeti za tři až čtyři týdny. Zůstává otázka, do jaké míry je snížena přirozená imunitní reakce, která vzniká stálým přijímáním larválních stadií. Michel (1967) ukázal, že denní podávání invazních larev způsobuje jejich hromadění ve sliznici, čímž stoupá počet inhibujících larev.



1. Průběh invazí u stáda valašek po odčervování (x = odčervování) — The course of invasions in the Wallachian sheep flock after treatment (x = treatment)



2. Průběh invazí u prvního stáda ovčí plemene cigája — The course of invasions in the first flock of Tsigai sheep



3. Průběh invazí u druhého stáda ovčí plemene cigája — The course of invasions in the second flock of the Tsigai sheep

Pokusy také ukázaly, že léčivo sice působí na larvy v mukóze, ovšem ne na ty, které jsou od pozdního podzimu do jara v anabióze, kdy je u nich zastaven metabolismus. Proto listopadová a prosincová dehelmintizace nesplňuje svůj úkol a není finančně rentabilní. Kdyby tomu tak nebylo, musely by být ovce až do nového přijímání invazních larev na pastvinách zcela bez parazitů, neboť v ovčinech (na rozdíl od stájí) k reinvazím nedochází.

Dubnová aplikace léčiva většinou dopad na „spring rise phenomenon“ nemá. Proto jarní vrchol invazí, ať je způsoben překotným dospíváním larválních stadií z mukózy, nebo ovulační činností samic červů vyprovokovanou fyziologickými změnami hostitelů, zůstává stejný jako u neléčených kusů. Podle některých autorů levamisol stimuluje ovulaci hlístic. Teprve aplikace léků v květnu a v červnu snížila počet vylučovaných vajíček. Ovšem v květnu se snížil počet invadovaných zvířat i intenzita i u neléčeného stáda (obr. 1, 2).

Nejcitlivěji reagovaly na léčivo druhy *Bunostomum*, *Oesophagostomum*, *Cooperia* a *Trichostrongylus*. Před odčervováním a ještě v prvním roce pokusů se tyto hlístice pravidelně vyskytovaly u všech stád během celého roku, v posledním roce vymizely.

Nejodolnější jsou naproti tomu *Ostertagia*, *Chabertia*, *Strongyloides*, které se pravidelně objevovaly ihned po dehelmintizaci a ukazuje se, že se u nich vypěstovala rezistence. O hlísticích z rodu *Trichuris* a *Capillaria* je známo, že na ně tyto sloučeniny nepůsobí.

ZÁVĚR

Na základě výsledků získaných v průběhu tří let, kdy byla dehelmintizována tři stáda ovcí v oblasti Doupovských hor, bylo možné konstatovat:

1. Aplikace léčiva v listopadu a v prosinci není rentabilní. Léčivo nezasáhne hypobiotické larvy, které jsou v této době v anabióze, a intenzita a extenzita invazí je ve stádech ovcí nižší, jak potvrdily prosincové pitvy brakových ovcí. Podzimní dehelmintizaci je proto nutné udělat nejpozději v říjnu, aby se zasáhly kromě dospělců i invazní larvy.

2. Dehelmintizace v dubnu neovlivňovala extenzitu ani intenzitu vylučování vajíček. Teprve po květnové aplikaci léku dochází ke snížení jejich počtu.

3. V oblastech, kde je stacionární výskyt gastrointestinálních hlístic silný, je výhodné zvýšit počet dehelmintizací. Doporučujeme srpnový a zářijový termín.

4. Ukazuje se, že při časté dehelmintizaci mohou vznikat rezistentní kmeny hlístic. To jsme pozorovali především u rodu *Ostertagia*, *Haemonchus*, *Chabertia* a *Strongyloides*.

5. Během pokusů byla kontrolována plodnost matek, úhyn jehňat a produkce vlny. Ve druhém stádě ovcí plemene cigája činila v prvním roce plodnost 106,2 %, ve druhém roce 94,4 % a ve třetím roce 94,8 %. Úhyn jehňat byl 18, 22 a 16 kusů. V prvních dvou letech připadaly 3 kg vlny na matku, v posledním roce 3,56 kg. U prvního stáda ovcí plemene cigája byla plodnost 112,9 %, 104,3 % a 93,1 %, hynutí jehňat bylo 19, 24 a 45 kusů. Stříž vlny dosahovala v průměru 3,29, 3,40 a 3,40 kg na matku.

Literatura

- ANDERSON, N. — ARMOUR, J. — JENNINGS, F. W. — RITCHIE, J. D. — URQUHART, G. M.: Inhibited development of *Ostertagia ostertagi*. Vet. Rec., 77, 1965, s. 146-147.
- ARMOUR, J. — BRUCE, R. G.: Inhibited development in *Ostertagia ostertagi* infections — a diapause phenomenon in a nematode. Parasitology, 69, 1974, s. 161-174.
- BERGSTROM, R. C. — KINNISON, J. L. — WERNER, B. A.: Parasitism (*Trichostrongylus colubriformis* and *Eimeria ninaekohlyakimovae*) in sheep: Relationship between wool fibre diameter changes and feed conversion efficiency. Am. J. vet. Res., 38, 1977, s. 887-888.
- BEZUBIK, B. — SIŃSKI, E. — SWIETLIKOWSKI, M.: Seasonal dynamics of infection and the effect of Nilverm on helminth parasites of sheep. Acta parasit. polon., 18, 1970, s. 441-451.
- BLISS, D. H. — TODD, A. C.: Milk production by Wisconsin dairy cattle after deworming with thiabendazole. Vet. Med. Small Anim. Clin., 69, 1974, s. 638-640.
- BLITZ, N. M. — GIBBS, H. C.: Studies on the arrested development of *Haemonchus contortus* in sheep — I. The induction of arrested development. Int. J. Parasit., 2, 1972, s. 5-12.
- BLITZ, N. M. — GIBBS, H. C.: Studies on the arrested development of *Haemonchus contortus* in sheep. II. Termination of arrested development and the spring rise phenomenon. Int. J. Parasit., 2, 1972, s. 13-22.
- BORZEMSKI, J. — MARKEEWICZ, K. — ROMANIUK, K. — TARCZYŃSKI, S.: Badania nad przydatnością preparatu Nilverm do zwalczania inwazji nicieni zoladkowo-jelitowych u owiec. Medycyna wet., 24, 1968, s. 283-286.
- DUNSMORE, J. D.: Effect of the removal of an adult population of *Ostertagia* from sheep on concurrently existing arrested larvae. Aust. vet. J., 39, 1963, s. 459-463.
- CHROUST, K. — DYK, V.: Zur Wirksamkeit von Fenbendazol, Thiabendazol und Tetramisol auf Magen- und Darmnematoden der Wiederkäuer. Dtsch. tierärztl. Wschr., 82, 1975, s. 473-512.
- INDERBITZIN, F. — ECKERT, J.: Induction of hypobiosis in *Dictyocaulus viviparus* and the effect of fenbendazole treatment. Fourth Intern. Congr. Parasit. Warszawa, C, 1978, s. 162.
- KOŽDOŇ, O. — ZAJÍČEK, D.: Vliv dehelmintizací uskutečněných v průběhu roku na sezónní dynamiku přirozených invazí nematodů u ovcí. Vet. Med., Praha, 21, 1976, č. 11, s. 693-702.
- LE JAMBRE, L. F.: Anthelmintic resistance in gastrointestinal nematodes of sheep. Division of Animal Health, C. S. I. R. O., Australia, 1978, s. 109.
- MANSFIELD, M. E. — TODD, K. S. — LEVINE, N. D.: Developmental arrest of *Haemonchus contortus* larvae in lambs given larval inoculum exposed to different temperatures and storage conditions. Am. J. vet. Res., 38, 1977, s. 803-806.
- MICHEL, J. F.: The phenomena of host resistance and the course of infection of *Ostertagia ostertagi* in calves. Parasitology, 53, 1963, s. 63-84.
- MICHEL, J. F.: Regulation of egg output of populations of *Ostertagia ostertagi*. Nature, 215, 1967, s. 1001-1002.
- REID, J. F. S. — ARMOUR, J. — DUNCAN, J. L.: Efficacy of oxfendazole against inhibited larvae of *Ostertagia ostertagi* and *Cooperia oncophora*. Fourth Intern. Congr. Parasit. Warszawa, D, 1978, s. 42.
- THEODORIDES, V. J.: Strains of *Haemonchus contortus* resistant to benzimidazole anthelmintic. J. Parasit., 56, 1970, s. 343.
- TODD, A. C. — MYERS, G. H. — BLISS, D. — COX, D. D.: Milk production in Wisconsin dairy cattle after anthelmintic treatment. Vet. Med. Sm. Anim. Clin., 67, 1973, s. 1233-1236.
- ZAJÍČEK, D. — VLASTNÍK, F.: Vývoj helmintóz u ovcí po odčervení Nilvermem. Veterinářství, 22, 1972, s. 121-123.

Došlo dne 13. 3. 1981

KOTRLA, B. — KOŽDOŇ, O. (Institut parazitologie ČSAR, Praha; Veterinárne ústredie, Hradište): *Povtorná dehelmintizácia a jej vplyv na chod prírodnej invázie hlištov u oviec*. Vet. Med., Praha, 26, 1981 (8) : 497-504.

Долгосрочное использование левамизола против желудочнокишечных глистов у овец, в период пастбищного разведения, показало, что несогласие в результатах, полученных при экспериментальных исследованиях и при использовании на местах, соответствует физиологии хозяев и паразитов. При практическом использовании на местах действие дегельминтизации раз достигло 85%, в общем достигало в среднем 61,1% и продолжалось пять даже шесть недель и у стад, в которых животные прошли дегельминтизацию пять раз в год. Дегельминтизация, проведенная позднее октября, не уничтожала личинок в слизи, поскольку в этот период они уже в стадии анабиоза; положительно влияла лишь на взрослых. С февраля личинки в слизи созревают и начинается поспешное откладывание яиц ("spring rise phenomenon"), которые, применение лекарства в апреле, в большинстве случаев не уменьшает. Глисты *Bunostomum phlebotomum*, *Oesophagostomum* spp., *Cooperia* spp. и *Trichostrongylus* spp. после трехлетнего лечения стада почти не появлялись. *Chabertia ovina*, *Ostertagia* spp. и *Strongyloides papillosus* были самыми устойчивыми.

левамизол; *Bunostomum*; *Oesophagostomum*; *Cooperia*; *Trichostrongylus*; *Chabertia*; *Ostertagia*; *Haemonchus*; *Strongyloides*; *Nematodirus*; *Capillaria*; *Trichuris*

KOTRLA, B. — KOŽDOŇ, O. (Parasitological Institute. Czechoslovak Academy of Sciences, Praha; Veterinary Centre, Hradište): *Repeated Helminth Control Treatment and its Effect on the Course of Natural Invasion of Sheep by Roundworms*. Vet. Med., Praha, 26, 1981 (8) : 497-504.

Long-continued use of levamisole for the control of gastrointestinal roundworms in sheep kept on pasture showed that the discrepancy in the results obtained in experiments and in the terrain is associated with the physiology of hosts and parasites. In practical use in the terrain, the preparation had an 85% effect in one case; otherwise the average effect was 61.1% and persisted five to six weeks in all flocks, including those in which the animals were treated five times a year. Treatment performed later than in October did not destroy larvae in the mucous membrane because they already were in their anabiosis; only the imagoes were positively influenced. The larvae from the mucosa begin to mature in February and eggs are produced hastily ("spring rise phenomenon"); the use of the drug in April mostly fails to reduce this abundant production of eggs. The roundworms *Bunostomum phlebotomum*, *Oesophagostomum* spp., *Cooperia* spp. and *Trichostrongylus* spp. almost disappeared from the flock after three-year treatment. *Chabertia ovina*, *Ostertagia* spp. and *Strongyloides papillosus* showed the highest resistance.

levamisole; *Bunostomum*; *Oesophagostomum*; *Cooperia*; *Trichostrongylus*; *Chabertia*; *Ostertagia*; *Haemonchus*; *Strongyloides*; *Nematodirus*; *Capillaria*; *Trichuris*

KOTRLA, B. — KOŽDOŇ, O. (Parasitologisches Institut der Tschechoslowakischen Akademie der Wissenschaften, Praha; Veterinäreinrichtung, Hradište): *Wiederholt vorgenommene Dehelminthisation und deren Einfluß auf den Verlauf der natürlichen Invasion durch Fadenwürmer bei Schafen*. Vet. Med., Praha, 26, 1981 (8) : 497-504.

Eine langfristige Anwendung von Levamisol gegen gastrointestinale Nematoden in einem Weidehaltungsbetrieb erwies, daß die, in bezug auf die bei Experimenten und bei der Terrainapplikation gewonnenen Ergebnisse, festgestellte Diskrepanz mit der Physiologie der Wirte sowie der Parasiten zusammenhängt. Bei der praktischen Anwendung im Terrain betrug der Dehelminthisationseffekt einmal 85%, sonst erreichte er durchschnittlich 61,1% und dauerte fünf bis sechs Wochen an, u. zw. auch in Herden, wo die Tiere fünfmal im Jahr dehelminthisiert wurden. Eine Dehelminthisierung, die später als im Oktober vorgenommen wurde, vernichtete die Larven in der Mukose nicht mehr, da diese in dieser Zeit bereits in Anabiose sind; positiv wurden ausschließlich reife Individuen bewirkt. Von Februar an reifen die Larven aus der Mukose heran und es kommt zu einer hastigen Absonderung der Eier ("spring rise phenomenon"), welche die April-Applikation kaum

herabzusetzen vermag. Nach dreijähriger Behandlung traten die Fadenwürmer *Bunostomum phlebotomum*, *Oesophagostomum* spp., *Cooperia* spp. und *Trichostrongylus* spp. in der Herde nahezu nicht mehr auf. Die *Chabertia ovina*, *Ostertagia* spp. und *Strongyloides papillosus* erwiesen sich als widerstandsfähiger.

Levamisol; *Bunostomum*; *Oesophagostomum*; *Cooperia*; *Trichostrongylus*; *Chabertia*; *Ostertagia*; *Haemonchus*; *Strongyloides*; *Nematodirus*; *Capillaria*; *Trichuris*

Adresy autorů:

RNDr. Božena Kotrlá, DrSc., Parazitologický ústav ČSAV, Flemingovo nám. 2, 160 00 Praha 6

MVDr. Ondřej Koždoň, CSc., Veterinární zařízení, 345 42 Hradiště

J. Bartoš, Z. Matyáš

BARTOŠ, J. — MATYÁŠ, Z. (Výzkumný ústav veterinárního lékařství, Brno): Výskyt zearalenonu v tuzemských zrninách. Vet. Med., Praha, 26, 1981 (8): 505-512.

Poněvadž se v ČSSR přítomnost zearalenonu dosud nevyšetřovala, vybrali jsme z řady analytických postupů pro zjišťování tohoto mykotoxinu v zrninách a některých krmných směsích metodou, kterou popsali Mirocha aj. (1974). Vyšetřili jsme 61 vzorek zrnin a 22 vzorky jiných krmiv. U ječmene bylo 58,3 % vzorků pozitivních v rozmezí od 0,19 do 0,82 $\mu\text{mol} \cdot \text{kg}^{-1}$, u pšenice 46,4 % vzorků v rozsahu od 0,19 do 0,57 $\mu\text{mol} \cdot \text{kg}^{-1}$, u kukuřice 6,7 % vzorků v množství 0,33 $\mu\text{mol} \cdot \text{kg}^{-1}$. Vzorky ovsa byly bez nálezu. Pozitivní nálezy ve vzorcích ČOS 1, ČOS 2, SOL a KPB se pohybovaly od 0,19 do 0,32 $\mu\text{mol} \cdot \text{kg}^{-1}$. Koncentrace vyšší než 0,32 $\mu\text{mol} \cdot \text{kg}^{-1}$ zearalenonu byla zjištěna v sedmi vzorcích pšenice, ve čtyřech vzorcích ječmene, v jednom vzorku kukuřice a v jednom vzorku kompletní krmné směsi pro časný odstav selat. Uvedou metodu doporučujeme pro screeningové vyšetřování zrnin na přítomnost zearalenonu v ČSSR.

cizorodé látky; mykotoxiny; krmiva; výskyt zearalenonu; TLC

Zearalenon ($\text{C}_{18}\text{H}_{22}\text{O}_5$) je bílá krystalická látka o molekulové hmotnosti 318 a bodu tání 164 až 165 °C s absorpčním maximem při 236 nm, 274 nm a 316 nm. Vykazuje modrozelenou fluorescenci při působení dlouhovlnného (360 nm) UV světla a intenzivnější zelenou fluorescenci při působení krátkovlnného (260 nm) UV světla. Urry aj. (1966) identifikovali molekulu chemicky jako lakton kyseliny 6-(10-hydroxy-6-oxo-trans-1-undecenyl)- β -resorcylové.

Zearalenon je produkován kmeny *Fusarium graminearum*, *F. tricinum*, *F. oxysporum*, *F. sporotrichoides* a *F. moniliforme*. Období nízké teploty (12–14 °C) během růstu plísně je podstatné pro vysokou produkci toxinu. Nejčastěji se zearalenon vyskytuje v kukuřici, dále pak v ječmeni, pšenici a různých krmivech. Byl nalezen také v siláži a kukuřičném fermentovaném pivě. Zjištěn byl v Severní Americe (USA, Kanada), Evropě (Anglie, Finsko, Francie, Jugoslávie, Maďarsko, Rakousko, Polsko) a Africe (Zambie, Lesotho, Svazijsko).

Zearalenon zkrmovaný hospodářským zvířatům působí nepříznivě na prasata, v menší míře pak i na skot, krůty a kuřata. Již před půl stoletím byly pozorovány případy estrogenního syndromu u prasat, který byl vyvolán zkrmováním plesnivého krmiva. Onemocnění charakterizované edematózním zvětšením vulvy a mléčných žláz popsal nejdříve Mc Nutt aj. (1928) v USA. Později bylo popsáno i v Austrálii, Irsku, Francii, Itálii, Jugoslávii, Rumunsku, Maďarsku, Dánsku a v Kanadě.

Estrogenní syndrom je u prasnic charakterizován otokem vulvy a v těžkých případech i výhřezem rekta nebo vagíny. Typické je zvětšení dělohy. U pohlavně dospělých prasnic jsou zjišťovány malé počty selat ve vrzích, narození slabých selat a častější výskyt mumifikovaných selat při porodu. Působí atrofii ovarií, neplodnost, potraty. Dále působí pseudobřezost, charakterizovanou zvětšením mléčné žlázy a laktací, vyvolává mateřské instinkty, ačkoliv v děloze nejsou plody. Zearalenon přechází v pozmeněném stavu jako zearalenol do mléka prasnic, takže mohou být postižena i sající selata. U mladých samečků působí atrofii varlat a zvětšení prsních žláz (Chang aj., 1979). Mirocha aj. (1977) uvedli tabulku výskytu koncentrací zearalenonu v krmivech; tyto koncentrace se pohybovaly od 0,32 do 21,38 $\mu\text{mol} \cdot \text{kg}^{-1}$ a působily hyperestrogenismus u prasat. Krmivo obsahující 3,15 až 15,72 $\mu\text{mol} \cdot \text{kg}^{-1}$ zearalenonu, zkrmované pět až osm dní, působí edém vulvy u mladých prasnic. Vyřadí-li se plesnivé krmivo působící zduření vulvy, odezní estrogenní příznaky asi za sedm dnů.

U skotu byla zjištěna snížená plodnost (zvýšení indexu umělé inseminace) při zkrmování sena obsahujícího 44,02 μmol zearalenonu v 1 kg (Mirocha aj., 1968). Roine aj. (1971) uvádějí poruchy plodnosti a prodlouženou říji ve spojitosti se zkrmováním krmiva kontaminovaného zearalenonem.

U drůbeže pozorovali Mirocha aj. (1971) po podání zearalenonu krůťatům otok a výhřez kloaky, zvětšení bursy Fabricii a vejcovodu. U kuřat plemene leghorn však změny nebyly tak výrazné jako u krůťat.

Negativní účinky zearalenonu na hospodářská zvířata podrobně popsali Wyllie a Morehouse (1978).

Je ovšem nutné upozornit na to, že plísni rodu *Fusarium* neprodukují jen zearalenon, ale mnoho jiných pro domácí zvířata toxických mykotoxinů, z nichž velmi důležité místo zaujímají např. mykotoxiny trichothecénové skupiny. Některé kmeny fusarií mohou produkovat více mykotoxinů současně, takže klinické obrazy působené zkrmováním krmiva napadeného fusariovými toxiny mohou být variabilnější.

Christensen aj. (1965) doporučili praktický laboratorní test pro estrogenní mykotoxikózu, který využívá krysí dělohu. Nesprávně pozitivní uterotropní účinek však může být zjištěn v případě kontaminace krmiva diethylstilbestrolem nebo jinými estrogenními látkami.

Pro přesnou diagnózu, zda krmivo obsahuje zearalenon, nestačí ani klinické příznaky, ani biologický test využívající krysí dělohu, ani izolace kmenů plísní rodu *Fusarium*, které produkují zearalenon (různě produktivní kmeny na různých substrátech při různé teplotě a vlhkosti, nepřítomnost plísně v krmivu při obsahu zearalenonu v krmivu), ale je nutné zjišťovat zearalenon chemickými analytickými metodami. Účelem této práce bylo vybrat takovou screeningovou metodu, která by byla použitelná v našich podmínkách.

MATERIÁL A METODA

Z řady publikovaných metod na zjišťování zearalenonu v zrninách jsme se blíže zabývali metodami, které popsali Sarudi (1974), Wilson aj. (1976), Scott aj. (1978) a Mirocha aj. (1974). Jako nejvhodnější z hlediska našich podmínek jsme nakonec zvolili metodu, kterou popsali Mirocha aj. (1974), jež umožňovala získat poměrně čisté extrakty a vyhovovala našim potřebám z hlediska

citlivosti. Zvolený postup uvádíme podrobně, aby mohl být využit ve vyšetřovacích ústavech: Do jedolitrové Erlenmayerovy baňky se vloží 100 g pomletého vzorku zvlhčeného 30 ml destilované vody a extrahuje se 240 ml etylacetátu půl hodiny při občasném protřepávání. Etylacetát se odleje a filtruje přes skládaný filtr 18,5 cm Whatman č. 1. Reziduum se extrahuje ještě dvakrát, vždy s 200 ml etylacetátu. Filtráty se spojí a pro analýzu se použije 160 ml, což odpovídá asi 25 g vzorku. Toto množství se zahustí téměř do sucha a opět se rozpustí v 25 ml chloroformu. Chloroformový roztok se naleje do 250ml dělicí nálevky a pečlivě se převrství 10 ml hydroxidu sodného, odměrný roztok $c(\text{NaOH}) = 1,0 \text{ mol} \cdot \text{l}^{-1}$. Dělicí nálevkou se opatrně otáčí, aby nevznikly emulze, a tekutiny se nechají oddělit. Spodní chloroformová vrstva se přepustí do druhé 250ml dělicí nálevky. K chloroformovému roztoku se přidá dalších 10 ml hydroxidu sodného, odměrný roztok $c(\text{NaOH}) = 1,0 \text{ mol} \cdot \text{l}^{-1}$, opět se nálevkou opatrně otáčí, nechají se oddělit fáze a nyní se odleje spodní chloroformová vrstva. Spojí se dvě vodné fáze do jedné dělicí nálevky a přidá se 5 ml chloroformu. Roztoky se smísí jemnou rotací nálevky a fáze se ponechají oddělit. Spodní chloroformová fáze se odleje a postup se opakuje s dalšími 5 ml chloroformu. Upraví se pH vodné fáze na 9,5 použitím kyseliny fosforečné, odměrný roztok $c(1/3 \text{ H}_3\text{PO}_4) = 2,0 \text{ mol} \cdot \text{l}^{-1}$. Pak se přidá 15 ml chloroformu a jemně se několikrát otáčí nálevkou, fáze se oddělí a spodní vrstva překape přes sloupec bezvodého síranu sodného (asi 5 g). K vodné fázi se znovu přidá 15 ml chloroformu a postup se opakuje dvakrát. Nakonec se vodná fáze odleje. Chloroformový roztok se zahustí téměř do sucha. Odparek se kvantitativně přenesení do lékovky pomocí acetonu a odpaří pod mírným proudem dusíku.

Odparek se rozpustí ve 100 μl acetonu. Na tenkou vrstvu silikagelu bez fluorescenčního indikátoru se nanáší 5, 10, 20 μl vzorku, 5 μl vzorku + 5 μl standardu, 5 μl standardu. Vytváří se v nenasycené komoře v soustavě chloroform — etanol (97 + 3) po 18 cm. Po několikaminutovém vysušení tenké vrstvy silikagelu se prohlíží pod UV světlem. Zearalenon se jeví jako modrozeleně fluoreskující skvrna při dlouhovlnném světle (356 nm). Při krátkovlnném světle (256 nm) fluoreskuje intenzivněji. Semikvantitativní stanovení je umožněno porovnáním intenzity skvrny vzorku s intenzitou řady koncentrací standardu zearalenonu. Citlivost metody je 157,23 μmol zearalenonu v jednom kilogramu. Standard zearalenonu se uchovává v temnu v chladničce.

Různými postříkovými látkami je možné zvýšit fluorescenci, popřípadě pozorovat skvrnu zearalenonu na tenké vrstvě silikagelu na denním světle (Shottwell aj., 1976; Mirocha aj., 1974; Malaiyandi aj., 1976; Sarudi, 1974; Harrach a Palyusik, 1979; Scott aj., 1978). V našem případě jsme podezřelé skvrny postříkovali bis-diazotizovaným benzidinem. Roztok I (0,5 g benzidinu se rozpustí v 20 ml vody obsahující 1,5 ml kyseliny solné a doplní se *ad* 100 ml vody), se smísí ve stejném poměru s roztokem II (10 g dusitanu sodného *ad* 100 ml vody), zchladí se na teplotu -5 až 0°C , pečlivě se promísí. Purpurové zbarvení se při pokojové teplotě změní do žluta a tímto čerstvě připraveným roztokem se postříká tenká vrstva silikagelu. Ihned po postříku je patrná cihlově červená skvrna zearalenonu.

Uvedenou metodou jsme vyšetřili 61 vzorek zrnin (15 vzorků kukuřice, 29 pšenice, 12 ječmene, 5 ova), v nichž je podle světové literatury výskyt zearalenonu nejčastější. V další části práce jsme se pokusili metodu aplikovat i na jiné druhy krmiv. Vyšetřili jsme dále 19 vzorků krmných směsí (kompletní směs pro časný odstav selat — prestarter-ČOS 1, tři vzorky; kompletní směs pro časný odstav selat — starter ČOS 2, dva vzorky; kompletní směs pro prasata do 50 kg ž. h. — A1, tři vzorky; kompletní směs pro prasata nad 50 kg ž. h. — SOL, tři vzorky; kompletní směs pro jalové a březí prasnice — KPB, čtyři vzorky; kompletní směs pro kojící prasnice — KPK, čtyři vzorky), jeden vzorek sóje, jeden vzorek rybí moučky a jeden vzorek bílkovinných úsušků.

Převážná většina vzorků byla ze sklizně r. 1980 a pocházela z Moravy, hlavně z jižní oblasti, některé vzorky byly i ze Slovenska a z Čech. Pokusy probíhaly od května do listopadu r. 1980.

VÝSLEDKY A DISKUSE

Ve třech pokusech jsme přidávali ke kukuřici standard zearalenonu v množství: 0,63, 0,32 a 0,16 $\mu\text{mol} \cdot \text{kg}^{-1}$. (0,0031446 μmol zearalenonu

v 1 kg se podle staršího vyjadřování rovná 1 μg zearalenonu v 1 kg). Ve všech třech případech byl zearalenon dobře zjištělý na tenké vrstvě silikagelu.

Při postupu, který jsme zvolili, se v místě možného výskytu zearalenonu nevyskytovaly nečistoty na tenké vrstvě silikagelu při vyšetřování 61 vzorku zrnin. Pouze jeden vzorek pšenice z 29 vzorků nemohl být hodnocen pro přítomnost nečistot. Z krmných směsí se nečistoty nevyskytovaly při vyšetřování vzorků ČOS 1 a ČOS 2. U některých vzorků krmných směsí SOL, A₁, KPB a KPK se vyskytly nečistoty v místě možného výskytu zearalenonu v různém rozsahu. Při vyšetřování vzorků KPK nemohl být hodnocen ani jeden ze tří zkoušených vzorků pro značný výskyt nečistot. Dále nemohly být hodnoceny dva z pěti vzorků KPB, dva ze tří vzorků A₁, jeden ze tří vzorků SOL a po jednom vzorku z jednoho vzorku rybí moučky a jednoho vzorku bílkovinných úsušků.

Námi použitá metoda se osvědčila při vyšetřování zrnin, ale pouze některých druhů krmných směsí. Ale poněvadž jsme se vyšetřováním vzorků různých krmných směsí a jiných krmiv zabývali pouze okrajově, nemůžeme činit definitivní závěry, pokud se týče jiných krmiv než zrnin.

Z 61 vzorku vyšetřovaných krmiv bylo hodnotitelných 60 vzorků a z nich 21 obsahovalo zearalenon (35 %). Z 28 vzorků pšenice bylo 13 pozitivních (46,4 %), z 12 vzorků ječmene bylo sedm pozitivních (58,3 %), z 15 vzorků kukuřice byl jeden pozitivní (6,7 %) a všech pět vzorků ova bylo negativních.

Z jiných krmiv a krmných směsí byly pozitivní: jeden ze dvou vzorků ČOS 1, dva ze tří vzorků ČOS 2, jeden ze dvou vzorků SOL (dlouhodobě skladovaný) a jeden ze tří vzorků KPK. Negativní byl jeden vzorek A₁ a jeden vzorek sóje.

Z 61 vzorků vyšetřovaných krmiv bylo hodnotitelných 60 vzorků pšenice obsahovaly 0,19 až 0,57 μmol zearalenonu v 1 kg, ječmene 0,19 až 0,82 μmol zearalenonu v 1 kg a jeden pozitivní vzorek kukuřice obsahoval 0,33 μmol zearalenonu v 1 kg. Pozitivní nálezy ve vzorcích ČOS 1, ČOS 2, SOL a KPB se pohybovaly v rozmezí 0,19 až 0,41 μmol zearalenonu v 1 kg krmiva.

Hodnotíme-li výsledky z hlediska údajů uveřejněných Mirochou aj. (1977), kteří uvádějí, že při výskytu od 0,32 μmol zearalenonu v 1 kg krmiva jsou v terénu zaznamenávány příznaky hyperestrogenismu u prasat, zjistíme, že v našem souboru vzorků přesáhlo tuto koncentraci sedm vzorků pšenice, čtyři vzorky ječmene, jeden vzorek kukuřice a jeden vzorek ČOS 2.

Mykotoxikóza působená zearalenonem se nejčastěji vyskytuje v těch letech, kdy je na podzim hojný výskyt srážek, kukuřice je sklízena vlhká, zrno obsahuje vysoké procento vlhkosti a je nevhodně skladováno. Enzymy, které působí biosyntézu zearalenonu, jsou aktivovány při nízké teplotě (12–14 °C). Proto snižující se teplota na podzim je optimální pro biosyntézu zearalenonu. Přes den mohou být teploty poměrně vysoké a v noci nízké, nebo delší teplé období je vystřídáno chladnějším, což je ještě výhodnější pro syntézu zearalenonu. Kukuřice je napadána plísními *Fusarium species* již na poli. Nejvíce se rozšiřuje těsně před dozráním a po dozrání kukuřice. Typicky bělavou nebo růžovočervenou plíseň lze nejdříve pozorovat na vrcholu klasu, později se rozšíří i do spodnějších částí. Zaplísnění je silnější, ponechá-li se zralá kukuřice déle

na poli. Ačkoliv plíseň může uhynout nebo být zničena, mykotoxin pro svou stabilitu vůči teplotě může v krmivu přetrvávat i značně dlouhou dobu. Příkladem toho je zjištění zearalenonu i v peletovaném krmivu. Plísň rodu *Fusarium* mohou být zničeny např. kyselinou propionovou, ale toxin zůstává neovlivněn. Dosud neexistuje praktická metoda na odstranění tohoto mykotoxinu z kukuřice. Plísň rodu *Fusarium* mohou však pokračovat v růstu a v produkci toxinů na zrnech kukuřice i při skladování, když vlhkost přesáhne 25 % a teplota se pohybuje v rozmezí 6 až 30 °C. I u celkem dobře vysušené kukuřice se mohou ve skladu zjistit místa, v nichž byla část kukuřice nedostatečně vysušena, nebo dodatečně zvlhla. Ve skladištích musí být dobré větrání, aby se odstranila kondenzace par.

Ekonomické ztráty působené zkrmováním zearalenonu mohou být značné nejen při sekundární infekci při výhřezu vagíny či rekta, ale především také v důsledku poruch plodnosti. Zearalenon přidaný do krmiva během březosti v množství 78,62 a 157,23 $\mu\text{mol} \cdot \text{kg}^{-1}$ měl za následek narození selat s hmotností nižší o 0,36 kg a 0,43 kg proti kontrole. Ve srovnání s kontrolou byly vrhy také menší, a to o tři selata na prasnici. Přišla-li by v ČSSR ve styk se zearalenonem pouze 1/100 březích prasnic, tj. 5256 kusů, narodilo by se asi o 31 536 selat za rok méně. Zjistí-li se v chovech prasat estrogenismus, pak kukuřice nesmí být zkrmována chovnému stádu, ale může být zředěna nekontaminovaným krmivem a zkrmována několika mladým prasnicím. Nejistí-li se u nich příznaky estrogenismu, pak může být krmivo použito na výkrm prasat, ale jeho zkrmování musí být zastaveno pět až šest dní před porážkou. Krmivo, které bylo zamítnuto pro zkrmování prasatům, se může v malém množství podávat při výkrmu skotu. Pět až šest dní před porážkou musí však i tato zvířata dostávat nezávadné krmivo.

Podle informace WHO (1979) nejsou zatím zprávy o nežádoucích účincích zearalenonu na člověka. Zjištěné koncentrace zearalenonu v kukuřičných produktech určených pro konzum lidí (0,04 až 0,22 $\mu\text{mol} \cdot \text{kg}^{-1}$) nepředstavují riziko pro člověka. Podle dvou zpráv z Afriky však byly zjištěny vysoké koncentrace zearalenonu v pивě a kyselé kaši, připravených z kukuřice a čiroku. Dlouhodobé vystavení účinku takto kontaminovaných nápojů by mohlo být škodlivé pro zdraví lidí.

Krom námi navržené screeningové metody pro vyšetřování zrnin na přítomnost zearalenonu ve veterinárních laboratořích pomocí chromatografie na tenké vrstvě je možné v laboratořích vybavených moderní přístrojovou technikou využít i plynovou chromatografii, popřípadě i v kombinaci s hmotovou spektrometrií (např. Mirocha aj., 1974; Scott aj., 1978; Shotwell aj., 1980), a v poslední době velmi často používanou vysokotlakou kapalinovou chromatografii (např. Ware a Thorpe, 1978; Fankel a Blutsch, 1979; Schweighardt aj., 1978; Scott aj., 1978; Möller a Josefsson, 1978; Josefsson a Möller, 1979; Cohen a Lapointe, 1980 aj.).

Poděkování: Za technickou spolupráci děkujeme s. B. Seidlové a s. ing L. Helánovi.

Literatura

- COHEN, H. — LAPOINTE, M. R.: Sephadex LH-20 cleanup, high pressure liquid chromatographic assay, and fluorescence detection of zearalenone in animal feeds. *J. Ass. off. analyt. Chem.*, 63, 1980, s. 642-646.
- FANKEL, R. — BLUTSCH, I.: Eine rasche, quantitative Bestimmungsmethode für Zearalenon in Maissilagen und anderen Futtermitteln. *Landw. Forsch.*, 32, 1979, s. 250-254.
- HARRACH, B. — PALLYUSIK, M.: Comparative evaluation of procedures for F-2 toxin (Zearalenone) detection. *Acta vet. hung.*, 27, 1979, s. 77-82.
- CHANG, K. — KURTZ, H. J. — MIROCHA, C. J.: Effects of the mycotoxin zearalenone on swine reproduction. *Am. J. vet. Res.*, 40, 1979, s. 1260-1267.
- CHRISTENSEN, C. M. — NELSON, G. H. — MIROCHA, C. J.: Effect of the white rat uterus of a toxic substance isolated from *Fusarium*. *Appl. Microbiol.*, 13, 1965, s. 653-659.
- JOSEFSSON, E. — MÖLLER, T. E.: High pressure liquid chromatographic determination of ochratoxin A and zearalenone in cereals. *J. Ass. off. analyt. Chem.*, 62, 1979, s. 1165-1168.
- MALAIYANDI, M. — BARRETTE, J. P. — WAVROCK, P. L.: Bis-diazotized benzidine as a spray reagent for detecting zearalenone on thin layer chromatoplates. *J. Ass. off. analyt. Chem.*, 59, 1976, s. 959-962.
- McNUTT, S. H. — PURWIN, P. — MURRAY, C.: Vulvovaginitis in swine. *J. Am. vet. Ass.*, 73, 1928, s. 484-492.
- MIROCHA, C. J. — CHRISTENSEN, C. M. — NELSON, G. H.: F-2 (zearalenone): Estrogenic mycotoxin from *Fusarium*. In: KADIS, S. A. — CIEGLER, A. — AJL, S. J. (eds): *Microbiol Toxins*, Vol. 7. Academic Press, New York 1971, s. 107-138.
- MIROCHA, C. J. — PATHRE, S. W. — CHRISTENSEN, C. M.: Zearalenone. In: RODRICKS, J. V. — HESSELTINE, C. W. — MEHLMAN, M. A. (ed.): *Mycotoxins in human and animal health*. Park Forest South, IL, USA, Pathotox Publishers Inc., 1977, s. 345-364.
- MIROCHA, C. J. — SCHAUERHAMER, B. — PATHRE, S. V.: Isolation, detection, and quantitation of zearalenone in maize and barley. *J. Ass. off. analyt. Chem.*, 57, 1974, s. 1104-1110.
- MIROCHA, C. J. — HARRISON, J. — NICHOLS, A. A. — McCLINTOCK, M.: Detection of a fungal estrogen (F-2) in hay associated with infertility in dairy cattle. *Appl. Microbiol.*, 16, 1968, s. 797-798.
- MÖLLER, T. E. — JOSEFSSON, E.: High pressure liquid chromatography of zearalenone in cereals. *J. Ass. off. analyt. Chem.*, 61, 1978, s. 789-792.
- ROINE, K. — KORPINEN, E. L. — KALLELA, K.: Mycotoxicosis as a probable cause of infertility in dairy cows. *Nord. VetMed.*, 23, 1971, s. 628-633.
- SARUDI, J., jun.: Methode zum Nachweis des Zearalenon (F₂)-Toxins. *Z. Lebensmittelunters. Forsch.*, 154, 1974, s. 65-66.
- SCOTT, P. M. — PANALAKS, T. — KANHERE, S. — MILES, W. F.: Determination of zearalenone in cornflakes and other corn-based foods by thin layer chromatography, high pressure liquid chromatography, and gas-liquid chromatography / high resolution mass spectrometry. *J. Ass. off. analyt. Chem.*, 61, 1978, s. 593-600.
- SHOTWELL, O. L. — GOULDEN, M. L. — BENNET, G. A.: Determination of zearalenone in corn: Collaborative study. *J. Ass. off. analyt. Chem.*, 59, 1976, s. 666-670.
- SHOTWELL, O. L. — BENNETT, G. A. — GOULDEN, M. L. — PLATTNER, R. D. — HESSELTINE, C. W.: Survey for zearalenone, aflatoxin, and ochratoxin in U. S. grain sorghum from 1975 and 1976 crops. *J. Ass. off. analyt. Chem.*, 63, 1980, s. 922-926.
- SCHWEIGHARDT, H. — BÖHM, J. — LEIBETSEDER, J.: Zearalenonbestimmung in Getreide mittels Hochdruck-Flüssigkeitschromatographie (HPLC). *Z. Tierphysiol. Tierernähr. Futtermittelk.*, Sonderdruck, 41, 1978, s. 39-47.
- URRY, W. H. — WEHRMEISTER, H. L. — HODGE, E. B. — HIDY, P. H.: The structure of zearalenone. *Tetrahedron Lett.*, 1966, s. 3109.

WARE, G. M. — THORPE, C. W.: Determination of zearalenone in corn by high pressure liquid chromatography and fluorescence detection. J. Ass. off. analyt. Chem., 61, 1978, s. 1058-1062.

WHO: Environmental Health Criteria 11. Mycotoxins. Geneva. 1979, 127 s.

WILSON, D. M. — TABOR, W. H. — TRUCKSESS, M. W.: Screening method for the detection of aflatoxin, ochratoxin, zearalenone, penicillic acid, and citrinin. J. Ass. off. analyt. Chem., 59, 1976, s. 125-127.

WYLLIE, T. D. — MOREHOUSE, L. G.: Mycotoxic fungi, mycotoxins, mycotoxicoses. Vol. 2: Mycotoxicoses of domestic and laboratory animals, poultry and aquatic intervertebrates and vertebrates. Marcel Dekker, Inc. New York and Basel. 1978, 570 s.

Došlo dne 1. 4. 1981

БАРТОШ, Я. — МАТИАШ, З. (Научно-исследовательский институт ветеринарии, Брно): Наличие зearаленона в отечественных зерновых. Vet. Med., Praha, 26, 1981 (8): 505-512.

С целью установления наличия зearаленона в зерновых в условиях ЧССР из целого ряда аналитических методов для определения этого микотоксина в зерновых и в некоторых кормовых смесях мы выбрали метод, описанный Мироха и колл. (1974). Было обследовано 61 образец зерновых и 22 образца других кормов. У ячменя 58,3% образцов были положительными в пределах от 0,19 до 0,82 $\mu\text{моль/кг}$, у пшеницы 46,4% образцов в пределах от 0,19 до 0,57 $\mu\text{моль/кг}$, у кукурузы 6,7% образцов в количестве 0,33 $\mu\text{моль/кг}$. В образцах овса его не было обнаружено. Положительные диагнозы в образцах ЧОС 1, ЧОС 2, СОЛ и КПБ колебались от 0,19 до 0,32 $\mu\text{моль/кг}$. Концентрация свыше 0,32 $\mu\text{моль/кг}$ зearаленона была установлена в 7 образцах пшеницы, в 4 ячменя, в одном кукурузы и в одном образце полносоставной кормовой смеси для раннего отъема поросят. Приведенный метод мы предлагаем для скрининг-обследования зерновых на наличие зearаленона в них.

инородные вещества; микотоксины; корма; присутствие зearаленона, ТЛЦ

BARTOŠ, J. — MATYÁŠ, Z. (Veterinary Research Institute, Brno): The Occurrence of Zearalenone in Grains Produced in Czechoslovakia. Vet. Med., Praha, 26, 1981 (8): 505-512.

The occurrence of zearalenone had not been tested in Czechoslovakia; out of a number of analytic procedures for the determination of this mycotoxin in grains and some feed mixtures, the method described by Mirocha et al. (1974) was chosen for this study. The tests were performed with 61 samples of grain and 22 samples of other feeds. In barley 58.3% of the samples were positive in the range from 0.19 to 0.82 $\mu\text{mol} \cdot \text{kg}^{-1}$, in wheat 46.4% of samples in the range from 0.19 to 0.57 $\mu\text{mol} \cdot \text{kg}^{-1}$, in maize 6.7% of samples, containing 0.33 $\mu\text{mol} \cdot \text{kg}^{-1}$. Oat samples contained no zearalenone. The positive findings in the samples of the commercial mixtures ČOS 1, ČOS 2, SOL and KPB ranged from 0.19 to 0.32 $\mu\text{mol} \cdot \text{kg}^{-1}$. Zearalenone concentrations above 0.32 $\mu\text{mol} \cdot \text{kg}^{-1}$ were found in seven samples of wheat, in four samples of barley, in one sample of maize and in one sample of complete feed mixture for early-weaned piglets. The described method is recommended for screening examination of grains for zearalenone in Czechoslovakia.

foreign substances; mycotoxins; feeds; occurrence of zearalenone; TLC

BARTOŠ, J. — MATYÁŠ, Z. (Forschungsinstitut für Veterinärmedizin, Brno): Vorkommen von Zearalenon in einheimischen Getreidekulturen. Vet. Med., Praha, 26, 1981 (8): 505-512.

Da in der ČSSR die Anwesenheit von Zearalenon bisher nicht untersucht wurde, wählten wir aus der Reihe von analytischen Verfahren für die Feststellung dieses Mykotoxins in Getreidekulturen und einigen Futtermischungen die Methode, die Mirocha und andere (1974) beschrieben. Wir untersuchten 61 Proben der Getreide-

dekulturen und 22 Proben anderer Futtermittel. Bei der Gerste waren 58,3 % der Proben positiv zwischen 0,19 und 0,82 $\mu\text{mol} \cdot \text{kg}^{-1}$, beim Weizen 46,4 % der Proben zwischen 0,19 und 0,57 $\mu\text{mol} \cdot \text{kg}^{-1}$, beim Mais 6,7 % der Proben in einer Menge von 0,33 $\mu\text{mol} \cdot \text{kg}^{-1}$. Die Proben des Hafers waren ohne Fund. Positive Funde in den Proben ČOS 1, ČOS 2, SOL und KPB bewegten sich zwischen 0,19 und 0,32 $\mu\text{mol} \cdot \text{kg}^{-1}$. Die Konzentration, die mehr als 0,32 $\mu\text{mol} \cdot \text{kg}^{-1}$ Zearalenon betrug, wurde in sieben Proben des Weizens, in vier Proben der Gerste, in einer Probe des Maises und in einer Probe des kompletten Futtermischs für ein frühes Absetzen der Ferkel festgestellt. Wir empfehlen für die Screening-Untersuchung von Getreidekulturen auf die Anwesenheit von Zearalenon in der ČSSR die angeführte Methode.

fremdartige Stoffe; Mykotoxine; Futtermittel; Vorkommen von Zearalenon; TLC

Adresa autorů:

MVDr. Jaroslav Bartoš, CSc., prof. MVDr. Zdeněk Matyáš, CSc., Výzkumný ústav veterinárního lékařství, Hudcova 70, 621 32 Brno

OBSAH

Kummer V., Zralý Z., Holčák V., Věžník Z., Schlegelová J., Hruška K.: Ovlivnění superovulace u skotu protilátkou proti sérovému gonadotropinu	449
Menšík J., Pospíšil Z., Machatý J.: Virus slizniční choroby jako příčina enzootických abortů v chovech skotu v ČSSR	457
Mazurová J., Ryšánek M., Doubravová L., Macháčová Z., Svačinová D.: Mikrobiální osídlení prepuciálního vaku mladých býčků	469
Dvořák M.: Stanovení koncentrace albuminu v krevní plazmě prasat s použitím bromkrezolové zeleně	481
Drybčák J.: Vliv krmné technologie na prašnost ovzduší výkrmny prasat	491
Kotrlá B., Koždoň O.: Opakovaně prováděná dehelmintizace a její vliv na průběh přirozené invaze hlístic u ovcí	497
Bartoš J., Matyáš Z.: Výskyt zearalenonu v tuzemských zrninách	505

СОДЕРЖАНИЕ

Куммер В., Зралы З., Голчак В., Вежник З., Шлегелова Я., Ррушка К.: Регулирование суперовуляции у коров с помощью антител против сывороточного гонадотропина	449
Меншик Я., Поспишил З., Махаты Й.: Вирус болезни слизистой оболочки как причина энзоотических абортів у коров в ЧССР	457
Мазурова Я., Рышанек М., Дубравова Л., Махачова З., Свачинова Д.: Микробияльное заселение препуциального мешка у молодых бычков	469
Дворжак М.: Определение концентрации альбумина в плазме крови свиней с применением бромкрезоловой зелени	481
Дрыбчак Й.: Влияние технологии кормления на запыленность воздуха в свиноматочнике	491
Котрла Б., Кождонь О.: Повторная дегельминтизация и ее влияние на ход природной инвазии глистов у овец	497
Бартош Я., Матыаш З.: Наличие зсараленона в отечественных зерновых	505

CONTENTS

Kummer V., Zralý Z., Holčák V., Věžník Z., Schlegelová J., Hruška K.: Influencing the Superovulation of Cattle with the Antibody to Serum Gonadotropin	449
Menšík J., Pospíšil Z., Machatý J.: The Virus of Mucosal Disease as the Causal Agent of Enzootic Abortions in Cattle Stocks in Czechoslovakia	457
Mazurová J., Ryšánek M., Doubravová L., Macháčová Z., Svačinová D.: The Microbial Population of the Praeputial Sac of Young Bulls	469
Dvořák M.: The Determination of Albumin Concentration in the Blood Plasma of Pigs: The Use of Bromocresol Green	481
Drybčák J.: The Influence of the Technology of Feeding on Dust Nuisance in a Pig Fattening House	491
Kotrlá B., Koždoň O.: Repeated Helminth Control Treatment and its Effect on the Course of Natural Invasion of Sheep by Roundworms	497
Bartoš J., Matyáš Z.: The Occurrence of Zearalenone in Grains Produced in Czechoslovakia	505

Kummer V., Zralý Z., Holčák V., Věžník Z., Schlegelová J., Hruška K.: Beeinflussung der Superovulation durch Antikörper gegen das Serum-Gonadotropin beim Rind	449
Menšík J., Pospíšil Z., Machatý J.: Das Mucosal-Disease-Virus als Ursache enzootischer Aborte in den Rinder Beständen der ČSSR	457
Mazurová J., Ryšánek M., Doubravová L., Macháčová Z., Svačinová D.: Population von Mikroben im Vorhautsack von jungen Bullenkälbern	469
Dvořák M.: Festlegung der Konzentration von Albumin im Blutplasma der Schweine mit der Anwendung des Bromkresolgrünes	481
Drybčák J.: Einfluß der Fütterungstechnologie auf die Staubbelastung der Schweinemaststallluft	491
Kotrlá B., Koždoň O.: Wiederholt vorgenommene Dehelminthisation und deren Einfluß auf den Verlauf der natürlichen Invasion durch Fadenwürmer bei Schafen	497
Bartoš J., Matyáš Z.: Vorkommen von Zearalenon in einheimischen Getreidekulturen	505

Rukopisy odevzdány k tisku 6. 5. 1981 — Podepsáno k tisku 24. 8. 1981

Omlouváme se čtenářům za opožděné vydání tohoto čísla, způsobené přestavbou tiskárny

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