

VĚDECKÝ ČASOPIS



VETERINÁRNÍ MEDICÍNA

8

ROČNÍK 29 (LVII)
PRAHA
SRPEN 1984
CENA 10 Kčs
CS ISSN 0590-5214

ČESKOSLOVENSKÁ AKADEMIE ZEMĚDĚLSKÁ
ÚSTAV VĚDECKOTECHNICKÝCH INFORMACÍ
PRO ZEMĚDĚLSTVÍ

Řídí redakční rada:

akademik Jaroslav Oto Vrtiak (předseda), akademik Kolo-
man Boda, MVDr. Miroslav Dvořák, CSc., prof. MVDr. Ján
Elečko, CSc., MVDr. Miloš Halaša, CSc., prof. MVDr. Jozef
Hrušovský, DrSc., prof. MVDr. Dagmar Ježková, DrSc.,
MVDr. Evžen Jurák, CSc., prof. MVDr. Ladislav Polák,
CSc., MVDr. Josef Straka, CSc., prof. MVDr. Bohumil Šev-
čík, DrSc.

Za vedení časopisu odpovídá akademik Jaroslav Oto Vrtiak

Redaktorka ing. Jovanka Václavíčková

© Ústav vědeckotechnických informací pro zemědělství,
Praha 1984

■

Vědecký časopis VETERINÁRNÍ MEDICÍNA uveřejňuje stu-
die, rozbor a vědecká pojednání o vyřešených úkolech vý-
zkumu z oboru veterinární medicíny. Vydává Českosloven-
ská akademie zemědělská — Ústav vědeckotechnických in-
formací pro zemědělství. Vychází měsíčně. Redakce: 120 56
Praha 2, Slezská 7, telefon 257541. Celoroční předplatné
Kčs 120,—.

■

Научный журнал VETERINÁRNÍ MEDICÍNA публикует обзор-
ы, анализы и научные статьи о решенных задачах по науч-
ному исследованию в области ветеринарии. Издает Чехословацкая
сельскохозяйственная академия — Институт научно-технической
информации по сельскому хозяйству. — Выход в свет ежемесячно.
Редакция 120 56 Прага 2, Слезска 7.

■

The scientific journal VETERINÁRNÍ MEDICÍNA publishes
studies, analyses and scientific treatises about the solved
research tasks in the line of the veterinary medicine. Pu-
blished by the Czechoslovak Academy of Agriculture — In-
stitute of Scientific and Technical Information for Agricul-
ture. Issued monthly. Editorial office 120 56 Prague 2, Slez-
ská 7.

CYTOTOXICKÉ PROTILÁTKY PROTI LYMFOCYTÁRNYM ANTIGÉNOM HOVÄDZIEHO DOBYTKA

M. Simon, D. Abrhánová, R. Dušínský, K. Boďa

SIMON, M. — ABRHÁMOVÁ, D. — DUŠINSKÝ, R. — BOĎA, K. (Ústav fyziológie hospodárskych zvierat SAV, Košice, pracovisko Ivanka pri Dunaji; Ústav experimentálnej veterinárnej medicíny, Košice, pracovisko Ivanka pri Dunaji; Ústav zoohygieny a veterinárnej techniky, Trnava, pracovisko Ivanka pri Dunaji): *Cytotoxické protilátky proti lymfocytárnym antigénom hovädzieho dobytku*. Veter. Med. (Praha), 29, 1984 (8) : 449-456.

Pripravili sme typizačné reagenty na určovanie lymfocytárných antigénov hovädzieho dobytku. Vhodným zdrojom cytotoxických protilátok boli séra získané od kráv zabitých na bitútku. Z 300 testovaných sér 98 vykazovalo cytotoxickú aktivitu. Selektované séra s nízkou reakčnou frekvenciou boli testované na 132-člennom súbore nepříbuzných zvierat. Na základe vzájomných korelácií sér bolo možné 30 z nich zaradiť do štyroch klasterov. Séra vo vnútri jednotlivých klasterov vykazovali vysokú vzájomnú asociáciu, preto je možné predpokladať, že každý klaster definuje jednu špecifickú. Korelačná analýza a distribúcia antigénov v študovanej populácii naznačuje, že určené antigény patria do jedného systému a geneticky sú kontrolované jedným alebo niekoľkými úzko viazanými lokusmi.

lymfocytárne antigény; hlavný histokompatibilitný komplex; cytotoxické protilátky

Odolnosť alebo vnímavosť k niektorým chorobám človeka a mnohých živočíšnych druhov je v asociácii s určitými haplotypmi alebo alelami hlavného histokompatibilitného komplexu (HHK). Tento vzťah sa v súčasnosti najvýraznejšie prejavuje u človeka, u ktorého sa HHK zúčastňuje na manifestácii chorôb rôznej etiológie (Dausset a Svejgaard, 1977). Asociácie so spontánne sa vyskytujúcimi alebo indukovanými chorobami boli popísané aj u ďalších druhov — myš, potkan, hydina (Vladutiu a Rose, 1971; Gasser a i., 1973; Longenecker a Mossman, 1981). Štúdium HHK má značný biologický význam. Gény tohoto komplexu určujú rôzne povrchové bunkové determinanty, zložky komplementu, krvné skupiny, enzýmy a ďalšie funkcie. Najvýznamnejšia je však ich priama účasť na regulácii imunitnej odpovede organizmu (Antczak, 1982). Uvedené zistenia zdôrazňujú význam poznania genetickej štruktúry HHK hospodárskych zvierat. Genetické rozdiely v imunitnej odpovedi, kontrolované z HHK, ako aj odhalenie asociácie určitých chorôb s alelami HHK by mohli urýchliť selekčný proces pri vytváraní špecifickej rezistencie.

Niektoré génové produkty HHK, tzv. antigény triedy I, sú prednostne vyjadrené na lymfocytoch a ich detekcia sa uskutočňuje lymfocyto-

toxickým testom. Zdrojom protilátok na detekciu lymfocytárnych antigénov hovädzieho dobytku môžu byť jednako antiséra kráv imunizovaných plodom, jednako antiséra získané zámernou imunizáciou zvierat. Na imunizáciu sa používa celá krv, purifikovaná suspenzia lymfocytov, alebo kožný štep (A morena a Stone, 1980). Štúdiom lymfocytárnych antigénov hovädzieho dobytku sa zaoberá niekoľko pracovísk vo svete, ktoré na prípravu typizačných reagentov použili uvedené zdroje cytotoxických protilátok. Prvý medzinárodný porovnávaci test, ktorý sa konal v roku 1978 v Edinburgu, ukázal, že reagenty pripravené na rôznych pracoviskách sú porovnateľné a detekujú rovnaké špecificity (antigény) nezávisle od toho, aký zdroj protilátok bol použitý. Väčšina pripravených reagentov určuje lymfocytárne antigény (triedy I), ktoré sú kontrolované jedným alebo niekoľkými úzko viazanými lokusmi hlavného histokompatibilného komplexu hovädzieho dobytku, ktorý bol pomenovaný BoLA. Porovnávaci test potvrdzuje aj 11 medzinárodne uznaných špecifícít. Obdobné závery mal aj druhý medzinárodný porovnávaci test, konaný roku 1980 vo Wageningen. Počet medzinárodne uznaných špecifícít sa rozšíril na 16. Cieľom práce bolo pripraviť typizačné reagenty (antiséra), ktoré by umožnili detekciu lymfocytárnych antigénov hovädzieho dobytku.

MATERIÁL A METÓDY

Lymfocyty boli izolované modifikovanou metódou podľa Boyuma (1968). Defibrinovaná krv riedená PBS (fyziologický roztok s pH 7,2) v pomere 1:1 bola v ekvivalentnom množstve navrstvená na Verografin SPOFA, ktorého hustota činila 1,069 g/ml. Krv s gradientom bola centrifugovaná pri 1500 g 15 minút. Po rozvrstvení bola interfáza, obsahujúca lymfocyty, prenesená do ďalšej skúmavky a 2 X 10 minút prepieraná v PBS pri 500, resp. 1000 g. Na detekciu cytotoxických protilátok bol použitý lymfocytotoxický test podľa Terasakiho a McClellanda (1964) s menšími modifikáciami. Do Terasakiho doštičiek (Terasaki's plastic trays, Falcon Plastic, Los Angeles) sme pod vrstvu parafinového oleja dávkovali 1 μ l antiséra a 1 μ l lymfocytárnej suspenzie (4×10^6 /ml). Po 30 minútach inkubácie pri laboratórnej teplote sme do Terasakiho doštičiek pridali 1 μ l králičieho komplementu (riedeného v pomere 1:1 PBS) a po ďalších 50 minútach inkubácie sme bunky ofarbili 1% trypanovou modrou. Po 30 minútach sme reakcie hodnotili pod mikroskopom. Za pozitívnu reakciu sa považuje viac ako 40% ofarbených buniek. Každá vzorka bola testovaná dvakrát a v prípade nezhody alebo dubióznej reakcie boli vzorky retestované.

Ako zdroj cytotoxických protilátok sme použili jednako neabsorbované séra získané po aloimunizácii celou krvou (reagenty krvných skupín), jednako séra získané od kráv zabitých na bitúnku (u nich sa predpokladá, že boli imunizované plodom a obsahujú cytotoxické protilátky). Celkom bolo testovaných 113 sér získaných imunizáciou celou krvou a 300 sér získaných od kráv zabitých na bitúnku. Cytotoxické protilátky boli testované na súbore náhodne vybraných zvierat zabitých na bitúnku (prevažne červenostrakaté nížinné plemeno križené so slovenským strakatým plemenom). Každé sérum bolo testované na 80-člennom „informatívnom“ súbore. Vyselektované séra, ktoré obsahovali cytotoxické protilátky, ale ich reakčná frekvencia nebola vyššia ako 80%, boli znovu testované na 132-člennom súbore.

Pretože HHK charakterizuje značná komplexnosť a polymorfizmus, je získavanie konvenčných monošpecifických antisér prakticky nemožné. Z týchto dôvodov sa na detekciu antigénov HHK používajú skupiny podobne reagujúcich antisér (podľa možnosti operatívne monošpecifických), ktoré vykazujú vysokú vzájomnú asociáciu. Vzájomná asociácia sér na základe ich reakcií bola na súbore hodnotená korelačnou analýzou (Démant a i., 1966). Séra s vysokou vzájomnou asociáciou majú podobné protilátky, alebo obsahujú spoločnú protilátku, ktorá detekuje identickú špecifickosť v danej populácii. V tomto prípade sa korelačný koeficient blíži k hodnote +1. Hodnota $r = 0$ vyjadruje náhodnú distribúciu, záporná hodnota na-

značuje alternatívny charakter reakcie. Vzájomný vzťah reakcie dvoch sér vyjadruje aj χ^2 . Použili sme dva rôzne χ^2 testy (Andressen a i., 1963). χ^2 pre nezávislosť predpokladá nezávislosť dvoch sér. Ak je hodnota $\chi^2 > 3,8$ ($P < 0,05$), hypotéza nezávislosti môže byť zamietnutá. Druhý test je χ^2 pre alelizmus a predpokladá, že dve antiséra detekujú dve špecificity, ktoré sú kontrolované rôznymi alelami jedného genetického systému. Hodnota $\chi^2 < 3,8$ naznačuje alelický vzťah medzi dvoma špecificitami.

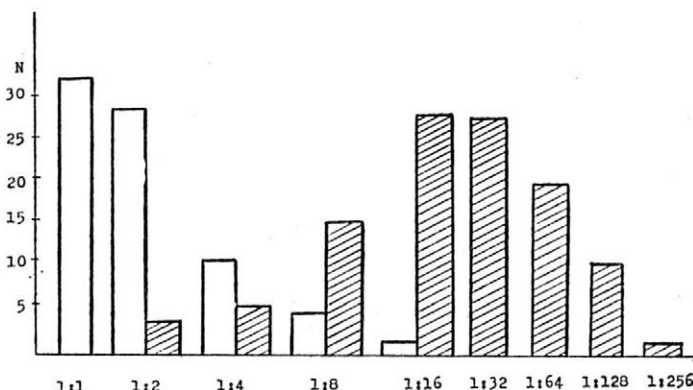
VÝSLEDKY

Testovanie sér na informatívnom súbore náhodne vybraných zvierat ukázalo, že väčšina sér získaných imunizáciou celou krvou má cytotoxické protilátky proti lymfocytom. Zo 113 testovaných sér reagovalo 103. Tieto séra však boli značne oligošpecifické, pretože väčšina z nich reagovala s celým súborom. Len štyri séra mali reakčnú frekvenciu menšiu ako 50 %. Naproti tomu séra získané od kráv na bitúnku reagovali menej často. Z 300 testovaných sér 202 nereagovalo vôbec. Predpokladáme, že neobsahujú žiadne protilátky. Z 98 reagujúcich sér 21 reagovalo s celým súborom, preto boli z ďalšieho testovania vyradené. Titer cytotoxických protilátok (obr. 1) antisér získaných od kráv na bitúnku bol nízky. Väčšina z nich reagovala len v riedení 1:1 — 1:2. Oproti tomu krvno-skupinové reagenty mali podstatne vyššie titry, väčšina z nich reago-

1. Titer cytotoxických protilátok niektorých antisér — The titre of the cytotoxic antibodies of some antisera

□ imunizované plodom
 ▨ imunizované celou krvou

N = počet sér



I. χ^2 pre nezávislosť a alelizmus, korelačné koeficienty medzi definovanými špecificitami (vybraté séra z jednotlivých klasterov) — χ^2 for independence and allelism, coefficients of correlation between the defined specificities (sera selected from the clusters)

Sérum	χ^2 pre nezávislosť	χ^2 pre alelizmus	r
281(1) — 319(2)	7,51	3,450	-0,24
281(1) — 271(3)	2,96	1,592	-0,15
281(1) — 311(4)	0,55	2,057	-0,06
319(2) — 271(3)	0,67	1,345	-0,07
319(2) — 311(4)	1,91	1,736	-0,14
271(3) — 311(4)	3,38	0,727	-0,16

vala v riedení 1:16 až 1:64. Vyselektované séra s nízkou reakčnou frekvenciou boli testované na ďalšom súbore nepríbuzných zvierat (132 lymfocytárnych vzoriek). Testovali sme len séra, ktoré v predchádzajúcom súbore vykázali frekvenciu nižšiu ako 80 %. Celkom bolo testovaných 81 sér, z ktorých 77 bolo získaných od kráv na bitúnku, a štyri krvno-skupinové reagenty. Hodnotili sme ich vzájomnú koreláciu a hodnotu χ^2 jednotlivých sér na základe ich reakčného vzoru. Analýza čiastkových korelačných koeficientov ukázala, že distribúcia reakcií nebola

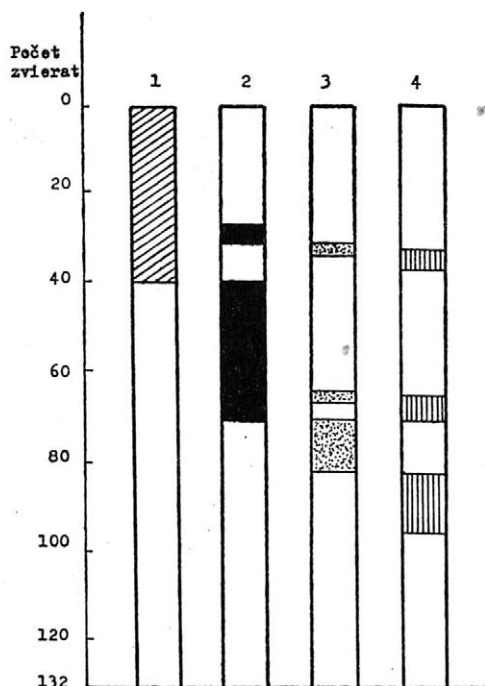
356	Klaster 1										
344	0,90										
338	0,96	0,91									
292	0,93	0,89	0,93								
281	0,98	0,93	0,98	0,96							
261	0,84	0,63	0,77	0,84	0,86						
259	0,91	0,85	0,91	0,88	0,77	0,86					
248	0,80	0,72	0,73	0,72	0,76	0,68	0,74				
242	0,91	0,85	0,98	0,88	0,93	0,86	0,86	0,76			
209	0,87	0,78	0,87	0,79	0,86	0,73	0,86	0,80	0,80		
12	0,90	0,86	0,90	0,87	0,90	0,79	0,84	0,71	0,83	0,72	
77	0,87	0,76	0,88	0,93	0,83	0,77	0,81	0,68	0,81	0,75	0,96
	356	344	338	292	281	261	259	248	242	209	12
319	Klaster 2										
315	0,79										
316	0,78	0,74									
286	0,76	0,60	0,60								
282	0,95	0,75	0,75	0,76							
194	0,89	0,71	0,67	0,58	0,87						
68	0,90	0,82	0,80	0,70	0,87	0,84					
182	0,89	0,90	0,83	0,70	0,85	0,82	0,95				
71	0,96	0,78	0,78	0,75	0,90	0,86	0,92	0,95			
	319	315	316	286	282	194	68	182			
343	Klaster 3					318	Klaster 4				
332	0,67					311	0,74				
294	0,62	0,60				276	0,89	0,83			
271	0,88	0,72	0,66			199	0,72	0,95	0,76		
218	0,91	0,75	0,70	0,97							
	343	332	294	271			318	311	276	199	

2. Vzájomné korelácie antisér v rámci jednotlivých klasterov, vyjadrené korelačným koeficientom — The correlations of antisera within each cluster, expressed by the correlation coefficient

náhodná, niektoré séra reagovali podobne. Z 80 testovaných sér mohlo byť 30 zaradených do štyroch klasterov. Vzájomné korelácie sér vo vnútri klasterov sú vysoké (najvyššia hodnota $r = +0,98$). Korelácia sér patriacich do rôznych klasterov bola v každom prípade negatívna ($r = -0,32$ až $-0,3$).

Na obr. 2 sú uvedené vzájomné korelácie jednotlivých sér, patriacich do štyroch skupín. Prvý klaster zahŕňa 12 sér, druhý deväť, tretí päť a štvrtý štyri séra. Ostatných 50 sér vykazovalo nízke korelácie a nebolo možné ich zaradiť do žiadnej skupiny. Z každej skupiny sme vybrali jedno sérum s najvyššou reakčnou frekvenciou v súbore a ich vzájomný vzťah sme analyzovali χ^2 testom. Hodnoty χ^2 pre nezávislosť a alelizmus a korelačné koeficienty medzi vybranými sérami jednotlivých klasterov sú uvedené v tab. I. Je zrejmé, že hodnoty χ^2 pre nezávislosť sú nízke ($\chi^2 < 3,8$ pri $P < 0,05$), výnimku tvorí χ^2 medzi sérom 281 a 319, kde $\chi^2 = 7,51$. Korelačný koeficient však vykazuje zápornú hodnotu ($r = -0,24$). Hodnoty χ^2 pre alelizmus sú v každom prípade nižšie ako 3,8.

Zoskupenie sér do jednotlivých klasterov na základe ich vzájomnej asociácie umožnilo stanoviť distribúciu antigénov určených týmito skupinami v testovanej populácii, pričom základnou podmienkou prítomnosti daného antigénu bolo, aby zviera reagovalo s väčšinou sér zo skupiny. Reakčné frekvencie definovaných špecifít súboru (obr. 3) ukázali, že zo 132 testovaných zvierat má 96 niektorý z určených antigénov. Žiadne z testovaných zvierat nemá viac ako dva antigény (80 zvierat malo jeden antigén a 16 zvierat dva antigény). Rovnako bolo možné zaznamenať vzájomné kombinácie identifikovaných antigénov u jednotlivých zvierat.



3. Distribúcia identifikovaných špecifít na paneli — The distribution of the identified specificities on the panel

Cieľom práce bolo pripraviť typizačné reagenty (antiséra s vysokou špecificitou), ktoré by umožnili detekciu lymfocytárných antigénov hovädzieho dobytku. K tomuto účelu boli použité jednako antiséra získané aloimunizáciou celou krvou, jednako antiséra kráv zabitých na bitúnku. Ukázalo sa, že krvno-skupinové reagenty sú pre tento účel nevhodné. Cytotoxické protilátky v týchto sérach vykazujú vysoké titry, väčšina z nich reaguje v riedení 1:16 až 1:64, obsahujú však široké spektrum protilátok. Absorpčná analýza týchto sér by bola veľmi náročná. Táto skúsenosť korešponduje s poznatkami zistenými Spoonerom a i. (1978). Tiež séra získané od kráv zabitých na bitúnku (u ktorých sa predpokladá, že boli imunizované graviditou) obsahujú cytotoxické protilátky proti lymfocytárnym antigénom. V mikrolymfocytotoxickom teste reagovalo 29 % sér. Nevýhodou týchto sér je ich nízky titer, ktorý v mnohých prípadoch neumožňuje absorpčnú analýzu na overenie ich špecificity. Ich výhoda spočíva v tom, že sa dajú získať za pomerne krátku dobu bez náročných aloimunizácií a po sérologickej a štatistickej analýze umožňujú získať základnú sadu informatívnych antisér. Korelačná analýza ukázala, že 30 antisér je možné zaradiť do štyroch klasterov. Vysoké vzájomné korelácie v rámci jednotlivých skupín naznačujú, že každá skupina určuje inú špecificitu aj napriek tomu, že nebola uskutočnená krížová absorpčná analýza. Túto skutočnosť naznačujú aj hodnoty χ^2 . Nízke hodnoty χ^2 medzi jednotlivými špecificitami poukazujú na ich alelický charakter a na príslušnosť k jednému genetickému systému. Je sporné, či popísaný systém je identický s BoLA, ktorý bol identifikovaný už niekoľkými autormi (Spoonera i., 1978; Amorena a Stone, 1978; Caldwell, 1979). Nakoľko sme v skúmanej populácii detekovali súčasný výskyt maximálne dvoch špecifícít u jedného zvierata, dá sa predpokladať, že identifikované antigény sú kontrolované jedným alebo niekoľkými úzko viazanými lokusmi. Uvedený predpoklad je založený len na distribúcii študovaných antigénov v populácii. Genetická kontrola týchto antigénov by bola objasnená rodinnými štúdiami.

Súčasná vedomosť o sérologicky definovaných produktoch systému BoLA poukazujú na to, že prevažná väčšina cytotoxických protilátok detekuje produkty práve tohoto systému. Výnimku tvorí dosiaľ antigén CA 19 (Stear a i., 1982). Je preto veľmi pravdepodobné, že antigény popísané v tejto práci sú kontrolované systémom BoLA. Uvedený predpoklad by mohol byť potvrdený medzinárodným porovnávacím testom.

Podakovanie

Za poskytnutie reagentov krvných skupín ďakujeme ing. J. Schröffelovi, CSc., a ing. V. Glasnákov, CSc., z laboratória Státnich plemenárskych podniků Hradištko pod Medníkem a za technickú spoluprácu s. O. Guldánovej z ÚEVM — pracovisko Ivanka pri Dunaji.

Literatúra

- AMORENA, B. — STONE, W. H.: Serologically defined (SD) locus in cattle. *Science*, 201, 1978, s. 159-160.
- AMORENA, B. — STONE, W. H.: Bovine lymphocyte antigens (BoLA): A serologic, genetic and histocompatibility analysis. *Tiss. Antigens*, 1980, s. 212-225.
- ANDRESSEN, E. — BAKER, L. N. — ROWE, K. E.: The usefulness and limitation of two-by-two tables in distinguishing between allelism and non-allelism based on random population material. *Immunogenet. Lett.*, 3, 1963, s. 15-20.
- ANTCZAK, D. F.: Structure and function of the major histocompatibility complex in domestic animals. *J. Amer. veter. med. Assoc.*, 181, 1982, s. 1030-1036.
- BOYUM, A.: Separation of leucocytes from blood and bone marrow. *Scand. J. clin. lab. Invest., Suppl.*, 21, 1968, s. 97.
- CALDWELL, J.: Polymorphism of the BoLA system. *Tiss. Antigens*, 1979, s. 319-326.
- DAUSSET, J. — SVEJGAARD, A.: HLA and disease. *Inserm. Paris*, 1977.
- DÉMANT, P. — IVÁNYI, P. — IVAŠKA, M.: The values of the correlation coefficient of antigens controlled by allelic genes in the population at equilibrium. *Folia biol.*, 13, 1967, s. 473-476.
- GASSER, D. L. — NEWLIN, C. M. — PALM, J. — GONATAS, N. K.: Genetic control of susceptibility to experimental allergic encephalitis in rats. *Science*, 181, 1973, s. 872-873.
- LONGENECKER, B. M. — MOSMANN, T. R.: Structure and properties of the major histocompatibility complex of the chicken. Speculations on the advantages and evolution of polymorphisms. *Immunogenetics*, 13, 1981, s. 1-23.
- SPOONER, R. L. — LEVEZIEL, H. — GROSCLAUDE, F. — OLIVER, R. A. — VAIMAN, M.: Evidence for a possible major histocompatibility complex (BLA) in cattle. *J. Immunogenet.*, 5, 1978, s. 335-346.
- STEAR, M. J. — NEWMAN, M. J. — NICHOLAS, F. W.: Two closely linked loci and one apparently independent locus code for bovine lymphocyte antigens. *Tiss. Antigens*, 1982, s. 289-299.
- TERASAKI, P. I. — McCLELLAND, J. D.: Microdroplet assay of human serum cytotoxins. *Nature*, 204, 1964, s. 998-1000.
- VLADUTIU, A. O. — ROSE, N. R.: Autoimmune murine thyroiditis. Relationship to histocompatibility (H-2) type. *Science*, 174, 1971, s. 1137-1139.

Došlo dňa 8. 2. 1984

СИМОН, М. — АБРГАМОВА, Д. — ДУШИНСКИ, Р. — БОДЯ, К. (Институт физиологии сельскохозяйственных животных САН, Кошице, рабочий пункт Иванка-при-Дунае; Институт экспериментальной ветеринарии, Кошице, рабочий пункт Иванка-при-Дунае; Институт зоогигиены и ветеринарной техники, Трнава, рабочий пункт Иванка-при-Дунае): Цитотоксические антитела против лимфоцитарных антигенов крупного рогатого скота. *Veter. Med. (Praha)*, 29, 1984 (8) : 449-456.

Были приготовлены типизационные реактивы для определения лимфоцитарных антигенов крупного рогатого скота. Подходящим источником цитотоксических антител были сыворотки, полученные у забитых на скотобойне коров. Из 300 испытанных сывороток 98 обладало цитотоксической активностью. Селектированные сыворотки с низкой частотой реакции тестировались на совокупности из 132 неродственных животных. На основе взаимных корреляций 30 из них можно было отнести к четырем группам. Сыворотки в рамках отдельных групп отличались высокой взаимной ассоциацией, в связи с чем можно полагать, что каждая группа определяет одну специфическую особенность. Корреляционный анализ, равно как и распределение антигенов в обследуемой популяции, свидетельствуют о том, что определенные антигены относятся к одной системе и что они генетически контролируются одним или несколькими тесно связанными локусами.

лимфоцитарные антигены; главный гистосовместимый комплекс; цитотоксические антитела

SIMON, M. — ABRHÁMOVÁ, D. — DUŠINSKÝ, R. — BOĎA, K. (Institute of Animal Physiology, Slovak Academy of Sciences, Košice, Station Ivanka pri Dunaji; Institute of Experimental Veterinary Medicine, Košice, Station Ivanka pri Dunaji; Institute of Zoohygiene and Veterinary Technology, Trnava, Station Ivanka pri Dunaji): *Cytotoxic Antibodies to Bovine Lymphocyte Antigens*. Veter. Med. (Praha), 29, 1984 (8) : 449-456.

Typing reagents for the identification of bovine lymphocyte antigens were prepared. Sera obtained from cows killed in slaughterhouse were a good source of cytotoxic antibodies. Out of the 300 sera tested, 98 were cytotoxically active. The selected sera with a low reaction frequency were tested on a panel of 132 non-related animals. On the basis of the correlations between the sera, thirty of them could be included in four clusters. The sera within each cluster were closely associated; hence it can be assumed that a distinct specificity is represented by each of the clusters. It is suggested by correlation analysis and by the distribution of antigens in the population under study that the determined antigens fall within the same system and are genetically controlled by one or several closely associated loci.

lymphocyte antigens; major histocompatibility complex; cytotoxic antibodies

Adresy autorov:

Ing. Michal Simon, CSc., akademik Koloman Boďa, Ústav fyziológie hospodárskych zvierat SAV, Košice, pracovisko 900 28 Ivanka pri Dunaji

MVDr. Dana Abrhánová, Ústav zoohygieny a veterinárnej techniky, Trnava, pracovisko 900 28 Ivanka pri Dunaji

RNDr. Roman Dušínský, Ústav experimentálnej veterinárnej medicíny, Košice, pracovisko 900 28 Ivanka pri Dunaji

J. Říha

ŘÍHA, J. (Výzkumný ústav pro chov skotu, Rapotín): *Využití vyřazených krav jako dárců embryí*. Veter. Med. (Praha), 29, 1984 (8) : 457-464.

V pokuse byla u 134 dárek — krav a prvotetek, vyřazených k jatečným účelům pro nízkou užitkovost, onemocnění vemene, infertilitu a ostatní důvody (ukončení produkčního věku, onemocnění končetin aj.), vyvolána superovulace aplikací 2000 až 4000 m. j. preparátu PMSG (Sérový gonadotropin, Bioveta). Embrya byla získávána šestý až devátý den po první inseminaci postmortalním způsobem. U dárek vyřazených pro infertilitu činil podíl superovulovaných zvířat 53,1 %, z dárek vyřazených z „ostatních“ důvodů bylo superovulováno pouze 46,2 %; z krav vyřazených pro nízkou užitkovost a onemocnění vemene bylo superovulováno 76,3 %, resp. 70,6 %. Stimulace byla nejvyšší u krav vyřazených z „ostatních“ důvodů (14,58 CL) a pro infertilitu (12,41 CL). Úroveň zisku embryí byla dobrá u dárek vyřazených pro nízkou užitkovost (57,3 % z počtu CL; 6,82 vajíčka), z „ostatních“ důvodů (59,3 %; 8,64 vajíčka) a pro onemocnění vemene (62,6 %; 6,83 vajíčka), nejnižší byla u dárek infertilních (46 %; 5,71 vajíčka — *P* — neprůkazné). U těchto dárek byl nejvyšší podíl embryí vhodných k přenosu (66,9 %) ze získaných vajíček. Podíl vhodných embryí měl dobrou úroveň u dárek vyřazených pro nízkou užitkovost (61,7 %) a z „ostatních“ důvodů (55,8 %); nejnižší byl u dárek s onemocněním vemene (48,8 %). Podíl superovulovaných dárek (od 53,3 % do 85,7 %) a výsledky stimulace byly uspokojivé až zhruba do jednoho roku po otelení. Ani kvalita získaných vajíček se v tomto období příliš nelišila, až na dárek inseminované v intervalu 121 až 150 dní p. p. Poněkud nižší stimulaci a zisk jsme zjistili u dárek ošetřených a inseminovaných po jednom roce po porodu.

superovulace; dárek embryí; důvod vyřazení; délka intervalu otelení

Úspěšnost superovulace jako hlavního zdroje embryí je v současné době limitující pro rozšíření přenosu embryí v chovu skotu.

Na celkové výsledky superovulace působí různé vlivy. Podle Shillinga aj. (1981) se na celkovém počtu žlutých tělísek (CL) podílí hladina progesteronu před aplikací gonadotropinu 16,2 % variance při 75,4 % podílu variancí nedefinovatelných vlivů. Po ošetření se dosáhne polyovulační odpovědi průměrně u 60 % dárců (Majerčíak, 1981; Vinkler aj., 1983).

Získávání embryí *post mortem* u poražených dárců má proti jiným postupům přednost v nízké pracovní a materiálové náročnosti (Říha, nepublikované výsledky, 1981). Testart (1975), Betteridge (1977, Heyman a Renard (1978) uvádějí vysokou výtěžnost embryí při postmortalním získávání. Zisk embryí uvádějí mezi 62 až 72 % z přesně zjištěného počtu CL.

Schopnost krav vyřazených z jiných důvodů k superovulaci není v dostupné literatuře uváděna, objevují se však zmínky o použití infertilních krav. Elsdén aj. (1978) zjistili u dárkyní s intertilitou nižší podíl superovulovaných zvířat, nižší stimulaci, zisk vajíček i podíl vhodných embryí než u kontrolní skupiny.

Podobně Hasler aj. (1983) superovulovali zdravé dárkyně a krávy vyřazené jako infertilní. Zdravé krávy, u nichž byla zjištěna po PMSG i FSH vyšší stimulace, produkovaly více vajíček a větší počet embryí schopných přenosu. U zdravých krav činil podíl zvířat bez superovulace 14 %, zatímco u skupiny krav infertilních 51 %.

Ha hn (1980) uvádí, že v programech přenosů embryí se plemenářsky cenní dárce používají průměrně 70 dnů *post partum*. Schilling aj. (1981) získali nejlepší výsledky superovulace u krav mezi 50. až 70. dnem po porodu. Limonov (1980) doporučuje získávat embrya od vysokoužitkových krav v intervalu do tří měsíců po otelení. Výjimku mohou tvořit pouze zvířata vyřazovaná.

Cílem předkládané práce je zhodnotit schopnost krav vyřazených k jatečným účelům a prvotek v různě dlouhém intervalu od otelení k superovulaci a postmortálnímu získávání embryí.

MATERIÁL A METODA

Ošetření 134 dárkyní různorodé plemenné příslušnosti, vyřazených k jatečným účelům pro nízkou užitkovost, onemocnění vemene, sterilitu a z ostatních důvodů (ukončení produkčního věku, onemocnění končetin aj.) bylo započato jednou, popř. dvěma aplikacemi PGF₂alfa v 11denním intervalu. Preparát PMSG v dávce 2000 až 4000 m. j. byl aplikován i. m. v intervalu 11 až 16 dnů po předchozím ošetření PGF₂alfa 8. až 13. den po říji. Syntetický analog prostaglandinu F₂alfa byl aplikován za 43 až 48 hodin po PMSG. Dárkyně byly inseminovány dvakrát nebo třikrát jednou dávkou hluboce zmrazeného spermatu.

Embrya byla získávána šestý až devátý den po první inseminaci výplachem vypreparovaných děložních rohů poražených dárkyní. Embrya byla izolována z výplaškové tekutiny pod stereomikroskopem a byla zhodnocena jejich kvalita. U dárkyní byly zaznamenány údaje důležité pro roztrídění a zpracování. Výsledky byly zpracovány běžnými variačně statistickými metodami.

VÝSLEDKY A DISKUSE

VLIV DŮVODU PRO VYŘAZENÍ

Do skupiny „ostatních“ jsou zařazeny plemenice vyřazené především pro onemocnění končetin a plemenářsky cenné dojnice na konci produkčního věku, tedy plemenice starší. Patrně proto je v této skupině podíl superovulovaných zvířat nejnižší a činí 46,2 %. Tato domněnka potvrzuje i poznatek (Newcomb, 1976), že plodnost klesá s věkem. Podíl superovulovaných zvířat u dárkyní vyřazovaných pro infertilitu byl vyšší a činil 53,1 %, podíl zvířat bez CL činil 18,8 % a s jedním až dvěma CL 28,1 %. Nízkého podílu superovulovaných zvířat (49 %) dosáhli u dárkyní vyřazených z důvodu inferility i Hasler aj. (1983). Podíl superovulovaných dárkyní z krav vyřazovaných pro onemocnění vemene činil 70,6 %. U všech zvířat vyřazených z tohoto důvodu byla zjištěna alespoň jedna ovulace. Nejvyšší podíl superovulovaných dárkyní byl zjištěn u zvířat vyřazených kvůli nízké užitkovosti (76,3 %).

Nejvíce cyst u superovulovaných dárkyní bylo zjištěno u krav vyřazených pro infertilitu (8,24 cysty), méně pak u krav vyřazených z důvodů nízké užitkovosti (7,64 cysty) a pro onemocnění mléčné žlázy (6,75 cysty). Nejméně cyst bylo zjištěno u krav vyřazených z ostatních důvodů (5,75 cysty).

Po porážce byl nejvyšší počet žlutých tělísek (14,58 CL) při nízkém podílu superovulovaných zvířat zjištěn u „ostatních“ krav. U krav vyřazených z důvodu infertility činil počet žlutých tělísek 12,41, u krav vyřazených pro nízkou užitkovost 11,91. Nejméně žlutých tělísek bylo po porážce zjištěno u krav vyřazených pro onemocnění vemene (10,92 CL). Zjištěné rozdíly byly statisticky neprůkazné.

Nejvyšší počet vajíček byl získán od krav vyřazených pro onemocnění končetin a ukončení produkčního věku (8,64 vajíčka). Podíl získaných vajíček byl proti počtu CL rovněž dost vysoký a činil 59,3 %. U krav vyřazených pro onemocnění vemene bylo získáno průměrně 6,83 vajíček, podíl získaných vajíček z počtu CL byl nejvyšší a činil 62,6 %. Od dárkyní vyřazených pro nízkou užitkovost bylo získáno průměrně

I. Vliv důvodu vyřazení dárce — The effect of the reason of culling the donor

Ukazatel		Důvod vyřazení			
		užitkovost	infertilita	onemocnění vemene	ostatní
Ošetřeno	<i>n</i>	59	32	17	26
Bez stimulace	<i>n</i>	6	6	2	7
	%	10,2	18,8	11,8	26,9
S 1 — 2 CL	<i>n</i>	8	9	3	7
	%	13,5	28,1	17,6	26,9
Superovulováno					
(se 3 a více CL)	<i>n</i>	45	17	12	12
	%	76,3	53,1	70,6	46,2
— počet cyst	$\bar{x}$	7,64	8,24	6,75	5,75
	<i>v</i>	77,3	114,8	78,9	66,8
— počet CL	$\bar{x}$	11,91	12,41	10,92	14,58
	<i>v</i>	72,1	72,7	68,5	63,8
Vajíčka					
— získáno celkem	$\bar{x}$	6,82	5,71	6,83	8,64
	<i>v</i>	82,5	83,5	73,8	66,0
— vhodná vajíčka	$\bar{x}$	4,21	3,82	3,33	4,82
	<i>v</i>	95,7	103,5	78,2	93,2
Podíl					
— získaných vajíček (z počtu CL)	%	57,3	46,0	62,6	59,3
— vhodných embryí (ze získaných)	%	61,7	66,9	48,8	55,8

6,82 vajíček a podíl vajíček proti počtu CL činil 57,3 %. Nejnižší počet i podíl vajíček byl získán od krav vyřazených pro infertilitu (5,17 vajíčka, 46 %).

Krávy vyřazené z důvodů infertility poskytly nejvyšší podíl vhodných embryí z embryí získaných (66,9 %), průměrně 3,82 embrya od jedné superovulované dárkyně. Naopak Elsdén aj. (1978) a Hasler aj. (1983) zjistili u infertilních dárkyní nízký počet i podíl embryí schopných přenosu. Vysoký podíl vhodných embryí byl získán rovněž od krav vyřazených pro nízkou užitkovost (61,7 %; 4,21 embrya) a od dárkyní vyřazených z „ostatních“ důvodů (55,8 %) při nejvyšším průměrném zisku embryí na superovulovanou dárkyni — 4,82 vhodných embryí. Nejnižší průměrný počet vhodných embryí byl u krav vyřazených z důvodu onemocnění vemene (3,33 vhodných embryí) při nižším podílu přenosu schopných embryí — 48,8 %. Všechny rozdíly jsou — patrně kvůli značné variabilitě výsledků — statisticky neprůkazné (tab. I).

Schopnost vyřazených krav k superovulaci není v dostupné literatuře uváděna, jsou však uvedeny výsledky superovulace u infertilních krav. Z výsledků je zřejmé, že plemence skotu vyřazované pro nízkou užitkovost, onemocnění vemene a ukončení produkčního věku jsou vhodným materiálem k superovulačnímu ošetření a získávání embryí *post mortem*. Je možné ošetřit i zvířata vyřazovaná pro infertilitu. Dawson (1977) zjistil u těchto zvířat reprodukční potenciál. U 43 % zvířat označených jako sterilní ($n = 28$) dosáhl koncepce a normální březosti. Elsdén aj. (1978) zjistili u dárkyní s infertilitou nižší podíl superovulovaných zvířat a poněkud nižší stimulaci i zisk vajíček než u kontrolní skupiny. Kvalita embryí získaných od infertilních dárkyní však byla velmi špatná (1,0 a 1,2 embryí schopných přenosu u dvou skupin infertilních dárkyní proti 6,5 embryí u kontrolní skupiny), obdobné výsledky uvádějí Hasler aj. (1983).

VLIV DÉLKY INTERVALU OD OTELENÍ DO ŘÍJE

V hodnocených experimentech se jedná o vyřazená zvířata, a proto má délka období od otelení do inseminace v říji po superovulaci široké rozmezí. Z tab. II je patrné, že 16 dárkyní bylo ošetřeno mezi 60. a 90. dnem *post partum*, ale 33 dárkyně byly ošetřeny za více než jeden rok po otelení. Dvě plemence byly ošetřeny ještě před 60. dnem po otelení. Výsledky stimulace byly velmi dobré, ale zisk a kvalita vajíček neuspokojivé.

Podíl superovulovaných zvířat je vysoký ve všech uvedených intervalech do jednoho roku, kromě intervalu 151 až 210 dnů, kdy činil 53,3 %. Nejnižší podíl superovulovaných zvířat byl zjištěn u dárkyní inseminovaných v intervalu po jednom roce po otelení (pouze 39,4 %) při nejvyšším počtu hodnocených dárkyní v tomto intervalu. Podíly superovulovaných zvířat byly nejvyšší v intervalech od 60 do 90 dnů (81,3 %) a od 91 do 120 dnů (85,7 %); v dalších intervalech byly poněkud nižší. S prodlužujícím se intervalem od otelení vykazuje podíl superovulovaných zvířat mírně klesající tendenci.

Průměrný počet cyst je přibližně na stejné úrovni do 150 dnů po otelení (6,17 až 7,75 cysty); nejnižší hodnoty dosáhl v intervalu od 151

Ukazatel		Délka intervalu (dnů)						
		60-90	91-120	121-150	151-210	211-270	271-360	361 a více
Ošetřeno	<i>n</i>	16	21	6	15	11	29	33
Bez stimulace	<i>n</i>	1	2	1	4	0	6	8
	%	6,3	9,5	16,7	26,7	0,0	20,7	24,2
S 1 — 2 CL	<i>n</i>	2	1	1	3	4	4	12
	%	12,5	4,8	16,7	20	36,4	13,8	36,4
Superovulováno (se 3 a více CL)	<i>n</i>	13	18	4	8	7	19	13
	%	81,3	85,7	66,7	53,5	63,6	65,5	39,4
— počet cyst	$\bar{x}$	6,23	6,17	7,75	3,75 ⁺	10,14 ⁺	10,37	6,77
	<i>v</i>	100,5	34,4	90,2	98,5	52,6	86,8	67,2
— počet CL	$\bar{x}$	8,92	14,17	15,00	12,63	7,71	16,32	8,23
	<i>v</i>	89,7	62,1	36,5	69,7	65,1	59,6	73,1
Vajíčka								
— získáno celkem	$\bar{x}$	3,08	7,06	13,25	9,38	6,00	9,32	4,15
	<i>v</i>	80,1	78,8	42,0	86,6	107,2	47,5	71,4
— z toho získáno vhodných embryí	$\bar{x}$	2,31	4,67	4,50	6,88	4,33	5,71	2,46
	<i>v</i>	108,2	97,0	58,8	87,8	115,4	76,1	91,8
Podíl								
— získaných vajíček (z počtu CL)	%	34,5	49,8	88,3	74,3	77,8	57,1	50,4
— vhodných embryí (ze získaných)	%	75,0	66,1	34,0	73,3	72,2	61,3	59,3

⁺) $P < 0,05$

2 kusy superovulovány do 60 dnů po otelení s průměrným počtem: 10 cyst

18,5 CL

získáno bylo 7,5 vajíčka

z toho 7,5 neoplozených

do 210 dnů (3,75 cysty). Průkazně více cyst bylo zjištěno ($P < 0,05$) v období 211 až 270 dnů *p. p.* U dárkyní ošetřených a inseminovaných po jednom roce *post partum* činil průměrný počet cyst 6,77.

Nejnižší počet žlutých tělísek byl zjištěn v intervalech 60 až 90 dnů a 211 až 270 dnů *post partum* a v období po jednom roce po otelení; průměrné hodnoty v odpovídajícím pořadí činí 8,92; 7,71; 8,23 žlutých tělísek. V ostatních hodnocených intervalech byla stimulace vyšší. Nejvyšší počet žlutých tělísek byl zjištěn v intervalu od 271 do 360 dnů po otelení a činil v průměru 16,32 ovulace. Průměrné počty žlutých tělísek jsou dost vysoké ve všech intervalech, až na interval od 211 do 270 dní *p. p.*

Ukazatel	Délka intervalu (dnů)	91— —120	121— —150	151— —210	211— —270	271— —360	361— a více
Počet CL	60— 90					+	
	91—120						+
	121—150				+		
	211—270					+	
	271—360						+
Vajíčka celkem	60— 90	+	++	+		++	
	121—150						++
	151—210						+
	271—360						++
Vhodná embrya	60— 90			+		+	
	151—210						+
	271—360						+

+ $P < 0,05$ ++ $P < 0,01$

Nejméně vajíček celkem bylo získáno v období od 60 do 90 dní a po jednom roce po otelení (3,08 vajíčka, resp. 4,15 vajíčka), nejvíce v intervalech 121 až 150 dnů (13,25 vajíčka), 151 až 210 dnů (9,38 vajíčka) a 271 až 360 dnů (9,32 vajíčka). Z uvedených hodnot je patrné značné kolísání výsledků v různých intervalech po otelení. V intervalech do jednoho roku po otelení není zřejmě výrazné zhoršení výsledků.

Totéž je možné konstatovat u průměrného počtu vhodných embryí. Nejméně vhodných embryí bylo získáno v intervalu od 60 do 90 dnů (2,31 embrya) a 360 dní a více (2,46 embrya). Průkazností rozdílů jsou uvedeny v tab. II.

Podíl získaných vajíček z počtu CL je na dobré úrovni v období po 91. dnu po otelení (50 až 88,3 %), podíl vhodných embryí je ve všech hodnocených intervalech uspokojivý, vyjma intervalu od 121 do 150 dnů, ve kterém činil 34 %.

V dostupné literatuře je otázka vlivu délky intervalu otelení — superovulace málo uváděna a hodnocena. Podle Hahn a (1980) se v programech přenosů raných embryí používají plemenářsky hodnotné dárky — průměrně 70 dnů po otelení. Schilling aj. (1981) získali nejvyšší počet žlutých tělísek u krav superovulovaných mezi 50. a 70. dnem *post partum*. Nižší počet CL u krav po 70. dnu po otelení byl v jejich pokusech způsoben patrně tím, že se jednalo o dárce s poporodními komplikacemi. Hahn a Schneider (cit. Schilling aj., 1981) nedoporučují používat dárce příliš pozdě po otelení. Limonov (1980) doporučuje získávat embrya od vysoce produktivních krav v intervalu do tří měsíců po otelení. Potom musí být kráva připravena k normálnímu fyziologickému oplození. Výjimky mohou tvořit pouze zvířata vyřazovaná. V hodnocených experimentech byly využívány vyřazené dár-

kyně, proto je interval otelení — superovulace delší. Výsledky stimulace (počet CL) byly uspokojivé, i když značně variabilní až zhruba do jednoho roku po otelení. Rovněž zisk i kvalita získaných embryí se v tomto období podstatně nelišily. Poněkud nižší zisk a kvalita embryí byl zjištěn u dárkyní ošetřených a inseminovaných po jednom roce od otelení. Z uvedených výsledků je patrné, že je možné použít vyřazované dárkyně k superovulaci přibližně do jednoho roku po otelení.

Literatura

- BETTERIDGE, K. J.: Embryo transfer in farm animals. Canada Dept. of Agriculture. Monogr., 16, 1977.
- DAWSON, F. L. M.: Reproductive potential in female cattle discarded as infertile. J. Reprod. Fert., 51, 1977, s. 53-56.
- 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, R.: Selekcí programy v transplantaci zárodků spolku pro inseminaci v Neustadt a. d. Aisch. In: Sbor. Ref. „Reprodukce v chovu skotu“. Hradec Králové, 30. 9. — 1. 10. 1980, s. 51-65.
- HASLER, J. F. — McCANLEY, A. D. — SCHERMERHORN, E. C. — FOOTE, R. H.: Superovulatory responses of Holstein cows. Theriogenology, 1983, s. 83-99.
- HEYMAN, Y. — RENARD, J. P.: Production des jumeaux par transplatation d'embryons chez les bovins de race a viande. Ann. Méd. vétér., 1978, s. 157-163.
- LIMONOV, V.: Vysokoproduktyvnnye korovy — donory zygot. Životnovodstvo, 1980, č. 7, s. 36-37.
- MAJERČIAK, P.: Řízená reprodukce hospodářských zvířat. [Výzkumná zpráva.] Nitra, Výskumný ústav živočišnej výroby 1981.
- NEWCOMB, R.: Fundamental aspects of ovum transfer in cattle. Veter. Rec., 1976, č. 99, s. 40-44.
- SCHILLING, E. — HAUPT, P. — SMIDT, D. — SACHER, B. — ELSAESSER, F. — SCHUTZBAR, W.: Die Variabilität des Superovulationserfolges bei Kühen und deren möbliche Ursachen. Z. Tierzücht. Zücht.-Biol., 98, 1981, s. 88-99.
- TESTART, J.: Obtention et transplatation d'oeufs divisés chez les bovins. Thèse, Université Paris, VI, 1975.
- VINKLER, A. — KUDLÁČ, E. — KOZUMPLÍK, J. — DANČÍK, A. — DVOŘÁK, R. — VAŇATKA, F. — HRIVNÁK, J. — HOŠEK, L.: Faktory ovlivňující úspěšnost přípravy dárců a příjemců v programu přenosu raných embryí u skotu. In: Sbor. Ref. „Reprodukce hosp. zvířat“. Brno, 29.-30. 6. 1983, s. 10c.

Došlo dne 27. 2. 1984

РЖИГА, Я. (Научно-исследовательский институт скотоводства, Рапотин): **Использование выбракованных коров как доноров эмбрионов.** Veter. Med. (Praha), 29, 1984 (8) : 457-464.

В опыте у 134 доноров эмбрионов — коров и первотелок, выбракованных на убой из-за низкой продуктивности, заболеваний вымени, бесплодия и по другим причинам (завершение продуктивного возраста, заболевания конечностей и др.). — вызвали суперовуляцию путем аппликации 2000—4000 м.е. препарата PMSG (Сывороточный гонадотропин, Биовета). Эмбрионы получали на шестой—девятый день после первого осеменения помертным способом. У коров-доноров, выбракованных из-за бесплодия, доля суперовулированных животных составляла 53,1%, из коров-доноров, выбракованных по «другим» причинам, суперовулировано было только 46,2%; из коров, выбракованных ради низкой продуктивности и заболеваний вымени, суперовулировано было 76,3% и 70,6%. Стимулирование было наибольшим у коров, выбракованных по «другим» причинам (14,58 CL) и из-за бесплодия (12,41 CL). Уровень получения эмбрионов был хорошим у коров-доноров, выбракованных из-за низкой продуктивности (57,3% из числа CL; 6,82 яйца), по «другим» причинам (59,3%; 8,64 яйца) и из-за заболеваний вымени (62,6%; 6,83 яйца), наименьшим он

был у бесплодных доноров (46 %; 5,71 яйца — P — недостоверное). У этих доноров был наибольший процент эмбрионов, годных для трансплантации — 66,9 % от полученных яиц. Доля годных эмбрионов имела хороший уровень у доноров, выбракованных из-за низкой продуктивности (61,7 %) и по «другим» причинам (55,8 %); наименьшей она была у коров-доноров с заболеванием вымени (48,8 %). Доля суперовулированных коров-доноров (от 53,3 и до 85,7 %) и результаты стимулирования были удовлетворительными примерно до одного года после отела. Однако и качество получаемых в этот период яиц особенно не отличалось, лишь за исключением яиц коров-доноров, осемененных в интервале 121—150 дней после отела. Несколько пониженную стимуляцию и меньший эффект установили у коров-доноров, обработанных и осемененных через год после отела.

суперовуляция; доноры эмбрионов; причина выбраковки; продолжительность интервала между отелами

ŘíHA, J. (Cattle Research Institute, Rapotín): *The Use of Culled Cows as Embryo Donors*. Veter. Med. (Praha), 29, 1984 (8) : 457-464.

In a trial, 134 donors (cows and first-calvers) culled for slaughter owing to a low performance, udder disease, infertility and other reasons (termination of productive age, foot disease, etc.) were treated with 2000 to 4000 i. u. PMSG (Serum gonadotropin, Bioveta) to induce superovulation. The embryos were obtained post mortem on the sixth to ninth day after the first insemination. Among the donors culled for infertility the proportion of superovulated animals was 53.1 % and among those culled for "the other" reasons this proportion was only 46.2 %; out of the cows eliminated for a low performance and udder diseases 76.3 % and 70.6 % were superovulated. The highest stimulation was obtained in cows culled for "the other" reasons (14.58 CL) and for infertility (12.41 CL). The level of embryo gain was good in donors culled for a low performance (57.3 % of CL number, 6.82 eggs), for "the other" reasons (59.3 %, 8.64 eggs) and for udder diseases (62.6 %, 6.83 eggs), it was the lowest in infertile donors (46 %; 5.71 eggs — P — insignificant). These donors had the largest proportion of embryos suitable for transfer — 66.9 % out of the eggs obtained. A good proportion of suitable embryos was also found in donors culled for a low performance (61.7 %) and for "the other" reasons (55.8 %); the lowest proportion of suitable embryos was obtained in the donors with diseased udders (48.8 %). Good proportions of superovulated donors (from 53.3 % to 85.7 %) and acceptable results of stimulation were kept for about a year after calving. The quality of the eggs showed little variation in this period, except for the donors inseminated within an interval of 121 to 150 days post partum. A somewhat lower stimulation and embryo gain were found in donors treated and inseminated a year from calving.

суперовуляция; эмбрио доноры; reason of culling; calving interval

Adresa autora:

Ing. Jan Říha, CSc., Výzkumný ústav pro chov skotu, Rapotín, 788 13 Víkřovice

J. Pícha, B. Barcikowski, D. Píchová, J. Míka, T. Olša

PÍCHA, J. — BARCIKOWSKI, B. — PÍCHOVÁ, D. — MÍKA, J. — OLŠA, T. (Výzkumný ústav pro biofaktory a veterinární léčiva, Pohoří-Chotouň; Ústav fyziologie a výživy zvířat PAN, Jablonná u Varšavy, PLR; Výzkumný ústav živočišné výroby, Praha-Uhřetěves): *Účinnost séra březích klisen na luteální tkáň skotu*. Veter. Med. (Praha), 29, 1984 (8) : 465-472.

V pokusech se čtyřmi jalovicemi a 12 dojnícemi byl sledován luteotropní účinek séra březích klisen v dávkách 2000 až 3000 jednotek. Účinek sérového gonadotropinu (PMSG) na ovariální aktivitu byl porovnán s ovariální aktivitou u kontrolních zvířat a s ovariální aktivitou po aplikaci hypofyzárních hormonů. Nejvyšší koncentrace progesteronu po aplikaci PMSG u dojnic se pohybovala mezi 41,9 až 74,3 ng . ml⁻¹ v mléce; u skupiny kontrolní byly hodnoty v rozmezí 32,2 až 43,1 ng . ml⁻¹ a u skupiny po aplikaci gonadotropinů 31,7 až 44,8 ng . ml⁻¹. U jalovic se po aplikaci PMSG hladiny progesteronu zvýšily za 24 hodiny ze 3,56 na 4,58 ng na ml plazmy. Po 48 hodinách po aplikaci se průměrná koncentrace progesteronu zvýšila na 11,02 ng na ml plazmy. Zvířata, která neodpověděla na aplikaci PMSG růstem folikulů, reagovala zvýšenou sekrecí progesteronu. Aplikace hypofyzárních hormonů v luteální fázi cyklu neovlivnila koncentraci progesteronu průkazně, ale stimulovala růst folikulů.

jalovice; dojnice; PMSG; FSH; LH; progesteron

Sérový gonadotropin (PMSG) v krvi březích klisen je glykoproteid, jehož molekula vykazuje jak FSH aktivitu, tak i LH aktivitu. Gosporowicz (1972) zjistil molekulovou hmotnost 60 000 daltonů, Christakos a Bahl (1979) 64 030 a Combarnous aj. (1981) uvádějí 45 000 daltonů. Izelektrický bod dosahuje podle Mukoyamy (1977) hodnoty 2,60 až 2,65. PMSG se v séru zjišťuje od 40. dne březosti, maximální hodnoty dosahuje 80. den, kdy délka plodu činí kolem 11 cm, a jeho přítomnost nebyla prokázána po 130. dnu gravidity. Celkové množství PMSG v krevní plazmě se může určovat hemaglutinačním inhibičním testem (Allen, 1969) nebo přímou radioimunoanalýzou (Menzer a Schlams, 1979; Nett aj., 1975).

Aktivitu složek PMSG a poměr FSH a LH prokázali biologickým pokusem u infantilních krys samic Bergfeld aj. (1980) a *in vitro* na krysích Sertoliho buňkách Dammaj. (1979). Aktivitu LH je možné prokázat *in vivo* u infantilních krys samic (Bangham a Woodward, 1966), nebo *in vitro* sekrecí Leydigových buněk krys a myši (Dufau aj., 1974; Mamode aj., 1982, 1983).

Luteotropní účinek PMSG pozorovali Henricks aj. (1973). V naší předchozí práci (Píchová aj., 1981) byl tento účinek na luteální tkáň potvrzen u jalovic *in vivo* mezi 9. až 11. dnem pohlavního cyklu.

Stimulační účinek PMSG na sekreci sekundárních žlutých tělísek u fertálních klisen podrobně zhodnotil ve své práci Tiemann (1983). Příznivý luteotropní účinek PMSG na luteální tkáň primárních a sekundárních žlutých tělísek *in vitro* prokázali Squires aj. (1979). Přídavek 500 m. j. PMSG do média zvýšilo sekreci luteální tkáně na $4,0 \text{ ng} \cdot \text{ml}^{-1}$ v porovnání s kontrolními vzorky ($1,5\text{--}1,8 \text{ ng} \cdot \text{ml}^{-1}$). Závislost mezi koncentracemi PMSG a progesteronu u klisen v období od 50 do 90 dní gravidity potvrdili korelací $r = +0,45$ mezi hmotnostmi luteální tkáně, koncentrací progesteronu $r = +0,99$ a koncentrací sérového gonadotropinu $r = +0,74$.

Předložená práce sleduje sekreci progesteronu luteální tkáně 9. až 11. den pohlavního cyklu u jalovic a dojnic po aplikaci sérového gonadotropinu v porovnání s kontrolními zvířaty. K posouzení účinku gonadotropinů na sekreci progesteronu luteální tkáně byly dvěma dojnicím aplikovány FSH a LH-P — purifikované extrakty prasečích hypofýz.

MATERIÁL A METODA

Do pokusu byly zařazeny čtyři jalovice a dvanáct dojnic. Ve skupině A byly jalovice a krávy ošetřeny sérem březích klisen (2000 až 3000 jednotek). Podle odpovědi jsme zvířata rozdělili na skupiny

- A₁ — jedna jalovice a dvě krávy, které neodpověděly stimulaci ovarií PMSG,
- A₂ — tři jalovice a čtyři krávy, které odpověděly stimulaci ovarií PMSG,
- B — čtyři kontrolní krávy,
- C — dvě krávy, kterým byly aplikovány hypofyzární hormony.

Použili jsme preparáty: Follicle stimulating hormone — pituitary a Luteinizing hormone — pituitary (Armour-Baldwin Laboratories, Nebraska, USA) v dávce 25 mg. Progesteron byl stanoven u jalovic v plasmě, u krav v mléce.

Před zahájením pokusu byla u všech zvířat rektálně posouzena funkce vaječníků a sekrece luteální tkáně byla kontrolována stanovením progesteronu. Pohlavní cykly jsme synchronizovali aplikací Oestrophanu Spofa. Luteotropní účinek PMSG a hypofyzárních gonadotropinů u krav byl sledován změnami v sekreci progesteronu a stimulace ovarií byla zjišťována laparotomií.

ODBĚR VZORKŮ KRVE A MLÉKA

Krev byla odebírána permanentními kanylami založenými do *vena jugularis* ve dvanáctihodinových intervalech a po aplikaci PMSG LH-FSH a Oestrophanu Spofa ve čtyřhodinových intervalech.

Vzorky mléka byly odebírány z celkového nádoje.

STANOVENÍ PROGESTERONU

Koncentraci progesteronu v krevní plazmě jsme určovali podle postupu Píchové aj. (1977). Přímé stanovení progesteronu v plném mléce uvádějí Pícha aj. (1980) a podrobné údaje o charakteristice protilátek Pícha aj. (1984).

ZPRACOVÁNÍ VÝSLEDKŮ

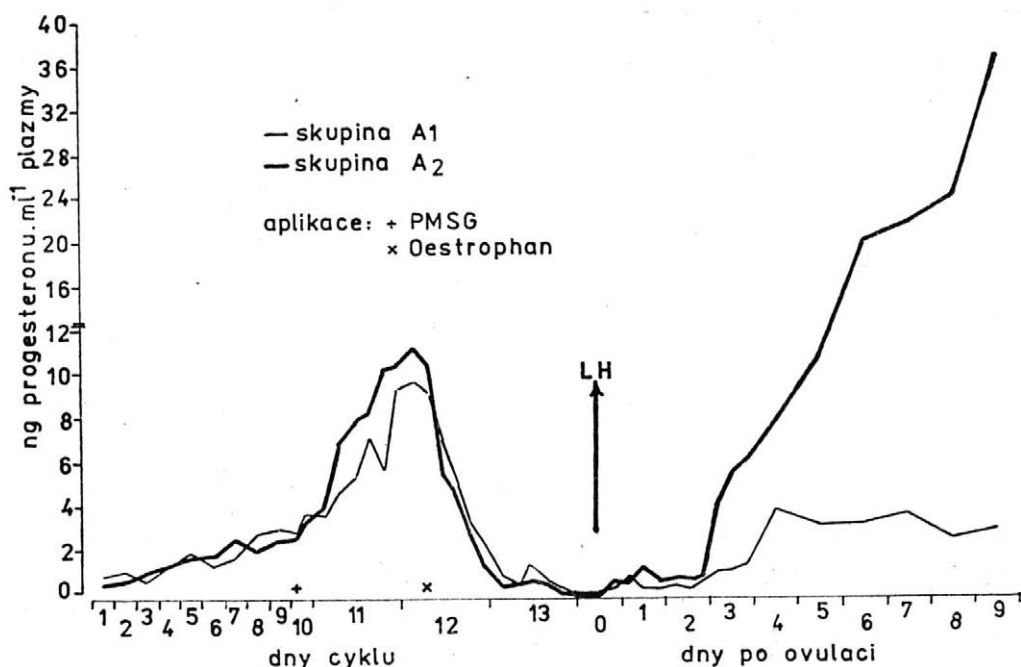
Variační statistické porovnání koncentrace progesteronu podle skupin bylo sledováno v obdobích: od říje do aplikace PMSG a hypofyzárních gonadotropinů, během 48 hodin po aplikaci preparátů, v průběhu luteolytického účinku Oestrophanu Spofa a od ovulace do devátého dne po inseminaci.

VÝSLEDKY

Koncentrace progesteronu v krevní plazmě u jalovic dosáhla v průběhu devíti dnů pohlavního cyklu maximálně $1,9$ až $3,0 \text{ ng} \cdot \text{ml}^{-1}$ (obr. 1). Za 12 hodin po aplikaci 2000 m. j. PMSG se koncentrace progesteronu zvýšila na $3,56 \pm 0,345 \text{ ng} \cdot \text{ml}^{-1}$ a za 24 hodiny na $4,58 \pm 0,380 \text{ ng} \cdot \text{ml}^{-1}$.

Vysoce průkazné ($P < 0,01$) zvýšení jsme pozorovali do 36 hodin od aplikace, kdy průměrná koncentrace progesteronu byla $8,20 \pm 1,098 \text{ ng} \cdot \text{ml}^{-1}$. Za 48 hodin po aplikaci byla zjištěna nejvyšší průměrná koncentrace progesteronu $11,02 \pm 0,375 \text{ ng} \cdot \text{ml}^{-1}$. Nebyl potvrzen průkazný rozdíl v koncentraci progesteronu mezi zvířaty s různou odpovědí na stimulaci ovarií PMSG. Obdobně se podle sledovaných skupin nelišil luteolytický účinek Oestrophanu. Vysoce průkazné ($P < 0,01$) rozdíly v koncentraci progesteronu jsme potvrdili u jalovic až v období po stimulaci ovarií.

Koncentrace progesteronu v mléce krav v prvních devíti dnech pohlavního cyklu byla nejnižší u skupiny A, která neodpověděla na stimulaci ovarií PMSG. U ostatních tří skupin se průměrné hodnoty od sebe statisticky nelišily (obr. 2). Průměrná koncentrace progesteronu v mléce krav před ošetřením PMSG činila $29,89 \pm 3,824 \text{ ng} \cdot \text{ml}^{-1}$ a během 24 hodin se zvýšila na $36,2 \pm 2,47 \text{ ng} \cdot \text{ml}^{-1}$. Před aplikací Oestrophanu Spofa dosáhla průměrná koncentrace progesteronu $48,6 \pm 3,42 \text{ ng} \cdot \text{ml}^{-1}$.



1. Koncentrace progesteronu v krvi jalovic po aplikaci 2000 j. PMSG — Progesterone concentration in the blood of heifers after the administration of 2000 units of PMSG

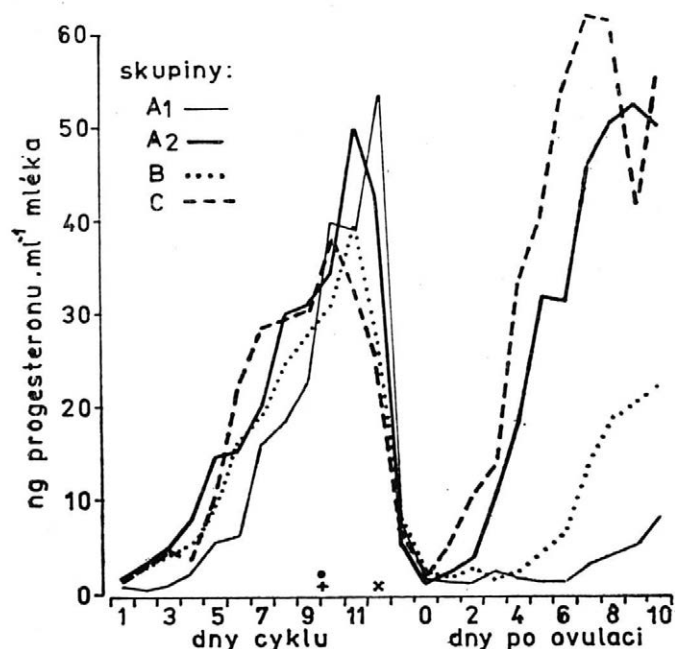
Skupina A1 a A2 2000 jedn. PMSG; + aplikace PMSG, X aplikace Oestrophanu inj. Spofa

Ukazatel	Směrodatná reziduální odchylka	Skupiny			
		stupeň volnosti	průměrný čtverec	F	F = 0,05
Jalovice	4,978	1	291,03 ⁺⁺	11,75	7,80
Krávy	16,618	3	5561,55 ⁺⁺	20,14	4,27

U kontrolní skupiny se za toto období průměrná koncentrace progesteronu zvýšila z $27,8 \pm 3,45 \text{ ng} \cdot \text{ml}^{-1}$ na $39,05 \pm 3,566 \text{ ng} \cdot \text{ml}^{-1}$. Skupina ošetřená gonadotropními hormony (LH a FSH) měla v den aplikace průměrnou koncentraci progesteronu $29,4 \pm 2,34 \text{ ng} \cdot \text{ml}^{-1}$ a v průběhu 48 hodin dosáhla maximální koncentrace $38,05 \pm 4,75 \text{ ng} \cdot \text{ml}^{-1}$. Větší pokles progesteronu v prvních 24 hodinách po aplikaci Oestrophanu u krav ošetřených PMSG ukazuje na rychlejší lýzu luteální tkáně.

Koncentrace progesteronu v mléce krav kontrolní skupiny sedmý den po inseminaci byla $13,5 \pm 4,215 \text{ ng} \cdot \text{ml}^{-1}$ a průkazně ($P < 0,01$) nižší koncentraci ($4,03 \pm 1,16 \text{ ng} \cdot \text{ml}^{-1}$) jsme zjistili u krav, které neodpověděly stimulací ovarií PMSG. Průkazně vyšší ($P < 0,01$) koncentrace progesteronu byla zjištěna u skupiny A₂ ($45,8 \pm 5,532$) a u skupiny ošetřené gonadotropiny ($62,1 \pm 18,1 \text{ ng} \cdot \text{ml}^{-1}$). Analýza variance (tab. I) potvrdila průkazné rozdíly v koncentraci progesteronu mezi skupinami, obdobími a v pokusu s dojnicemi i průkazné rozdíly v interakci.

Skupina zvířat (tab. II), která neodpověděla stimulací ovarií na



2. Koncentrace progesteronu v mléce u dojnic po aplikaci PMSG, FSH-P a LH-P — Progesterone concentration in the milk of dairy cows after the administration of PMSG, FSH-P and LH-P

Skupina A₁ a A₂ 2000 až 3000 jedn. PMSG, skupina B — kontrolní, skupina C — ošetřena 25 mg FSH-P a 25 mg LH-P; + aplikace PMSG, ● aplikace FSH-P a LH-P, X aplikace Oestrophanu in; Spofa

Období				Interakce			
stupeň volnosti	průměrný čtverec	F	F = 0,05	stupeň volnosti	průměrný čtverec	F	F = 0,05
3	434,14 ⁺⁺	17,52	4,50	3	111,24	4,49	4,50
3	9648,06 ⁺⁺	34,90	4,27	9	1793,81 ⁺⁺	6,50	2,62

aplikaci PMSG (skupina A), měla na vaječnicích pouze po jednom žlutém tělísku. Nízká koncentrace progesteronu byla vyvolána folikulárními cystami. Folikulární cysty obsahovaly od 1,0 do 15,0 ml folikulární tekutiny. Koncentrace 17-beta estradiolu byla ve folikulární tekutině velkých cyst dvakrát až třikrát vyšší než u malých cyst. I když kontrolní zvířata měla na vaječniku funkční žlutá tělíska (kontrola laparotomií), devátý den po ovulaci jsme zjistili pouze jedno embryo. U dvou zvířat kontrolní skupiny jsme zjistili folikulární cysty (dojnice č. 5270 pět cyst na pravém ovariu a dvě na levém ovariu, dojnice č. 8091 jedna cysta na levém ovariu) o velikosti 3 až 5 mm s obsahem folikulární tekutiny 0,2 až 0,3 ml. Koncentrace progesteronu v mléce pokusných dojníc se nelišila od koncentrace u ostatních kontrolních zvířat. Aplikace hypofyzárních gonadotropinů (skupina C) odpověděla v průměru 3,5 žlutých tělísek s počtem 2,5 embryí na pokusnou krávu. Nejvyšší průměrný počet (7 embryí) jsme zjistili u skupiny po aplikaci PMSG.

Z výsledků vyplynulo, že luteotropní účinek séra březích klisen pravděpodobně nesouvisel s citlivostí ovarií na sérový gonadotropin.

II. Rozdíly v koncentraci progesteronu mezi sledovanými skupinami — The differences in progesterone concentration between the studied groups

Skupina	Ukazatel	n	Počet žlutých tělísek			Počet embryí	Počet folikulárních cyst		
			levé ovarium	pravé ovarium	celkem		levé ovarium	pravé ovarium	celkem
A ₁	jalovice	1		1,0	1,0	—	2,0	1,0	3,0
	dojnice	2		2,0	2,0	—	5,0	3,0	8,0
	průměr			1,0	1,0	—	2,3	1,3	3,7
A ₂	jalovice	3	18	20,0	38,0	28,0	6,0	7,0	13,0
	dojnice	4	12	16,0	28,0	21,0	5,0	2,0	7,0
	průměr		4,3	5,1	9,4	7,0	1,6	1,3	2,9
B	dojnice	4	1	3,0	4,0	1,0	3,0	5,0	8,0
	průměr		0,25	0,75	1,0	0,25	0,75	1,25	2,0
C	dojnice	2	2	5,0	7,0	5,0	3,0	—	3,0
	průměr		1	2,5	3,5	2,5	1,5	—	1,5

Odpovědnost PMSG za ovulaci a nebo luteinizaci akcesorních folikulů po 37. dnu gravidity u klisen uvedli Dawson (1977) a Squires aj. (1979). Tento luteotropní účinek se objasňuje aktivitou FSH a LH (Gospodarowicz, 1972; Squires aj., 1979; Moor aj., 1980). Irvine a Evans (1976) připisují PMSG u březích klisen stejný význam jako hypofyzárním hormonům u cyklujících zvířat. Kombinace hypofyzárních hormonů v našem pokusu nepotvrdila jejich luteotropní účinek v porovnání s PMSG. Musíme však vzít v úvahu, že použité gonadotropiny byly izolovány z prasečích hypofýz. Jestliže však byla prokázána jejich biologická aktivita, pak by měl luteotropní účinek stejné podmínky ke svému projevu. Výsledky potvrzují nálezy luteotropního účinku PMSG na luteální tkáň koní *in vitro*, o nichž psali Squires aj. (1979), i náš pokus s luteální tkání *in vitro* sedmý den po stimulaci ovarií. Aplikace PMSG při stimulaci ovarií skotu zvyšuje sekreci progesteronu v krvi, jak pozorovali Henricks aj. (1973), Píchová aj. (1981); potvrzují to i naše nálezy. Zvýšenou sekreci luteální tkáně jsme pozorovali i u zvířat, která neodpověděla na stimulaci ovarií, a proto se nabízí úvaha, zda tento mechanismus souvisí s gonadotropiny.

Po aplikaci PMSG pozorovali Moore a Ward (1980) prodloužení sekreční aktivity luteální tkáně, Northey a French (1980) dosáhli obdobného účinku intrauterinní infúzí homogenátů embryí skotu, Gimenes a Henricks (1983) po aplikaci prostaglandinu E₂.

Regrese primárního žlutého tělíska klisny kolem 40. dne březosti vykazuje histologický obraz, jenž odpovídá účinku prostaglandinu (Mitchell a Allen, 1975). Autoři nehledají příčinu v účinku PMSG, neboť jeho koncentrace jsou v tomto období velmi nízké. Po stimulaci ovarií sérovým gonadotropinem se po aplikaci prostaglandinu zkracuje doba nástupu LH vrcholu v porovnání se zvířaty neošetřenými (Píchová aj., 1981; Holý, 1983). V pokusech s luteální tkání *in vitro* jsme zjistili, že přidávek PMSG do média během 150 minut průkazně zvyšuje koncentraci progesteronu. V dalších 20 hodinách byla koncentrace progesteronu v porovnání s kontrolními tkáněmi pouze 67%. Obdobné výsledky u luteální tkáně klisen pozorovali Squires aj. (1979). Objasnění účinku séra březích klisen na ovariální a gonadotropní regulaci jednotlivých druhů zvířat bude možné využít v biotechnických postupech.

Literatura

- ALLEN, W. R.: A quantitative immunological assay for pregnant mare serum gonadotrophin. *J. Endocrinol.*, 43, 1969, s. 581-591.
 BANGHAM, D. R. — WOODWARD, P. M.: The second international standard for serum gonadotrophin. *Bull. WHO*, 35, 1966, s. 761-773.
 BERGFELD, J. — GUIARD, V. — UHLIG, H.: Erarbeitung einheitlicher Methoden zur Standardisierung von PMSG-Präparaten in der RGW-Ländern. Arbeitsmaterial zum Internationalen Trainingskursus zur Anwendung des „PMSG-Substandard-Dessau“. DUMMERSTORF-Rostock, 1980.
 COMBARNOUS, Y. — SALESSE, R. — GARNIER, J.: Physico-chemical properties of pregnant mare serum gonadotrophin. *Biochim. biophys. Acta*, 667, 1981, s. 267-274.

- DAMME, M. P. van — ROBERTSON, D. M. — MARANA, R. — RITZÉN, E. H. — DICZFALUSY, E.: A sensitive and specific *in vitro* bioassay for the measurement of follicle — stimulating hormone activity. *Acta endocrin.*, 91, 1979, s. 224-237.
- DAWSON, F. L. M.: Recent advances in equine reproduction. *Equine veter. J.*, 9, 1977, s. 4.
- DUFAU, M. L. — MENDELSON, C. R. — CATT, K. J.: A highly sensitive *in vitro* bioassay for LH and chorionic gonadotrophin. Testosterone production by dispersed Leydig cells. *J. clin. Endocrin. Metab.*, 39, 1974, s. 610.
- GIMENEZ, T. — HENRICKS, D. M.: Prolongation of the luteal phase by prostaglandin E₂ during the estrous cycle in the cow. A preliminary report. *Theriogenology*, 19, 1983, s. 693.
- GOSPODAROWICZ, B.: Purification and physiochemical properties of the pregnant mare serum gonadotrophin (PMSG). *Endocrinology*, 91, 1972, s. 101.
- HENRICKS, D. M. — HILL, J. R. — DICKEY, J. F. — LAMOND, D. R.: Plasma hormone levels in beef cows with induced multiple ovulations. *J. Reprod. Fertil.*, 35, 1973, s. 225-233.
- HOLÝ, D.: Současné směry a praktické využití přenosu raných embryí u skotu. In: Sbor. Konference o reprodukci hospodářských zvířat, Brno, 29.—30. 6. 1983, 10/1.
- CHRISTAKOS, S. — BAHL, O. P.: Pregnant mare serum gonadotrophin characterization. *J. biol. Chem.*, 254, 1979, s. 4253.
- IRVINE, C. H. G. — EVANS, M. J.: The role of follicle stimulating hormone in early pregnancy in the mare. VIIIth Intern. Congr. Animal Reprod. and A. I., Krakow, 1976. *Proc.*, Vol. III, 1976, s. 372-374.
- MAMODE, M. I. — HANÁKOVÁ, L. — VĚŽNÍK, Z. — HRUŠKA, K.: Stanovení gonadotropní aktivity biopreparátů podle syntézy testosteronu myšími varlaty *in vitro*. *Veter. Med. (Praha)*, 27, 1982, s. 371-377.
- MAMODE, M. I. — HANÁKOVÁ, L. — VĚŽNÍK, Z. — HRUŠKA, K.: Stanovení aktivity luteinizačního hormonu v preparátech PMSG podle syntézy testosteronu *in vitro*. *Veter. Med. (Praha)*, 28, 1983, s. 185-188.
- MENZER, C. — SCHAMS, D.: Radioimmunoassay for PMSG and its application to *in vivo* studies. *J. Reprod. Fertil.*, 55, 1979, s. 339-345.
- MITCHELL, D. — ALLEN, W. R.: Observation on reproduction performance in the yearling mare. *J. Reprod. Fertil.*, 23, 1975, s. 531-536.
- MOOR, R. M. — CAHILL, L. P. — STEWART, F.: Ovarian stimulation of egg production as a limiting factor of egg transfer. IXth Internat. Animal Reprod. and A. I., Madrid, 1980, s. 43.
- MOORE, W. T. — WARD, D. N.: Pregnant mare serum gonadotrophin. An *in vitro* biological characterization of the lutropin — follitropin dual activity. *J. biol. Chem.*, 255, 1980, s. 6930.
- MUKOYAMA, H.: Immunological studies on PMSG. *Mem. Tokyo Univ. Agric.*, 19, 1977, s. 61.
- NETT, T. M. — HOLTAN, D. W. — ESTERGREEN, V. L.: Oestrogen, LH, PMSG and prolactin in serum of pregnant mares. *J. Reprod. Fertil.*, 23, 1975, s. 457-462.
- NORTHEY, D. L. — FRENCH, L. R.: Effect of embryo removal and intrauterine infusion of embryonic homogenates on the lifespan of the bovine corpus luteum. *J. anim. Sci.*, 50, 1980, s. 298.
- PÍCHA, J. — PÍCHOVÁ, D. — VEREŠ, K. — PILZ, Z. — MÍKA, J. — PETELÍKOVÁ, J. — BASÍK, J.: Spolehlivost progesteronového testu a jeho využití v reprodukci dojnic. [Předrealizační výstup.] Praha-Uhřetěves, Výzk. ústav živočišné výroby 1980. 45 s.
- PÍCHA, J. — VEREŠ, K. — PETELÍKOVÁ, J. — PÍCHOVÁ, D.: Kolísání koncentrace progesteronu v mléce mezi 17. až 25. dnem po inseminaci. *Živoč. Vyr.*, 29, 1984, č. 8, s. 689-699.
- PÍCHOVÁ, D. — PÍCHA, J. — BARCIKOWSKI, B. — PILZ, Z. — ŠKARDA, J. — FULKA, J.: Studium hormonálních pochodů souvisejících s pohlavním cyklem jalovic a krav českého strakatého plemene. [Závěrečná zpráva.] Praha-Uhřetěves, Výzk. ústav živočišné výroby 1977. 130 s.
- PÍCHOVÁ, D. — PÍCHA, J. — ŠEVČÍK, B.: Endokrinní profil po aplikaci prostaglandinu a jeho analogů. *Biol. Chem. Veter.*, 17, 1981, s. 157-169.
- SQUIRES, E. L. — STEVENS, W. B. — PICKETT, B. W. — NETT, T. M.: Role of pregnant mare serum gonadotrophin in luteal function of pregnant mare. *Amer. J. veter. Res.*, 40, 1979, s. 889-891.
- TIEMANN, U.: Das Gonadotrophin im Serum trächtigen Stuten (Übersichtsreferat). *Mh. Veter.-Med.*, 38, 1983, s. 170-178.

Došlo dne 18. 8. 1983

ПИХА, Й. — БАРЦИКОВСКИ, Б. — ПИХОВА, Д. — МИКА, Й. — ОЛША, Т. (Научно-исследовательский институт биофакторов и ветеринарных лекарств, Погоржи-Хотоуњ; Институт физиологии и питания животных ПАН, Яблонна близ Варшавы, ПНР; Научно-исследовательский институт животноводства, Прага - Угржинец): Действие сыворотки жеребых кобыл на лутеальные ткани крупного рогатого скота. Veter. Med. (Praha), 29, 1984 (8) : 465-472.

В опытах с четырьмя нетелями и 12 коровами изучали лутеотропное действие сыворотки жеребых кобыл в дозах 2000—3000 единиц. Действие сывороточного гонадотропина (PMSG) на овариальную активность сравнивали с овариальной активностью у контрольных животных и с овариальной активностью после аппликации гормонов гипофиза. Наибольшая концентрация прогестерона после аппликации PMSG у коров колебалась в пределах 41,9—74,3 нг/мл в молоке; у контрольной группы значения были в диапазоне 32,2—43,1 нг/мл, а у группы после аппликации гонадотропинов 31,7—44,8 нг/мл. У нетелей после применения PMSG уровни прогестерона за сутки выросли с 3,56 до 4,58 нг/мл плазмы. Спустя 48 часов после применения PMSG средняя концентрация прогестерона возросла до 11,02 нг/мл плазмы. Животные, у которых применение не вызвало рост фолликулов, реагировали повышенной секрецией прогестерона. Аппликация гормонов гипофиза в лутеальной фазе цикла достоверно не повлияла на концентрацию прогестерона, а стимулировала рост фолликулов.

нетель; корова; PMSG; FSH; LH; прогестерон

PÍCHA, J. — BARCIKOWSKI, B. — PÍCHOVÁ, D. — MÍKA, J. — OLŠA, T. (Research Institute of Feed Supplements and Veterinary Products, Pohoří-Chotouň; Institute of Animal Physiology and Nutrition, Polish Academy of Sciences, Jablonna u Varšavy, PLR; Research Institute of Animal Production, Praha-Uhřetěves): The Effectiveness of Pregnant Mare Serum on Bovine Luteal Tissue. Veter. Med. (Praha), 29, 1984 (8) : 465-472.

Trials were conducted with four heifers and twelve dairy cows to study the luteotropic effect of the serum of pregnant mares administered at the rates of 2000 to 3000 units. The effect of serum gonadotropin (PMSG) on ovarian activity was compared with the ovarian activity of control animals and ovarian activity after the administration of hypophyseal hormones. The highest progesterone concentration of PMSG-treated cows ranged from 41.9 to 74.3 ng per ml of milk; in the control group this range was between 32.2 and 43.1 ng per ml and in the group of gonadotropin-treated cows between 31.7 and 44.8 ng per ml. In heifers the progesterone levels increased from 3.56 to 4.58 ng per ml of plasma within 24 hours from the administration of PMSG. After 48 hours from administration the average progesterone concentration increased to 11.02 ng per ml of plasma. The animals which did not respond to PMSG administration by the growth of follicles exhibited an increased secretion of progesterone. The administration of hypophyseal hormones in the luteal stage of sexual cycle did not exert any significant influence on progesterone concentration, but stimulated the growth of follicles.

heifers; dairy cows; PMSG; FSH; LH; progesterone

Adresa autorů:

Ing. Josef Pícha, CSc., MVDr. Drahomíra Píchová, CSc., Výzkumný ústav pro biofaktory a veterinární léčiva, 254 49 Pohoří-Chotouň

Doc. dr. ing. Bernard Barcikowski, Ústav fyziologie a výživy zvířat PAN, Jablonna u Varšavy, PLR

Ing. Josef Míka, ing. Tomáš Olša, Výzkumný ústav živočišné výroby, 251 61 Praha-Uhřetěves

ADHERENCIA BAKTÉRIÍ NA EPITELIÁLNE BUNKY BACHOROVEJ STENY

V. Kmeť, K. Boďa, I. Kravjanský

KMEŤ, V. — BOĎA, K. — KRAVJANSKÝ, I. (Ústav fyziológie hospodárskych zvierat SAV, Košice): *Adherencia baktérií na epiteliálne bunky bachorovej steny*. Veter. Med. (Praha), 29, 1984 (8) : 473-477.

Vyvinuli sme metodiku kvalitatívneho a kvantitatívneho testovania adherencie baktérií na epiteliálne bunky izolované z bachorovej steny oviec a kráv. Podľa tejto metódy bolo možné zaradiť testované kmene mikroorganizmov *Bifidobacterium*, *Lactobacillus*, *Streptococcus*, *Bacteroides*, *Staphylococcus* a *Escherichia* medzi silne adherentné, stredne adherentné a slabو adherentné. Diskutuje sa o možnostiach využitia metodiky pre štúdium ovplyvňovania adherencie epimurálnych bachorových baktérií.

bachorové baktérie; ovce; kravy; kvalitatívne a kvantitatívne testovanie; stupeň adherencie

Bakteriálna populácia adherovaná na epitel bachorovej steny predstavuje vo výmenných procesoch dusíkatých látok významnú fyziologickú zložku. Na základe týchto procesov sa uskutočňujú symbiotické vzťahy makroorganizmu prežívavca s bachorovou mikroflórou a mikrofaunou [Kmeť a i., 1983a]. Baktérie adherované na epitel bachorovej steny sú zdrojom ureázovej aktivity v bachore a sú významné aj svojou proteolytickou a dezaminačnou aktivitou [Cheng a Costerton, 1980; Cheng a Wallace, 1979; Dinsdale a i., 1980]. Jednou z najvýznamnejších vlastností epimurálnych baktérií je schopnosť adherovať sa. U baktérií črevného traktu boli popísané početné metódy testovania adherencie za použitia izolovaných epiteliálnych buniek, napr. pre enteropatogénne *E. coli* [Morris a i., 1982], pre streptokoky a laktobacily [Fuller, 1981; Suegара a i., 1981], resp. za použitia epiteliálnej bunkovej línie [Kleeman a Klaenhammer, 1982]. Na základe týchto metód sme vypracovali metódu testovania adherencie baktérií na epiteliálne bunky bachorovej steny s možnosťou použitia pre štúdium ovplyvňovania adherencie epimurálnych bachorových baktérií.

MATERIÁL A METÓDA

IZOLÁCIA KMEŇOV

79 testovaných kmeňov sme izolovali z gastrointestinálneho traktu jahniat, oviec a teliat rôzneho veku. Testované kmene (tab. I) sme izolovali na týchto druhoch živných pôd: Rogosa agar pre laktobacily, YN-6 médium podľa Resnicka

Druh	Kmeň číslo	Pôvod
<i>Lactobacillus acidophilus</i>	1–20	bachorová stena jahňata
<i>Bifidobacterium</i> sp.	25, 26, 27, 28, 29	bachorová stena jahňata
<i>Streptococcus faecium</i>	15, 16, 17	bachorová stena jahňata
<i>Staphylococcus aureus</i>	3–13	bachorová stena jahňata
<i>E. coli</i>	11–20	bachor ovce
<i>Lactobacillus acidophilus</i>	31–40	bachor teľaťa
<i>Lactobacillus acidophilus</i>	21–26	faeces z ovce
<i>E. coli</i>	1–10	faeces z ovce
<i>Bacteroides fragilis</i>	1–5	faeces z ovce

a Levina (1981) pre bifidobaktérie, krvný agar s azidom sódnym pre fekálne streptokoky, Mac Conkey agar pre enterobaktérie, VL agar (Imuna) pre *Bacteroides*, MSA agar (OXOID) pre stafylokoky.

IZOLÁCIA EPITELIÁLNYCH BUNIEK

Epiteliálne bunky pochádzali z bachorovej steny zdravých kráv, resp. oviec. Bachorová stena bola po mnohonásobnom premytí v pufrovanom fyziologickom roztoku s pH 6,9 opracovaná v ultrazvukovej čističke laboratórneho skla (Tesla Eltos). Takto získaná suspenzia epiteliálnych buniek bola centrifugovaná pri 100×G štyri minúty. Sediment bol päťkrát premytý v pufrovanom fyziologickom roztoku a epiteliálne bunky boli upravené na požadovanú hustotu.

TESTOVANIE ADHERENCIE

Suspenzia epiteliálnych buniek bola zmiešaná v rovnakom pomere s testovanými baktériami. Konečná koncentrácia epiteliálnych buniek činila približne 10^5 /ml a baktérii vo finálnej koncentrácii približne 10^8 /ml. Kmene izolované od jahniat, resp. oviec, boli adherované na jahňacie epiteliálne bachorové bunky a kmene izolované od teliat na kravské bachorové bunky. Zmes bola inkubovaná desať minút pri teplote 38 °C. Počet baktérii adherujúcich sa na jednotlivé epiteliálne bunky bachorovej steny (adherenčný index) bol určený svetelnou mikroskopiou (po ofarbení karbolfuchsinom zriedeným v pomere 1:20). V každom experimente bolo počítaných desať dobre definovaných epiteliálnych buniek. Každý experiment bol trikrát opakovaný.

VÝSLEDKY

Testovali sme adhérenciu 36 kmeňov *Lactobacillus acidophilus*, päť kmeňov *Bifidobacterium* sp., tri kmene *Streptococcus faecium*, 20 kmeňov *E. coli*, päť kmeňov *Bacteroides fragilis* a desať kmeňov *Staphylococcus aureus*. Všetky testované kmene vykazovali rôzny stupeň adhérencie na epiteliálne bunky bachorovej steny. Podľa počtu baktérii adherovaných na jednu epiteliálnu bunku možno testované kmene rozdeliť do troch stupňov (tab. II), a to ako silne adherentné (viac ako 100

II. Adherencia 79 testovaných kmeňov na epiteliálne bunky bachorovej steny —
The adherence of 79 tested strains to epithelial cells of rumen wall

Stupeň adherencie	Druh	Kmeň číslo	Adherenčný index
Silne adherentné	<i>Lactobacillus acidophilus</i>	5	112,5
	<i>Lactobacillus acidophilus</i>	6	158,3
	<i>Lactobacillus acidophilus</i>	31	115,4
	<i>Lactobacillus acidophilus</i>	32	128,1
	<i>Bifidobacterium</i> sp.	29	135,2
	<i>Staphylococcus aureus</i>	3—13	109,5—155,2
Stredne adherentné	<i>Lactobacillus acidophilus</i>	1—4	12,8—85,3
	<i>Lactobacillus acidophilus</i>	7—18	35,2—67,4
	<i>Lactobacillus acidophilus</i>	33—40	21,1—93,2
	<i>Bifidobacterium</i> sp.	25—28	32,2—37,4
	<i>Streptococcus faecium</i>	16	14,5
	<i>Streptococcus faecium</i>	17	33,9
	<i>E. coli</i>	11—20	12,3—18,5
Slabo adherentné	<i>Lactobacillus acidophilus</i>	19—20	6,7—9,2
	<i>Lactobacillus acidophilus</i>	21—26	3,8—8,4
	<i>Streptococcus faecium</i>	15	2,6
	<i>Bacteroides fragilis</i>	1—5	2,9—5,1
	<i>E. coli</i>	1—10	2,6—8,5

baktérií na jednu bunku), stredne adherentné (od 10 do 100 baktérií na jednu bunku) a slabo adherentné (ojedinelé baktérie na jednu bunku). Medzi silne adherentné kmene s najvyšším adherenčným indexom patrili *Lactobacillus acidophilus* izolovaný z bachorovej steny jahňafa, jeden kmeň *Bifidobacterium* sp. a všetkých desať kmeňov *Staphylococcus aureus*, izolovaných tiež z bachorovej steny jahniat. Do skupiny stredne adherentných kmeňov patrili oproti prvej skupine dvojnásobný počet testovaných kmeňov. Adherenčný index u týchto kmeňov kolísal od hodnoty 12,3 až po hodnotu 93,2.

Oproti predchádzajúcim dvom skupinám kmeňov sa slabo adherujúce kmene podieľali na celom súbore kmeňov asi jednou tretinou. V tomto súbore kmeňov však boli všetky kmene izolované z faeces, t. j. *E. coli* č. 1—10, *Lactobacillus acidophilus* č. 21—26 a *Bacteroides fragilis* č. 1—5.

DISKUSIA

Celkový počet baktérií adherovaných na 1 cm² bachorovej steny sa u dospelých prežúvavcov pohybuje od 10⁵ do 10⁸ zárodkov. Hodnotenie jednotlivých stupňov adherencie baktérií je vo vzťahu k tomuto počtu, t. j. adherenčný index silne adherentných baktérií predstavuje bakté-

rie s počtom okolo 10^6 až 10^8 zárodkov na cm^2 bachorovej steny, zatiaľ čo adherentný index slabo adherentných baktérií inklinuje k dolnej hranici celkového počtu. Väčšina doteraz publikovaných výsledkov o vlastnostiach adherentných epimurálnych baktérií pochádzala z pokusov robených na dospelých prežúvavcoch. Podľa našich predchádzajúcich výsledkov (Kmeť a i., 1983b) u jahniat s funkčne latentným bachorom dosahujú počty adherovaných baktérií iba spodnú hranicu dospelého prežúvavca a ich druhové zloženie je tiež rozdielne.

Je známe, že epitel bachorovej steny je u mladých jahniat (resp. teliat), t. j. v období mliečnej výživy, slabo vyvinutý, a preto nie je možné z neho získať dostatočne veľký počet epiteliálnych buniek. Táto podmienka, t. j. získať dostatočne veľký počet epiteliálnych bachorových buniek, je dôležitá pre zachovanie možnosti porovnávať adhérenciu medzi jednotlivými kmeňmi. Preto aj v nami vyvinutej metodike testovania adhérencie epimurálnych bachorových baktérií sme použili epitel bachorovej steny starších zvierat, t. j. v období rastlinnej výživy. Adherované baktérie sme z epitelu bachorovej steny odstránili metódou elúcie (Javorský a i., 1981). Veková závislosť epitelu bachorovej steny od adhérencie baktérií v takom rozsahu, ako je známa pri epiteli črevnej steny (Runnels a i., 1980) u enteropatogénnych K 99 pozitívnych *E. coli* izolovaných od teliat, nebola pozorovaná.

Z dosiahnutých výsledkov vyplýva, že kmene toho istého druhu izolované z tej istej vzorky majú rozdielny stupeň adhérencie. Kmene izolované z faeces majú nižší stupeň adhérencie než kmene toho istého druhu, avšak izolované z bachora.

Ako sme už v úvode spomenuli, epimurálne bachorové baktérie plnia mnoho dôležitých fyziologických funkcií. Sledovať vývoj jednotlivých funkcií je možné pomocou umelej kolonizácie gnotobiotických jahniat jednotlivými fyziologickými skupinami bachorových mikroorganizmov. Úspešnosť tejto umelej kolonizácie je však závislá aj od stupňa adhérenčnej schopnosti inokulovaných mikroorganizmov. Dobre adherujúce kmene sa prichytia na stene tráviaceho traktu, a tak prekonávajú jeho mobilitu. Baktérie adherované na epiteli bachorovej steny majú vplyv na zloženie mikroflóry bachorového obsahu prostredníctvom kontinuálneho odlupovania sa epitelu bachorovej steny. Pretože tieto epimurálne bachorové baktérie majú aj významné metabolické aktivity, možno ich pokladať aj za regulujúci faktor ostatnej bachorovej mikroflóry. Aj v tomto prípade hrá rozhodujúcu úlohu práve adhérenca a procesy s ňou spojené. Nazdávame sa, že nami vyvinutá metodika testovania adhérencie bachorových baktérií na epiteliálne bunky bachorovej steny umožní štúdium faktorov ovplyvňujúcich adhérenciu bachorových baktérií.

Literatúra

- CHENG, K. J. — COSTERTON, J. W.: Adherent rumen bacteria — their role in the digestion of plant material, urea and epithelial cells. Y. Ruckebush, P. Thivend (ed.): Digestive physiology and metabolism ruminants. MTP, Int. med. publ., 1980, s. 227-250.
- CHENG, R. J. — WALLACE, R. J.: The mechanisms of passage of endogenous urea through the rumen wall and role of ureolytic epithelial bacteria in the urea flux. Brit. J. Nutr., 42, 1979, s. 553-557.
- DINSDALE, D. — CHENG, R. J. — WALLACE, R. J. — GOODLAD, R. J.: Digestion of epithelial tissue of the rumen wall by adherent bacteria in infused and conventionally fed sheep. Appl. Envir. Microbiol., 29, 1980, s. 1059-1066.

FULLER, R.: Epithelial attachment as a factor controlling bacteria colonization of the gastrointestinal tract. Recent advances in germfree research. Tokai Univ. Press, 1981, s. 143-147.

JAVORSKÝ, P. — KMEŤ, V. — HAVASSY, I. — KOČIŠOVÁ, J. — RYBOŠOVÁ, E.: Elution of adherent epithelial bacteria from ovine rumen wall. *Biológia* (Bratislava), 38, 1981, s. 221-226.

KMEŤ, V. — BOĎA, K. — ZELENÁK, I. — VÁRADY, J.: Adherentné bacherové baktérie a ich význam pre bacherové trávenie. *Veterinárství*, 11, 1983a, s. 488-490. KMEŤ, V. — BOĎA, K. — KRAVJANSKÝ, I.: Vývoj adherentnej mikroflóry asociovanej s epitelom bacherovej steny. In: Zbor. 16. kongresu Čs. spoločnosti mikrobiologickej, Banská Bystrica 1983b, s. L 41.

KLEEMAN, E. G. — KLAENHAMER, T. R.: Adherence of *Lactobacillus species* to human fetal intestinal cells. *Dairy Sci.*, 65, 1982, s. 2063-2069.

MORRIS, J. A. — THORNS, C. J. — SCOTT, A. C. — SOJKA, W. J.: Adhesive properties associated with the Vir plasmid: a transmissible pathogenic characteristic associated with strain of invasive *E. coli*. *J. gen. Microbiol.*, 128, 1982, s. 2097-2103.

RESNICK, I. G. — LEVIN, M. A.: Quantitative procedure for enumeration of *Bifidobacteria*. *Appl. Envir. Microbiol.*, 42, 1982, s. 432.

RUNNELS, P. L. — MOON, H. W. — SCHNEIDER, R. A.: Development of resistance with host age to adhesion of K 99 + *Escherichia coli* to isolated epithelial cells. *Infect. Immun.*, 28, 1980, s. 298-300.

SUEGARA, N. — WATANABE, T. — SHIMONASHI, H. — KAWAI, Y. — MUTAI, M.: Colonization of *Streptococci* in the gastrointestinal tract: Adhesion to epithelial cells as colonization factor. Recent advances in germfree research. Tokai Univ. Press, 1981, s. 165-171.

Došlo dňa 23. 1. 1984

KMETĚ, V. — BODĚ, K. — KRAVJANSKÝ, I. (Institut fysiologie sel'skoxozajstvennyh životnyh SAH, Košice): Adgerentnost' bakterij k epitelialnym kletkam steny rubca. *Veter. Med. (Praha)*, 29, 1984 (8) : 473-477.

Разработали методику качественного и количественного тестирования адгерентности бактерий к эпителиальным клеткам, изолированным из стенки рубца овец и коров. По этому методу можно было тестируемые штаммы микроорганизмов *Bifidobacterium*, *Lactobacillus*, *Streptococcus*, *Bacteroides*, *Staphylococcus* и *Escherichia* отнести к сильно, средне и слабо адгерентным. Обсуждаются возможности использования методик для изучения воздействия на адгерентность пристенных рубцовых бактерий.

рубцовые бактерии овцы; коровы; количественное и качественное тестирование; степень прирастания

KMEŤ, V. — BOĎA, K. — KRAVJANSKÝ, I. (Institute of Animal Physiology, Slovak Academy of Sciences, Košice): *The Adherence of Bacteria to the Epithelial Cells of Rumen Wall*. *Veter. Med. (Praha)*, 29, 1984 (8) : 473-477.

A method was developed for the quality and quantity testing of the adherence of bacteria to epithelial cells isolated from the rumen wall of sheep and cows. It was possible by this method to include the tested strains of *Bifidobacterium*, *Lactobacillus*, *Streptococcus*, *Bacteroides*, *Staphylococcus* and *Escherichia* microorganisms in groups of highly adherent, intermediate and slightly adherent microorganisms. The possibilities of using this method for the study of influencing the adherence of epimural rumen bacteria are studied.

rumen bacteria of sheep; cows; quality and quantity tests; degree of adherence

Adresa autorov:

MVDr. Vladimír Kmeť, CSc., akademik Koloman Boďa, MVDr. Ivan Kravjanský, Ústav fyziológie hospodárskych zvierat SAV, Palackého 12, 040 01 Košice

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.

BERGLER, K.-G. — SCHÄFER, J.-W. — BOCH, J. C 27.239/103
Untersuchungen zur Entwicklung von Schistosoma japonicum in der Zwischenwirtsschnecke Oncomelania hupensis hupensis. Res. něm., angl.
Berlin, Verlag Paul Parey 1982. S. 251-255, 4 obr., 1 tab. Sndr. aus Berl. Münch. Tierärztl. Wschr. 95. (Krevnička jaterní — cizopasník — vývoj — *Oncomelania hupensis hupensis* — výzkum — NSR)

WEILAND, G. — REITER, I. — BOCH, J. C 27.239/104
Möglichkeiten und Grenzen des serologischen Nachweises von Sarkosporidieninfektionen. Res. něm., angl.
Berlin, Verlag Paul Parey 1982. S. 387-392, 1 obr., 5 tab. Repr. from Berl. Münch. Tierärztl. Wschr. 95. (Svalovky — cizopasníci — hospodářská zvířata — diagnóza — metody sérologické — výzkum — NSR)

WEILAND, G. D 74.292/16
Möglichkeiten des serologischen Nachweises von Babesieninfektionen bei Hund und Rind.
München, Inst. f. vergleichende Tropenmedizin und Parasitologie d. Universität 1981. 6 s., obr., tab. (Piroplasmóza — skot a pes — diagnóza — metody sérologické — výzkum — NSR)

COTTON, C. G. — SCHUMACHER, L. C. — MALAN, W. K. C 4.194/394
Ticks, mites and insects infesting domestic animals in South Africa. Part 2. Control.
Pretoria, Department of Agriculture 1981. 31 s., 4 tab. Science bulletin No 394. (Cizopasníci — hubení — pesticidy — použití — hospodářská zvířata — Jihoafrická republika — výzkum)

LLOYD, J. E. — SPACKMAN, E. W. — KUMAR, R. C 28.184
Biology and control of insect and related pests of beef cattle.
Laramie (Wyoming), University of Wyoming 1981. 26 s., 36 obr., 1 tab. (Cizopasníci — hmyz — skot — hubení — insekticidy)

CHRISTENSEN, C. M. C 21.946/11
Insect control on beef cattle 1982.
Lexington (Kentucky), Cooperative extension service 1983. Nestr., tab. ENT-11. (Cizopasníci — skot — hubení — insekticidy)

VLIV APRAMYCINU NA BAKTERIÁLNÍ KONTAMINACI A PŘEŽIVATELNOST SEMENE KANCE BĚHEM KRÁTKODOBÉ KONZERVACE

J. Kozumplík, Z. Vlček

KOZUMPLÍK, J. — VLČEK, Z. (Vysoká škola veterinární, Brno): *Vliv apramycinu na bakteriální kontaminaci a přežitelnost semene kance během krátkodobé konzervace*. Veter. Med. (Praha), 29, 1984 (8) : 479-487.

Na 264 vzorcích ejakulátu sedmi kanců jsme zkoušeli bakteriostatický účinek apramycinu a jeho vliv na některé ukazatele kvality spermatu během 96hodinového uchovávání. K pokusům byl použit Apralan solubile powder fy Elanco Products Limited v koncentracích 2,5 až 500 mg na 1000 ml ředidla. Přípravek byl hodnocen podle motility spermií během uchovávání, dynamiky koncentrace vodíkových iontů, morfologických změn spermií, testu termorezistence, bakteriologických testací a dalších šetření. Koncentrace 200 až 250 mg apramycinu v kombinaci s 500 000 m. j. draselné soli G-penicilinu měla statisticky významně příznivější vliv na přežitelnost spermatu kance než kombinace streptomycinu s penicilinem.

ejakulát; kanec; mikroflóra; ředidlo; apramycin

Perspektivní cestou k maximálnímu využití umělé inseminace je dlouhodobá konzervace semene, umožňující používat sperma plemeníků až po posouzení vlastností přenášejících na potomstvo testací v rámci kontroly dědičnosti zdraví. V inseminaci prasat jsou však v praxi dosud ekonomičtější metody krátkodobé konzervace, které také lépe zhodnocují fertilizační potenciál spermií. Proto se stále zkoumají možnosti dalšího zdokonalení ředidel, aby se prodloužila doba přežívání semene konzervovaného v tekutém stavu, zlepšilo zabřezávání prasníc a zvýšil počet selat ve vrzích.

Ačkoliv je kladen velký důraz na získávání semene s co nejmenší bakteriální kontaminací, přesto je v praxi variabilita ve výskytu mikrobů v čerstvém ejakulátu kance poměrně velká. Nutnost přidávat do ředidel látky s antimikrobním účinkem je však zdůvodněna i skutečností, že ke krátkodobé konzervaci semene kance se používají teploty kolem 16 °C, které netlumí, ale spíše podporují množení mikrobů. K potlačování bakteriální kontaminace se nejčastěji používalo kombinace penicilinu a streptomycinu (Pursel a Johnson, 1971; Pliško, 1965; Sadovniková, 1966; Kozumplík a Vlček, 1971; Hernández a Duverger, 1978 a jiní). Byla však zkoušena i jiná antibiotika, včetně antibiotik se širokým spektrem účinnosti, doporučených v poslední době (Gamčík a Kozumplík, 1976; Hovorka, 1982 — osobní sdělení).

V dostupných literárních pramenech jsme se nesetkali s údaji o praktickém nebo experimentálním využití apramycinu k potlačení mikrobiální kontaminace ředěného kančího semene. Apramycin byl objeven ve výzkumných laboratořích firmy Elanco Products Limited v roce 1967 a je distribuován pod obchodním názvem Apralan. Je to antibiotikum určené výhradně pro veterinární potřebu, se spektrem účinnosti zahrnujícím především gramnegativní bakterie — druhy rodů *Escherichia*, *Salmonella*, *Shigella*, *Klebsiella*, *Proteus*, *Vibrio*, *Pasteurella*, *Pseudomonas*, *Bordetella*, ale i některé další mikroby, například *Mycoplasma hyopneumoniae*, *Staphylococcus aureus* a některé streptokoky. Výhodou používání tohoto antibiotika je, že je relativně nové a na rozdíl od streptomycinu se téměř nevyskytují rezistentní kmeny bakterií; jeho antimikrobiální účinek je i v nízkých koncentracích spíše baktericidní než bakteriostatický. Z těchto důvodů bylo potřebné prověřit účinek apramycinu a jeho kombinací s jinými antibiotiky na spermie a mikroflóru ředěného semene.

MATERIÁL A METODY

K pokusům byly použity ejakuláty sedmi kanců. Dosažené výsledky byly získány zpracováním a vyšetřením 264 vzorků ejakulátu. Bakteriostatický účinek apramycinu samotného a jeho kombinací s jinými antibiotiky jsme stanovili podle dy-

I. Přehled prověřovaných modifikací bakteriostatik — A survey of the tested modifications of bacteriostatics

1. Kontrola = ředidlo podle Sadovnikové (dále jen SAD)
2. SAD + 0,2 g LSS na 1000 ml
3. SAD bez STM + 2,5 mg Apralanu na 1000 ml
4. SAD bez STM + 5,0 mg Apralanu na 1000 ml
5. SAD bez STM + 10,0 mg Apralanu na 1000 ml + 20,0 mg LSS
6. SAD bez STM + 10,0 mg Apralanu na 1000 ml
7. SAD bez STM + 20,0 mg Apralanu na 1000 ml
8. SAD bez PNC i STM + 10,0 mg Apralanu na 1000 ml
9. SAD bez STM + 30,0 mg Apralanu na 1000 ml
10. SAD bez STM + 40,0 mg Apralanu na 1000 ml
11. SAD bez STM + 50,0 mg Apralanu na 1000 ml
12. SAD bez STM + 50,0 mg Apralanu na 1000 ml + 20,0 mg LSS
13. SAD bez STM + 100,0 mg Apralanu na 1000 ml
14. SAD bez STM + 200,0 mg Apralanu na 1000 ml
15. SAD bez STM a bez PNC + 500,0 mg Apralanu na 100 ml
16. SAD
17. SAD bez STM + 150,0 mg Apralanu na 1000 ml
18. SAD bez STM + 200,0 mg Apralanu na 1000 ml
19. SAD bez STM + 250,0 mg Apralanu na 1000 ml
20. SAD bez STM + 300,0 mg Apralanu na 1000 ml
21. SAD bez STM + 200,0 mg Apralanu na 1000 ml + 100 mg Tylanu
22. SAD bez STM + 200,0 mg Apralanu na 1000 ml + 200 mg Tylanu

namiky množství bakterií v homogenizovaném neředěném a ředěném semeni, uchovávaném po tři dny při teplotě 16 °C. Množství bakterií jsme stanovili klasickou zředovací metodou na masopeptonovém agaru obohaceném beranými erytrocyty po 48hodinové inkubaci v aerobním prostředí při teplotě 37 °C a relativní vlhkosti 70 až 80 %. K pokusům byl použit apramycin v přípravku Apralan solubile powder.

V první části pokusů jsme prověřovali šest kombinací s apramycinem v koncentraci 2,5 až 20,00 mg na 1000 ml ředidla (tab. I). V některých pokusech jsme také zjišťovali účinek laurylsulfátu sodného na pohyb spermií. Jako kontrola bylo použito ředidlo podle Sadovnikové (1966), v němž je bakteriostatický účinek zajišťován přídavkem 500 000 m. j. draselné soli G-penicilinu a 0,5 g streptomycinu na 1000 ml ředícího média.

Ve druhé části pokusů jsme sledovali vliv apramycinu v koncentracích 30,00 až 500,00 mg na 1000 ml ředidla (tab. I) na motilitu spermií během 96hodinové konzervace.

Ve třetí části pokusů jsme prověřovali dalších šest kombinací s apramycinem v koncentraci 150,00 až 300,00 mg na 1000 ml ředidla (tab. I). Semeno jsme ředili ředidly s různými kombinacemi a koncentracemi bakteriostatik v poměru 1 : 1. Ke stanovení přežitelnosti spermií jsme použili test termorezistence (stanovení dynamiky motility spermií ve vzorcích ředěného semene, uchovávaných během šesti hodin při teplotě 38 °C). Výsledky jsme vyhodnotili statisticky *t*-testem podle Studenta.

VÝSLEDKY A DISKUSE

Základní ukazatele kvality ejakulátů použitých k pokusům plně odpovídaly normě pro ejakuláty použitelné k inseminaci a byly vhodné k prováděným testacím. V tab. II jsou uvedeny výsledky hodnocení motility spermií od naředení do 96 hodin konzervace. Přídavek apramycinu ovlivňoval do 48 hodin motilitu spermií ve srovnání s kontrolami mírně pozitivně, zatímco po 96 hodinách uchovávání byla motilita ve všech vzorcích s apramycinem již výrazně nižší. V souladu s tímto zjištěním a se stabilitou roztoků apramycinu, udávanou výrobcí, bylo množství bakterií druhý a třetí den konzervace zpravidla větší než u kontrol (tab. III). Z těchto výsledků je zřejmé, že nízké dávky apramycinu (zkoušené v první části pokusů) bakteriální kontaminaci semene dostatečně nepotlačily. Potvrzují to také výsledky série pokusů č. 8, v níž byl k ředidlu přidán pouze apramycin — bez penicilinu tlumícího růst grampozitivních zárodků — a v níž byla prokázána celkově největší bakteriální kontaminace a největší počty zárodků po 72hodinové konzervaci. Koncentrace vodíkových iontů byla po 72 hodinách uchovávání ve většině pokusných řad vyšší než u kontrol. To rovněž svědčí pro změny, které by mohly vzniknout následkem hromadění produktů metabolismu bakterií v prostředí. Počet spermií s morfologickými změnami na akrozomu byl relativně malý (tab. IV) a nepoukazoval na ovlivnění výsledků pokusů nedostatkem ve složení ředidla.

Výsledky dosažené středními koncentracemi apramycinu, použitými ve druhé části pokusů, byly lepší než výsledky dosažené při použití nízkých koncentrací. Velmi dobrý výsledek poskytlo ředidlo č. 14, které však již obsahovalo v 1000 ml 200 mg apramycinu a 500 000 m. j. draselné soli G-penicilinu. Kontrolnímu ředidlu se zcela vyrovnalo i ředidlo č. 13, obsahující v 1000 ml 100 mg apramycinu a 500 000 m. j. draselné soli G-penicilinu, a ředidlo č. 15, obsahující v 1000 ml 500 mg samotného apramycinu. Ředidla s koncentracemi 30,00 až 50,00 mg apramycinu na 1000 ml se svým účinkem nevyrovnala kontrolnímu ředidlu. V souladu s účinnějším potlačením množení mikrobů byly rovněž hodnoty kon-

II. Pohyb semene v průběhu krátkodobého uchovávání — Sperm motility during short-term storage

Ředidlo číslo	Procento pohyblivých spermií					n
	po naředění	24 h	48 h	72 h	96 h	
1	89,71 ± 1,08	78,67 ± 6,17	67,12 ± 8,95	53,25 ± 12,35	38,35 ± 16,40	48
2	90,00 ± 0,00	81,14 ± 2,64	65,91 ± 8,26	55,00 ± 10,13	39,25 ± 14,07	20
3	90,00 ± 0,00	82,50 ± 2,56	72,73 ± 5,92	35,40 ± 30,42	18,75 ± 18,39	22
4	90,00 ± 0,00	82,50 ± 2,65	72,95 ± 6,30	39,75 ± 28,03	19,75 ± 19,20	22
5	90,00 ± 0,00	82,04 ± 3,67	69,09 ± 7,18	44,50 ± 23,22	21,25 ± 20,52	22
6	90,00 ± 0,00	82,95 ± 2,52	73,86 ± 6,89	54,75 ± 20,36	24,75 ± 23,87	22
7	90,00 ± 0,00	82,95 ± 2,25	72,95 ± 6,11	57,75 ± 16,89	27,25 ± 24,09	22
8	90,00 ± 0,00	83,09 ± 2,49	72,60 ± 8,31	33,50 ± 32,33	11,00 ± 10,44	20
9	89,42 ± 2,16	81,73 ± 3,99	71,92 ± 4,91	57,11 ± 14,43	25,77 ± 21,48	26
10	89,42 ± 2,16	81,92 ± 3,76	72,88 ± 4,28	56,92 ± 9,06	30,77 ± 17,59	26
11	89,42 ± 2,16	81,73 ± 3,72	72,50 ± 3,81	55,99 ± 9,45	29,61 ± 21,67	26
12	89,42 ± 2,16	81,15 ± 4,08	67,50 ± 8,63	49,42 ± 14,72	26,61 ± 20,38	26
13	89,42 ± 2,16	81,54 ± 3,68	71,92 ± 4,71	58,65 ± 8,19	37,58 ± 20,41	26
14	89,42 ± 2,16	82,31 ± 3,80	74,81 ± 4,12	62,11 ± 8,74	59,81 ± 11,27	26
15	89,42 ± 2,16	82,50 ± 3,81	75,19 ± 3,60	51,15 ± 11,94	47,31 ± 13,21	26

III. Počty mikrobů ve vzorcích semene s různou koncentrací Apralanu — The numbers of microbes in semen samples with different Apralan concentrations

Ředidlo číslo	První den		Druhý den		Třetí den	
	24 h	48 h	24 h	48 h	24 h	48 h
Nativní semeno	6166,67 ± 4951,28	7125,00 ± 5625,13				
1	2000,00 ± 3364,25	3166,67 ± 4276,43	2041,67 ± 4891,82	3041,67 ± 5598,13	2500,00 ± 6392,47	3000,00 ± 6736,25
2	1666,67 ± 3040,13	2833,33 ± 4438,13	2125,00 ± 5036,80	2916,67 ± 5464,07	2666,67 ± 6113,82	3500,00 ± 7425,39
3	2791,67 ± 2895,59	4541,67 ± 5503,96	2916,67 ± 4004,73	3833,33 ± 4433,00	3500,00 ± 6075,28	4208,33 ± 6482,35
4	1750,00 ± 2709,41	3083,33 ± 4094,53	2916,67 ± 5451,58	3458,33 ± 5503,96	3420,83 ± 5278,41	5020,83 ± 8267,69
5	2208,33 ± 2995,89	3166,67 ± 3531,24	3041,67 ± 5297,76	3833,33 ± 5403,42	2462,50 ± 5417,86	3616,67 ± 7174,43
6	1833,33 ± 1737,37	3083,33 ± 2512,09	2416,67 ± 4706,54	2875,00 ± 4931,92	2583,33 ± 5476,53	3166,67 ± 5642,10
7	1750,00 ± 9260,13	2416,67 ± 3436,67	2416,67 ± 4294,99	3041,67 ± 4277,10	3291,67 ± 5310,62	3875,00 ± 5279,14
8	3590,91 ± 3673,00	5409,09 ± 4948,83	5909,09 ± 5642,77	6818,18 ± 5269,12	6127,27 ± 6768,91	8295,45 ± 7438,67

$n = 12$

centrace vodíkových iontů, které byly nižší v první části pokusů a blížily se hodnotám zjišťovaným u kontrol. Z pokusů provedených s ředidlem č. 15, v němž byl jako bakteriostatický prostředek použit pouze apramycin, je patrné, že toto antibiotikum v použitých koncentracích průkazně nezměnilo hodnoty pH.

Bakteriostatický účinek jednotlivých kombinací antibiotik a koncentrací apramycinu, zkoušených ve třetí části pokusů, je patrný z tab. V, v níž jsou uvedeny průměrné počty zárodků, zjištěné po 72hodinovém uchovávání naředěného semene. Kultivací bylo téměř ve všech vzorcích prokázáno velmi malé množství bakterií. Pro malé rozdíly v množství zárodků nebylo možné potvrdit statistickým hodnocením výraznější bakteriostatický efekt jednotlivých kombinací apramycinu s dalšími antibiotiky. Pro velký počet vzorků v pokusných řadách také nebylo možné při mikrobiologickém vyšetření přesně diferencovat a počítat kolonie grampozitivních a gramnegativních zárodků a exaktně rozlišit bakterio-

IV. Procento neporušených akrozomů (NA) spermií — The percentage of intact acrosomes in spermatozoa

Ředidlo číslo	Neporušené akrozomy					n
	po naředění	24 h	48 h	72 h	96 h	
1		94,78 ± 3,12	85,27 ± 8,07	77,35 ± 8,87	68,70 ± 11,62	48
2		94,62 ± 3,31	86,00 ± 8,37	74,60 ± 12,36	65,40 ± 12,41	20
3	96,04 ± 3,17	94,96 ± 2,91	88,04 ± 6,17	76,70 ± 8,18	63,30 ± 8,73	22
4		95,25 ± 1,80	88,83 ± 5,56	76,70 ± 10,89	62,85 ± 8,38	22
5		94,67 ± 2,20	85,00 ± 7,05	72,20 ± 10,87	54,95 ± 9,49	22
6		95,17 ± 2,68	88,12 ± 6,65	78,30 ± 7,90	65,15 ± 10,31	22
7		94,71 ± 3,44	89,08 ± 7,67	80,30 ± 10,05	70,35 ± 9,67	22
8		95,36 ± 2,34	88,50 ± 5,11	78,10 ± 7,10	62,00 ± 10,66	22
9		92,50 ± 4,55	80,30 ± 6,46	72,76 ± 7,95	65,38 ± 10,29	26
10		92,34 ± 5,45	78,65 ± 8,13	74,38 ± 8,12	65,30 ± 10,52	26
11		92,00 ± 5,38	78,53 ± 8,38	72,61 ± 7,75	65,65 ± 9,47	26
12		89,69 ± 7,70	74,42 ± 8,95	68,19 ± 9,98	59,26 ± 11,89	26
13		91,69 ± 5,48	79,00 ± 7,18	73,53 ± 8,70	64,34 ± 9,50	26
14		92,23 ± 4,79	78,53 ± 10,53	72,96 ± 11,59	65,69 ± 11,30	26
15	97,50 ± 0,98	93,53 ± 4,76	78,76 ± 8,37	70,53 ± 9,72	63,11 ± 13,38	26

V. Počet zárodků v semeni přechovávaném 72 hodiny — The number of germs in semen stored for 72 hours

Pokus číslo	1	2	3	4	5	6	7
1	500	500	500	0	1500	1500	1500
2	0	500	500	2000	500	500	500
3	500	500	2000	1000	500	2500	2000
4	500	0	0	500	0	2000	500
5	1500	1500	500	500	1500	2000	1500
6	500	500	500	2500	2000	2000	2000
7	2500	500	0	0	0	1500	2000
8	500	1500	1000	500	0	500	1500
9	1500	2000	0	0	2500	4000	2000
10	0	1000	500	500	500	1500	1000
11	3000	3000	2500	2500	2000	2500	3000
12	3000	3000	3500	3500	4500	4500	4000
Počet zárodků	500–3000	500–3000	500–3500	500–3500	500–4500	500–4500	500–4000
Ø	1166	1208	958	1125	1291	2083	1791

VI. Přezítelnost spermií kance v teplotě 38 °C po 96hodinovém uchovávání při teplotě 16 °C — The survival of boar spermatozoa at the temperature of 38 °C after 96 hours of storage at 16 °C

Doba	Ředidlo číslo							n
	16	17	18	19	20	21	22	
Po na- ředění	90,00 ± 0,00	90,00 ± 0,00	90,00 ± 0,00	90,00 ± 0,00	90,00 ± 0,00	90,00 ± 0,00	90,00 ± 0,00	12
24 h	76,66 ± 4,92	81,25 ± 3,31	81,25 ± 3,31	81,25 ± 2,26	81,25 ± 2,26	81,25 ± 2,26	81,25 ± 2,26	12
48 h	62,91 ± 13,72	71,25 ± 11,50	72,91 ± 7,21	72,91 ± 7,21	72,08 ± 7,21	70,83 ± 10,40	70,83 ± 10,40	12
72 h	48,33 ± 15,42	62,08 ± 12,33	63,33 ± 7,72	62,91 ± 8,10	64,16 ± 6,68	59,58 ± 9,40	59,16 ± 11,04	12
96 h	41,25 ± 12,81	55,41 ± 9,15	55,83 ± 9,25	55,00 ± 9,04	55,41 ± 9,15	52,91 ± 10,75	54,58 ± 9,15	12

VII. Pohyb semene po 96hodinovém uchovávání při teplotě 16 °C — Sperm motility after 96 hours of storage at the temperature of 16 °C

Doba	Ředidlo číslo							n
	16	17	18	19	20	21	22	
Po na- ředění	41,25 ± 12,81	55,41 ± 9,15	55,83 ± 9,25	55,00 ± 9,04	55,41 ± 9,15	52,91 ± 10,75	54,58 ± 9,15	12
1 h	38,33 ± 12,67	52,91 ± 9,40	52,91 ± 9,40	52,20 ± 8,91	50,83 ± 9,25	47,91 ± 11,17	52,08 ± 9,12	12
2 h	33,75 ± 11,50	47,50 ± 9,41	48,33 ± 10,07	48,75 ± 9,79	46,25 ± 9,07	45,00 ± 10,44	45,83 ± 8,74	12
3 h	27,91 ± 12,51	40,00 ± 9,29	41,25 ± 8,82	41,66 ± 9,61	41,66 ± 8,07	37,08 ± 10,75	38,33 ± 8,61	12
4 h	18,75 ± 16,11	33,33 ± 10,50	36,66 ± 11,34	36,66 ± 11,34	36,25 ± 7,72	29,58 ± 16,57	31,66 ± 12,85	12
5 h	12,91 ± 7,21	20,00 ± 9,04	21,25 ± 8,56	22,95 ± 9,40	22,08 ± 9,15	16,66 ± 10,73	17,08 ± 9,64	12
6 h	9,33 ± 8,43	15,83 ± 8,21	16,25 ± 8,29	17,91 ± 9,15	16,25 ± 8,56	12,50 ± 9,65	13,33 ± 8,07	12

statický efekt penicilinu působícího především na grampozitivní mikroby, ani apramycinu, jehož spektrum zahrnuje především gramnegativní mikroby, ale i některé mikroby grampozitivní, například stafylokoky a streptokoky. Proto jsme hodnotili vhodnost zkoušených antimikrobních kombinací především podle motility uchovávaného semene (tab. VI). Ve srovnání s kontrolami mělo statisticky významně lepší motilitu semeno ředěné ředidlem s kombinací 200,00 mg apramycinu a 500 000 m. j. draselné soli G-penicilinu na 1000 ml. Při zkoušce termorezistence byla přežitelnost spermií přechovávaných v ředidle s kombinacemi 200,00 až 300,00 mg apramycinu a 500 000 m. j. draselné soli G-penicilinu výrazně lepší než u kontrol (tab. VII). Kombinace apramycinu s tylozinem a draselnou solí G-penicilinu se neukázala jako vhodná k potlačení množení bakterií během krátkodobé konzervace semene kance.

Výsledky hodnocení motility spermií v průběhu konzervace semene, výsledky testu termorezistence, bakteriologických testací, morfologického vyšetření spermií i dalších šetření nás opravňují k závěru, že apramycin v přípravku Apralan soluble powder v množství 200,00 až 250,00 mg v kombinaci s 500 000 m. j. draselné soli G-penicilinu na 1000 ml ředidla má statisticky významně příznivější vliv na motilitu a přežitelnost spermií kance během krátkodobé konzervace, než kombinace streptomycinu s penicilinem.

Literatura

- GAMČÍK, P. — KOZUMPLÍK, J. et al.: Umelá inseminácia a andrológia hospodárskych zvierat. Bratislava, Príroda 1976. 574 s.
- HERNÁNDEZ, J. J. — DUVERGER, O.: Estudio de la fertilidad del esperma porcino conservado a temperatura ambiente. Rev. cub. Reprod. Anim., 1, 1978, s. 49.
- KOZUMPLÍK, J. — VLČEK, Z.: Katalázová aktivita v ejakulátu kance a její vztah k bakteriálnímu znečištění. Acta veter. (Brno), 40, 1971, s. 353-359.
- PLÍŠKO, N. T.: Spůsob prodloužení životní oplodotvorjající schopnosti polových kletek chřavaka. Svinovodstvo, 19, 1965, s. 37-41.
- PURSEL, V. G. — JOHNSON, L. A.: Procedure for the preservation of boar spermatozoa by freezing. J. anim. Sci., 12, 1971, s. 395.
- SADOVNIKOVA, M. T.: Chranenije semeni chřavakov bez chladogentov. Svinovodstvo, 20, 1966, s. 28-31.

Došlo dne 23. 2. 1984

KOZUMPLÍK, J. — VLČEK, Z. (Veterinárny institút, Brno): Влияние апрамицина на бактериальное загрязнение и на выживаемость спермы хряка в течение кратковременного консервирования. Veter. Med. (Praha), 29, 1984 (8) : 479-487.

Na 264 пробách спермы семи хряков испытывали бактериостатическое действие апрамицина и его влияние на некоторые показатели качества спермы в течение ее 96-часового хранения. В опытах использовали Apralan soluble powder фирмы Elanco Products Limited в концентрациях 2,5—500 мг на 1000 мл разбавителя. Препарат оценивали по подвижности сперматозоидов во время хранения, по динамике концентрации водородных ионов, морфологическим изменениям сперматозоидов, по результатам теста термостойкости, бактериологических тестаций и других обследований. Концентрация 200—250 мг апрамицина в сочетании с 500 000 м.е. калийной соли G-пенициллина оказывала статистически достоверно лучшее влияние на выживаемость спермы хряка, чем комбинация стрептомицина с пенициллином.

сперма; хряк; микрофлора; разбавитель; апрамицин

KOZUMPLÍK, J. — VLČEK, Z. (University of Veterinary Medicine, Brno): The Effect of Apramycin on the Bacterial Contamination and Survival of Boar Semen Subjected to Short-Term Preservation. Veter. Med. (Praha), 29, 1984 (8) : 479-487.

264 ejaculate samples taken from seven boars were tested for the bacteriostatic action of apramycin and for its effect on some sperm quality parameters during 96-hour storage. Apralan soluble powder, produced by Elanco Products Limited, was used in the trials at the concentrations of 2.5 to 500 mg per 1000 ml of diluent. The preparation was evaluated according to sperm motility during storage, according to the concentration pattern of hydrogen ions, morphological changes in spermatozoa, thermoresistance test, bacteriological tests and other examinations. The concentrations of 200 to 250 mg of apramycin in combination with 500 000 i. u. of G-penicillin potassium salt had a statistically significantly more favourable effect on the survival of boar sperm, as compared with the combination of streptomycin with penicillin.

ejaculate; boar; microflora; diluent; apramycin

Adresa autorů:

Prof. MVDr. Jaroslav Kozumplík, CSc., MVDr. Zdeněk Vlček, Vysoká škola veterinární, Palackého 1-3, 612 42 Brno

Výběr z přírůstků

Ústřední zemědělské a lesnické knihovny ÚVTIZ

z úseku veterinární medicína

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

E 35.130/204

Veterinarnyje i zoogigijeničeskije meroprijatija v promyšlennom životnovodstve.

Jelgava, Latvijskaja seľskochoz. akademijs 1983. 81 s., obr., tab. Trudy LSCHA, vyp. 204. (Veterinární hygiena — chov hospodářských zvířat — velkokapacitní — sborník — SSSR — Lit. SSR)

ROMANOV, S. N.

D 74.610

Biologičeskije dejstvije mehaničeskich kolebanij.

Leningrad, Nauka 1983. 208 s., 19 tab., 37 obr. (Vibrace — zvuk — organismy — vztahy — výzkum — SSSR)

SERGEJEV, V. A. — ORLJANKIN, B. G.

D 74.815

Struktura i biologija virusov životnyh.

Moskva, Kolos 1983. 327 s., 30 tab. (Viry živočišné — struktura a biologie — příručka)

Voprosy prirodnoj očagovosti boleznej.

D 58.899

Alma-Ata, Akademija nauk Kazachskoj SSR 13. 1983. 174 s., tab. (Nemoci hospodářských zvířat — šíření — ohniska přirozená — sborníky — SSSR — KazSSR)

TURNER, A. S. — MacILWRAITH, C. W.

D 74.858

Praxis der Grosstierchirurgie.

Stuttgart, Ferdinand Enke Verlag 1983. 247 s., obr. (Veterinární chirurgie — hospodářská zvířata velká — příručka)

J. Pleva, A. Gorzová, D. Saladiová, E. Rogovská

PLEVA, J. — GORZOVÁ, A. — SALADIOVÁ, D. — ROGOVSKÁ, E. (Vysoká škola veterinárska, Košice; Ústredná veterinárna nemocnica, Košice): *PSE a DFD mäso u brojlerových kurčiat*. Veter. Med. (Praha), 29, 1984 (8) : 489-494. Na súbore 839 brojlerových kurčiat sme sledovali výskyt PSE a DFD mäsa na základe hodnôt pH_i, väznosti vody a farby. Priemerné hodnoty pH_i (merané po 15 minútach po zabíí) sa vo svalovine stehna pohybovali okolo 6,48 a v prsnej svalovine okolo 6,25. Farba mäsa a väznosť vody nemajú pre diagnostiku kvalitatívne zmeneného mäsa hydiny podstatnejší význam. Podiel PSE mäsa z celkového súboru činil 4,35 % a DFD mäsa 48,9 %. Najviac kvalitatívne zmeneného mäsa sa vyskytlo v skupine, ktorej transport sa uskutočnil pri vonkajšej teplote 25 °C. Prepravná vzdialenosť nemala na tvorbu abnormálneho mäsa markantný vplyv.

pH hodnota; schopnosť viazať vodu; farba mäsa; transport

V posledných rokoch sa v našej aj v zahraničnej literatúre venovalo veľa pozornosti stresom hospodárskych zvierat v súvislosti s produkciou kvalitatívne zmeneného mäsa. Najviac výskumov bolo zameraných na chov ošipaných a hovädzieho dobytku. Objavili sa však aj referáty analyzujúce situáciu v hydínovom mäse.

Problematika hygieny hydínového mäsa narastá úmerne so zvyšovaním jeho produkcie a spotreby. Pritom treba zdôrazniť, že táto problematika je z viacerých aspektov špecifická, komplikovanejšia ako u veľkých jatočných zvierat. Vyplýva to jednak z možností len skupinového vyšetrenia hydiny za živa, z vysokých porážkových kapacít neumožňujúcich vždy podrobnú individuálnu prehliadku na porážacích linkách, z integrujúceho charakteru porážkových liniek a z relatívne veľkého povrchu tela vo vzťahu k hmotnosti a k niektorým odchýlkam v priebehu, dĺžke a hĺbke postmortálnych procesov, zhrňovaných pod pojem zrenie mäsa (Lát a Látová, 1983).

Štúdiu postmortálnych biochemických pochodov v mäse hydiny sa doteraz venovalo málo pozornosti. Výroba rôznych hydínových výrobkov vyžaduje väčší záujem aj o túto problematiku (Izák 1978). Väčšina autorov (Ristič a Schön, 1977; Grossklaus, 1979) tvrdí, že priebeh zrecích procesov je v podstate podobný ako v mäse ostatných jatočných zvierat. Ich priebeh je ovplyvňovaný radom intravitálnych — najmä predjatočných — manipulácií so zvieratami. Závery autorov sa zhodujú v tom, že najmä prepravný stres môže aj u hydiny vyvolať pomerne vysokú tvorbu PSE a DFD mäsa (Niewiarowicz a Pikul, 1979; Poljak a Živkovič, 1981).

I. Výskyt PSE a DFD mäsa u brojlerových kurčiat podľa prepravnej vzdialenosti — of transport

Číslo skupiny	pH ₁						
	n	prsna svalovina			stehenná svalovina		
		$\bar{x}$	s	v	$\bar{x}$	s	v
I	189	6,33	0,14	2,21	6,58	0,12	1,82
II	250	6,21	0,11	1,77	6,44	0,17	2,63
III	200	6,36	0,23	3,61	6,51	0,31	4,76
IV	200	6,12	0,31	5,06	6,44	0,28	4,38
Spolu	839	6,25	0,13	3,16	6,48	0,22	3,39

I. skupina = prevoz do 25 km

II. skupina = prevoz od 25 do 50 km

MATERIÁL A METÓDY

V našom pokuse sme merali pH v prsnej a stehennej svalovine u 839 kusov jatočnej hydiny (brojlerové kurčatá — hybridy SLOVGAL) pH-metrom DIGI 88. Z uvedeného počtu boli vytvorené štyri skupiny podľa dĺžky prepravy. Meranie sme urobili 15 minút post mortem. Mäso brojlerov s pH₁ nižším ako 5,80 sme hodnotili ako PSE, mäso s hodnotami pH₁ 5,80 až 6,20 ako normálne a mäso s hodnotami pH₁ nad 6,20 ako DFD mäso.

Zároveň sme merali pH u 20 kurčiat ihneď po zabití a po dobu 60 minút sme registrovali priebeh okysľovania mäsa v prsnej aj v stehennej svalovine.

Farbu mäsa sme určovali spektrálnym kolorimetrom Spekol s remisným nadstavcom R 45/0 pri nastavenej vlnovej dĺžke 546 nm v homogenáte. Túto dĺžku sme vypočítali z troch meraní každej vzorky.

Pre stanovenie voľne viazanej vody sme zvolili metódu odkvapkávaním tak, že sme prepočet stanovili z 50g vzorky stehennej svaloviny, uloženej po dobu 24 hodín pri teplote 4 °C.

VÝSLEDKY

Priemerná hodnota pH₁ (meraná po 15 minútach) v prsnej svalovine sledovaného súboru brojlerových kurčiat ($n = 839$) sa pohybovala okolo 6,25 a v stehennej svalovine okolo 6,48. Rozdiely týchto hodnôt podľa dĺžky prevozu boli medzi skupinami bezvýznamné ($P > 0,05$). Pritom prsná svalovina mala v každom prípade nižšie hodnoty pH ako svalovina stehna.

Najnižšia hodnota pH₁ v prsnej svalovine v našom pokuse činila 5,49, najvyššia 7,09.

Prevoz kurčiat I., II. a IV. skupiny sa konal pri vonkajšej teplote prostredia nižšej ako 20 °C, zatiaľ čo pri prevoze III. skupiny sa teplota vzduchu pohybovala okolo 25 °C. Rozdiely pH₁ v jednotlivých skupinách podľa dĺžky prepravy sú zaznamenané v tab. I.

Hodnoty pH₁ sa už po 15 minútach ustálili tak u nechladenej, ako aj u chladenej hydiny. V ďalšom časovom rozpätí, a to do 60 minút,

PSE %	DFD %	Väznosť vody %						
		n	prsňá svalovina			stehenná svalovina		
			$\bar{x}$	s	v	$\bar{x}$	s	v
2,11	62,8	10	0,21	0,06	28,51	0,24	0,09	37,50
2,80	46,2	10	0,19	0,04	21,05	0,21	0,11	52,38
8,00	61,4	10	0,41	0,11	26,82	0,49	0,17	34,69
4,50	25,2	10	0,24	0,06	25,00	0,25	0,07	28,00
4,35	48,9	40	0,26	0,06	25,34	0,29	0,11	38,14

III. skupina = prevoz od 50 do 100 km

IV. skupina = prevoz nad 100 km

pokračovalo okysľovanie svaloviny takmer bezvýznamne, t. j. rovnako v prsnej aj v stehennej svalovine (tab. II).

Voda registrovaná odkvapkávaním zo svalov stehna brojlerových kurčiat posúdených ako PSE mala podstatne vyššie hodnoty než zo svalov kurčiat, ktorých mäso bolo podľa hodnoty pH₁ označené za normálne ($P < 0,01$). Podobné korelácie sme našli aj pri meraní vody v prsnej svalovine (tab. III).

Farbu sme merali len v prsnej svalovine. Medzi hodnotami PSE a DFD mäsa kurčiat sme nezistili významné rozdiely ($P > 0,05$). V priemere činila 18,4 % remisie u DFD a 18,9 % remisie (Spekol) u mäsa brojlerových kurčiat s hodnotami pH₁ pod 5,80.

II. Priemerné hodnoty pH svaloviny brojlerových kurčiat od zabitia do 60 minút — The average pH values of the muscle of broiler chickens within a 60-minute period after killing

Minúty	Svalovina (n = 20)	
	prsňá	stehenná
0	6,62	6,84
5	6,37	6,62
10	6,32	6,49
15	6,27	6,44
20	6,26	6,42
25	6,26	6,41
30	6,26	6,41
35	6,26	6,40
40	6,26	6,40
50	6,25	6,40
60	6,25	6,40

III. Hodnoty pH₁ a väznosti vody u kurčiat s normálnym, PSE a DFD mäsom —
The values of pH₁ and water-holding capacity in chickens with normal, PSE and DFD meat

n	Prsná svalovina						Stehenná svalovina						
	pH ₁			voda %			pH ₁			voda %			
	$\bar{x}$	s	v	$\bar{x}$	s	v	$\bar{x}$	s	v	$\bar{x}$	s	v	
10	6,10	0,83	13,60	0,38	0,10	26,31	6,49	0,12	12,48	0,28	0,16	57,14	N
10	5,70	0,72	12,63	0,72	0,42	58,33	6,35	0,30	47,24	0,74	0,39	52,70	PSE
10	6,55	0,14	21,37	0,22	0,01	45,45	6,55	0,14	21,37	0,20	0,04	20,00	DFD
30	6,11	0,56	15,86	0,44	0,17	43,36	6,46	0,18	29,03	0,40	0,19	43,28	

DISKUSIA

Získané výsledky potvrdili v zhode s predchádzajúcimi prácami (Ristič a Tawfik, 1975; Grossklaus, 1979) skutočnosť, že priebeh zrecích procesov hydínového mäsa je v podstate podobný ako u mäsa ostatných jatočných zvierat. Fáza okyslovania je však kratšia. pH₁ je najvhodnejšie merať v prsnej svalovine, a to najlepšie asi 15 minút po zabíí zvierata, tak ako na to poukázal aj Ristič (1981).

Zo súboru 839 brojlerových kurčiat vykázalo len 4,35 % zmeny poukazujúce na PSE mäso. Priemerná hodnota pH₁ sledovaného súboru bola 6,25. Podľa prieskumov, ktoré urobil Ristič (1981), činí podiel PSE mäsa u sliepočiek 11,6 % a u kohútikov až 18,8 %. Citovaný autor navrhuje za DFD mäso považovať mäso s hodnotami pH₁ 6,3 a viac. Podľa takéhoto kritéria by v našom pokuse malo takmer 50 % kurčiat DFD mäso, zatiaľ čo podľa posledne menovaného autora pripadá na takto kvalitatívne zmenené mäso u sliepočiek 22,5 % a u kohútikov len 16,6 %. Naše výsledky skôr podporujú názory, ktoré udáva Grossklaus (1979), že hodnoty pH₁ sa u hydiny pohybujú medzi 6,20 a 6,79 v hrudnej muskulatúre a medzi 6,52 až 6,87 v stehennej muskulatúre.

Podobne ako u ostatných jatočných zvierat aj u hydínových brojlerov sa ukazuje, že na tvorbu PSE mäsa bude mať nezanedbateľný vplyv teplotný stres, ako na to poukázali Edens (1981) a Poljak a Živković (1981). Toto tvrdenie podporujú výsledky diagnostikovania PSE mäsa (8 %) v skupine zvierat, ktorých transport sa uskutočnil pri teplote prostredia 25 °C. Treba pripomenúť, že v tejto skupine bol aj vysoký podiel DFD mäsa (61,4 %).

Kvalitatívne zmenené mäso typu PSE i DFD sa všeobecne odporúča posudzovať na základe hodnôt pH, väznosti vody a farby. Zisťovanie kvality mäsa podľa väznosti vody robí u hydiny väčšie ťažkosti ako napr. u ošípaných. Príčina spočíva v tom, že vodnatosť hydínového mäsa nie je tak ľahko dokázateľná ako vodnatosť bravčového mäsa. S podobným problémom sa stretávame aj pri posudzovaní farebných zmien mäsa (Mugler a Cunningham, 1972), nakoľko medzi svalovinou s nízkym pH₁ (menej ako 5,8) a svalovinou s pH₁ nad 6,2 nie sú v priemere preukazné rozdiely.

Z uvedeného vyplýva, že problematika abnormalít hydínového mäsa nie je takou jednoznačnou záležitosťou ako napr. u mäsa ošipaných. Vyžaduje prieskum zmien obsahu biofyzikálnych a biochemických ukazovateľov v prsnej aj v stehennej svalovine a ich komparáciu s hodnotami pH.

Literatúra

- EDENS, F. W.: Heat stresses in poultry. Res. and Fmg (Raleigh), 39, 1981, č. 3-4, s. 14-15.
- GROSSKLAUS, D.: Geflügelfleischhygiene. Berlin 1979.
- IZÁK, Š.: Hygiena potravín III. Bratislava, Príroda 1978.
- LÁT, J. — LÁTOVÁ, J.: Některé hygienické aspekty drůbežního masa. Veterinářství, 33, 1983, č. 7, s. 300-302.
- MUGLER, D. J. — CUNNINGHAM, F. E.: Factors affecting poultry meat colour — a review. Wld's Poult. Sci. J., 28, 1972, č. 4, s. 400-406.
- NIEWIAROWICZ, A. — PIKUL, J.: pH-Wert der Hautoberfläche vor der Schlachtung als Indikator für PSE- und DFD-Fleisch bei Broilern. Fleischwirtschaft, 59, 1979, s. 405-407.
- POLJAK, I. — ŽIVKOVIĆ, J.: Utjecaj nekih čimbenika na klaoničko iskorištenje, kvalitetu i higijensku ispravnost mesa brojlera. Veter. Arh., suppl., 51, 1981, s. 107-110.
- RISTIČ, M.: Einflussfaktoren auf die Fleischbeschaffenheit bei Broilern. Fleischwirtschaft, 61, 1981, č. 10, s. 1522-1531.
- RISTIČ, M. — SCHÖN, L.: Einfluss von Transportentfernung und -dauer auf die Fleischbeschaffenheit von Schlachtgeflügel. Arch. Geflügelkde, 41, 1977, s. 149-151.
- RISTIČ, M. — TAWFIK, E. E.: Einflussgrößen auf die Lagerfähigkeit von Broilern. Arch. Geflügelkde, 39, 1975, s. 176-179.

Došlo dňa 11. 11. 1983

ПЛЕВА, Я. — ГОРЗОВА, А. — САЛАДИОВА, Д. — РОГОВСКА, Е. (Ветеринарный институт, Кошице; Центральная ветеринарная больница, Кошице): PSE и DFD мясо бройлерных цыплят. Veter. Med. (Praha), 29, 1984 (8) : 489-494.

У совокупности 839 цыплят-бройлеров изучали появление PSE и DFD мяса на основе значений pH₁, связываемости воды и окраса. Средние значения pH₁ (измерявшиеся через 15 минут после убоя) составляли в мышечной ткани бедра 6,48 и в грудной мышечной ткани 6,25. Окрас мяса и связываемость воды не имеют для диагностики изменения качества мяса птицы особого значения. Доля PSE мяса из всей совокупности составляла 4,35 %, а DFD мяса 48,9 %. Больше всего изменений качества мяса наблюдалось в группе, транспортировка которой осуществлялась при наружной температуре 25 °C. Транспортное расстояние не оказывало значительного влияния на образование ненормального мяса.

значение pH₁; способность связывать воду; окрас мяса; транспортировка

PLEVA, J. — GORZOVÁ, A. — SALADIOVÁ, D. — ROGOVSKÁ, E. (University of Veterinary Medicine, Košice; Central Veterinary Hospital, Košice): PSE and DFD Meat in Broiler Chickens. Veter. Med. (Praha), 29, 1984 (8) : 489-494.

A set of 839 broiler chickens was studied for the occurrence of PSE and DFD meat on the basis of pH₁ values, water-holding capacity and colour. The average pH₁ values (measured 15 minutes from killing) were 6.48 in thigh muscle and 6.25 in breast muscle. Meat colour and water-holding capacity had no greater importance for the diagnosis of defects in poultry meat. The proportion of PSE meat out of the total set was 4.35 % and that of DFD meat was 48.9 %. The largest occurrence of

meat defects was found in the group transported at the outdoor temperature of 25°C. Transport distance had no marked effect on the origin of meat defects.

pH value; water-holding capacity; meat colour; transport

Adresy autorov:

Prof. MVDr. Ján Pleva, DrSc., MVDr. Anna Gorzová, MVDr. Eva Rogovská, Vysoká škola veterinárska, Komenského 73, 041 81 Košice

MVDr. Danka Saladiová, Ústredná veterinárna nemocnica, Komenského 73, 041 81 Košice

VYUŽITÍ IONIZUJÍCÍHO ZÁŘENÍ KE STERILIZACI MLÉČNÉ KRMNÉ SMĚSI SELASAN

D. Olbrichová, A. Zouharová, E. Buriánková

OLBRICHOVÁ, D. — ZOUHAROVÁ, A. — BURIÁNKOVÁ, E. (Státní výzkumný ústav textilní, Liberec, Centrum radiačních technologií, Veverská Bítýška): *Využití ionizujícího záření ke sterilizaci mléčné krmné směsi Selasan*. Veter. Med. (Praha), 29, 1984 (8) : 495-502.

U mléčné krmné směsi Selasan s iniciální kontaminací $4,9 \cdot 10^4$ zárodků na 1 gram preparátu byl sledován vliv osmi vzestupných dávek záření v rozmezí od 3 do 30 kGy na izolovanou mikroflóru. Mikroorganismy, které přežily udělenou dávku záření, byly zhodnoceny z makroskopického i mikroskopického hlediska a na základě stanovení parametrů inaktivačních křivek $N_D = N_0 \cdot e^{-kD}$ byl určen stupeň rezistence izolátů. Získané údaje byly základem pro určení minimální sterilizační dávky 25 kGy pro mléčnou krmnou směs Selasan.

radiační sterilizace; vliv záření na mikroorganismy; stupeň rezistence izolátů

V rámci rozsáhlých ozdravovacích postupů při péči o výživu hospodářských zvířat se pozornost soustřeďuje na kvalitu krmiva nejen z hlediska výživnosti, ale především z hlediska zdravotní nezávadnosti. V současné době jsou využívány čtyři základní sterilizační postupy; sterilizace ultrafiltrací u kapalných syntetických diet, sterilizace chemická, využívající etylenoxid, sterilizace tepelná a sterilizace ionizujícím zářením.

Sterilizace gama paprsky má v porovnání s jinými — nejčastěji používanými — způsoby mnohé výhody. Vysoká pronikavost paprsků umožňuje sterilizovat materiály předem hermeticky uzavřené do vhodných obalových materiálů a udržet sterilitu na neomezenou dobu. Účinnost záření není ovlivněna materiálem, tloušťkou ani tvarem a zaručuje sterilizaci ve všech vrstvách. Proces probíhá bez zvýšené teploty a nezávisí na faktorech, jako je tepelná vodivost materiálu, tlak, teplota a vlhkost prostředí (Lawrence a Block, 1968; Recommendation..., 1975). Cílem radiační sterilizace je inaktivace životaschopných mikroorganismů. Účinnost záření je závislá nejen na počtu, druhu a rezistenci mikroorganismů v materiálech určených ke sterilizaci, ale také na prostředí, ve kterém sterilizační proces probíhá (Ley, 1963). Mikroorganismy se liší svou citlivostí ke gama záření. Rozdíly v citlivosti se projevují nejen mezi různými druhy, ale také mezi kmeny téhož druhu. Vegetativní patogenní i nepatogenní zárodky (letální dávka — LD = 5 kGy) jsou ke gama záření citlivější než plísňe a kvasinky (LD = 10 — 15 kGy), spórotovné zárodky (LD = 20 kGy) a viry (LD = 20 — 50 kGy) (Horn aj., 1973; Christensen, 1970; Wright a Triumph, 1970; Lange, 1967; Lewis, 1971).

Využití ionizujícího záření ke sterilizaci diet bylo v širším měřítku zahájeno v Anglii v roce 1962 (Ley aj., 1969). První praktické a kladné zkušenosti s využitím radiační sterilizace diet získala Coatesová (1968). Celkový přehled o radiační sterilizaci diet zpracoval Adami-ker (1975). Kontrola mikroorganismů v dietách představuje důležitý hygienický faktor a výběr dávek záření se řídí cílem: sterilní → bez patogenů → minimálně kontaminované. Diety pro GF (germ free) zvířata jsou obvykle ozařovány dávkou 40 až 50 kGy a pro SPF (specific pathogen free) zvířata dávkou 25 kGy (Strasser, 1974; Fernandes, 1979; Adami-ker, 1975). Dlouhodobé testy toxicity, teratogenity, mutagenity, sledování reprodukčních vlastností laboratorních zvířat, jejich hematologické ukazatele a výsledky patologicko-anatomických vyšetření zvířat potvrdily nezávadnost radiační sterilizace (International Project, 1975; WHO, 1976; Ley aj., 1969; Santar a Klír, 1980).

Sypké přírodní krmivo zpravidla obsahuje 10^4 až 10^6 zárodků na 1 gram. Kromě zástupců rodů *Bacillus*, *Staphylococcus* a *Micrococcus* patří ke kontaminantům také zástupci čeledi *Enterobacteriaceae*, zvláště *E. coli*, *Salmonella*, *Proteus* a *Pseudomonas*. K eliminaci enterobaktérií stačí poměrně nízké dávky záření: *Salmonella typhimurium* při denzitě 10^6 je usmrcena dávkou 10 kGy a *Pseudomonas aeruginosa* při koncentraci buněk 10^8 dávkou 1 kGy (Idziak a Epps, 1971).

Mléčná krmná směs Selasan, která byla předmětem studia vlivu dávek záření v přímé návaznosti na stupeň kontaminace, byla jako modelový materiál vytypována ze dvou základních hledisek: 1. jakost krmiva a mikrobiální znečištění je limitováno ON 57 0836; 2. tato směs je využívána pro raný odstav selat. Vliv záření na nutriční a hygienické ukazatele a jednotlivé složky mléčné krmné směsi Selasan (tuk, proteiny) byl hodnocen v tříměsíční záruční době výrobku (Herzig aj., 1981; Toullová aj., 1983; Olbrichová aj., 1982).

MATERIÁL A METODY

MKS Selasan byla zhodnocena z hlediska kvantitativní i kvalitativní kontaminace mikroflórou (ČSN 56 0100 a 57 0101). Jednogramové navážky MKS Selasan byly vystaveny osmi dávkám záření 3, 6, 9, 12, 15, 20, 25 a 30 kGy na zdroji ^{60}Co s aktivitou zářiče $1,032 \cdot 10^{16}$ Bg typu J-6000 průmyslové ozařovny AECL. Dávku 3 kGy a každou další obdrželo 120 zkumavek, přičemž 75 zkumavek sloužilo k zachytu přežívajících zárodků běžné nepatogenní i patogenní mikroflóry a 45 zkumavek k zachytu plísní a kvasinek. Celkově bylo ozařování podrobeno 1800 zkumavek. Ozářené vzorky byly přelity 5 ml maso-peptonového bujónu a Sabouraudova média a po 14denní kultivaci při teplotě 37°C a 20°C byly sledovány pozitivní kultivace vzorků.

Rezistence kmenů izolovaných po ozáření vzestupnými dávkami záření byla hodnocena na základě stanovení parametrů inaktivačních křivek. Pro počet mikroorganismů, které přežily udělenou dávku záření, platí vztah:

$$N_D = N_0 \cdot e^{-kD}$$

kde: k — konstanta charakterizující rezistenci kmene

D — dávka záření v kGy

N_0 — počet zárodků před ozářením

N_D — počet zárodků po ozáření dávkou D

Pro exponenciální část inaktivačních křivek byla stanovena dávka D_{10} , tj. dávka postačující k inaktivaci 90 % původní hustoty populace.

$$D_{10} = \frac{D}{\log N_0 - \log N_D}$$

VÝSLEDKY

Průměrná hladina předsterilizační kontaminace směsi Selasan se pohybovala od minima $2,6 \cdot 10^4$ do maxima $5,6 \cdot 10^5$ při průměru $4,9 \cdot 10^4$ zárodků na 1 gram preparátu. Z izolovaných kmenů připadalo 50,0 % na r. *Bacillus* (*B. cereus*, *B. subtilis*, *B. pumilus*), 30,8 % na Gram-pozitivní koky (r. *Streptococcus*, r. *Staphylococcus*, r. *Micrococcus*), 7,7 % na Gram-pozitivní nesporulující tyčinky a kvasinky a 3,8 % na plísň.

I. Vliv vzestupných dávek záření na pokles kladných kultivací vzorků — The effect of increasing radiation doses on the decrease in the positive cultivations of samples

Dávka (kGy)	Masoseptonový bujón		Sabouraudovo médium	
	N_o/N_D	% + kultivací	N_o/N_D	% + kultivací
0	75/75	100,0	45/45	100,0
3	75/63	84,0	45/30	66,7
6	75/35	46,7	45/13	28,9
9	75/28	37,3	45/ 5	11,1
12	75/22	29,3	45/ 3	6,7
15	75/15	20,0	45/ 0	0
20	75/ 5	6,7	45/ 0	0
25	75/ 0	0	45/ 0	0
30	75/ 0	0	45/ 0	0

N_o — počet sledovaných vzorků

N_D — počet kladných kultivací vzorků

Tab. I dává přehled o zjištěných počtech přežívajících zárodků po expozici osmi vzestupnými dávkami záření. Z tabulky je zřejmé, že ze 75 rozborů při izolaci běžné patogenní i nepatogenní mikroflóry po expozici dávkou 3 kGy bylo zjištěno 84,0 % kladných kultivací, po dávce 6 kGy 46,7 %, po dávce 9 kGy 37,3 %, po dávce 12 kGy 29,3 %, po dávce 15 kGy 20,0 %, po dávce 20 kGy 6,7 % a po dávkách 25 a 30 kGy 0 % pozitivních kultivací ve srovnání s kontrolními neozářenými vzorky se 100% kladnou kultivací.

Z celkově 45 rozborů pro izolaci plísní a kvasinek bylo po expozici dávkou 3 kGy zjištěno 66,7 % kladných kultivací, po dávce 6 kGy 28,9 %, po dávce 9 kGy 11,1 % a po dávce 12 kGy 6,7 % kladných kultivací. Dávky 15, 20, 25 a 30 kGy byly dávkami sterilizačními s 0 % kladných kultivací. Naopak 100% pozitivní kultivace vzorků byla zjištěna u kontrolních neozářených preparátů.

Pro stanovení spektra rezistence izolátů přežívajících vzestupné dávky záření bylo izolováno celkem 217 kmenů. Tab. II udává kvantitativní i kvalitativní obraz kontaminujících zárodků po expozici osmi vzestupnými dávkami záření v rozmezí od 3 do 30 kGy.

Po expozici dávkou 3 kGy bylo izolováno nejvíce (90) kmenů, přičemž ve 41,4 % byly zastoupeny plísň, ve 28,9 % kokovité zárodky, ve

II. Kvantitativní i kvalitativní obraz kontaminujících zárodků po udělení osmi dávek záření — The quantity and quality characteristics of contaminated germs after exposure to eight radiation doses

Dávka (kGy)	Kmeny					
	celkový počet izolátů	Gram-pozitivní kokovité zárodky	Gram-pozitivní tyčinky sporulující	Gram-pozitivní tyčinky nesporelující	plísňe	kvasinky
3	90	26 (28,9 %)	25 (27,8 %)	—	37 (41,1 %)	2 (2,2 %)
6	50	15 (30,0 %)	18 (36,0 %)	—	17 (34,0 %)	—
9	34	11 (32,4 %)	13 (38,2 %)	2 (5,8 %)	7 (20,6 %)	1 (2,9 %)
12	22	9 (40,9 %)	11 (50,0 %)	—	2 (9,1 %)	—
15	15	6 (40,0 %)	8 (53,3 %)	—	1 (6,7 %)	—
20	6	2 (33,3 %)	4 (66,7 %)	—	—	—
25	—	—	—	—	—	—
30	—	—	—	—	—	—

27,8 % Gram-pozitivní sporulující tyčinky a ve 2,2 % kvasinky. Padesát izolátů mělo po expozici dávkou 6 kGy toto procentuální zastoupení: 36,0 % Gram-pozitivní sporulující tyčinky, 34,0 % plísňe, 30,0 % kokovité zárodky. U 34 izolátů bylo po expozici dávkou 9 kGy identifikováno toto procentuální zastoupení: 38,2 % Gram-pozitivní sporulující tyčinky, 32,4 % kokovité zárodky, 20,6 % plísňe, 5,8 % Gram-pozitivní nesporelující tyčinky a 2,9 % kvasinky. Z 22 izolátů po dávce 12 kGy bylo 50,0 % zařazeno ke Gram-pozitivním sporulujícím tyčinkám, 40,9 % ke kokovitým zárodkům a 9,1 % k plísním. U dávky 15 kGy bylo získáno 15 izolátů, z toho 53,3 % bylo zastoupeno Gram-pozitivními sporulujícími tyčinkami, 40,0 % kokovitými zárodky a 6,7 % plísněmi. Dávka 20 kGy je nejvyšší udělená dávka záření, u které byla zjištěna pozitivní kultivace. Šest izolátů bylo zastoupeno v 66,7 % Gram-pozitivními sporulujícími tyčinkami a 33,3 % kokovitými zárodky.

Rezistence izolátů byla zjišťována na základě stanovení parametrů inaktivačních křivek u 43 kmenů bakterií izolovaných po ozáření dávkami 12, 15 a 20 kGy a u tří kmenů kvasinek po dávkách 3 a 9 kGy. Celkově bylo zpracováno 17 kmenů kokovitých zárodků a tři kmeny kvasinek, které obdržely pět dávek záření v rozmezí od 3 do 15 kGy, a 23 kmeny Gram-pozitivních sporulujících tyčinek a tři kmeny plísní, které obdržely pět dávek záření v rozmezí od 3 do 20 kGy.

Parametry inaktivačních křivek a dávka D_{10} , charakterizující rezistenci izolátů, jsou uvedeny v tab. III současně s parametry inaktivačních křivek testovacích standardů pro různé sterilizační postupy (radiační sterilizace: *Micrococcus radiodurans*, *Micrococcus radioproteolyticus*, *Bacillus sphaericus* a *Bacillus pumilus*; etylenoxidová sterilizace: *Bacillus subtilis* var. *niger*; parní a horkovzdušná sterilizace: *Bacillus subtilis*). Lze konstatovat, že ze 46 izolátů nebyl zaznamenán kmen s vysokou rezistencí vůči ionizujícímu záření.

III. Parametry inaktivačních křivek a dávka D_{10} pro izoláty a testovací standardy
— The parameters of inactivation curves and the D_{10} dose for isolates and testing standards

Kmeny	Konstanta k			Dávka D_{10}		
	průměr	maximum	minimum	průměr	maximum	minimum
Gram-pozitivní kokovité zárodky	2,28	3,77	1,20	0,66	1,36	0,31
Gram-pozitivní tyčinky, sporulující	1,09	1,68	0,64	1,47	3,41	0,74
Kvasinky	1,50	1,59	1,43	1,24	1,64	1,03
Plísňe	0,92	1,22	0,74	1,49	1,86	0,90
<i>M. radiodurans</i> (radiační sterilizace)	0,66			2,97		
<i>M. radioproteolyticus</i> (radiační sterilizace)	0,36			10,13		
<i>B. pumilus</i> (radiační sterilizace)	0,69			1,79		
<i>B. sphaericus</i> (radiační sterilizace)	0,88			1,55		
<i>B. subtilis</i> var. <i>niger</i> (etylenoxid)	0,53			1,80		
<i>B. subtilis</i> (parní + horkovzdušná sterilizace)	1,26			1,00		

DISKUSE

Stupeň sterility, který pro danou mléčnou krmnou směs Selasan dává použitá metoda a režim sterilizace, je pravděpodobnostní funkcí. Tallentire aj. (1971) vypracovali teoretický model pro průběh radiační sterilizace: $P = f(D; a/o; \emptyset; S)$, která vyjadřuje, že pravděpodobnost izolace frakce mikrobů (P) po ozáření je funkcí dávky (D), iniciační kontaminace (a/o), distribuce zárodků ($\emptyset$) a jejich rezistence (S) k záření.

Průměrná hladina předsterilizační kontaminace $4,94 \cdot 10^4$ zárodků na 1 gram splňuje kvantitativní i kvalitativní kritéria kontaminující mikroflóry, daná ON 57 0836. Adamiker (1975) a Fernandes (1979) udávají, že na počet mikroorganismů, které kontaminují diety, má rozhodující vliv technologie výroby. Proto diety sypké obsahují zpravidla 10^4 až 10^6 zárodků na 1 gram, zatímco diety peletované (působí-li peletizace jako pravá pasterizace) obsahují 10^2 až 10^4 zárodků na 1 gram (Hiller, 1970). Zárodky r. *Bacillus*, *Staphylococcus* a *Micrococcus* patří k nejčastěji zastoupeným kontaminantům a byly izolovány i při rozbořech směsi Selasan. Citlivost mikroorganismů udávají Hansen (1966) a Ito aj. (1972). Podle těchto autorů jsou ke snížení počtu zárodků 10^6 až 10^7 krát postačující pro jednotlivé mikroorganismy tyto dávky záření: pro středně citlivé stafylokoky a mikrokoky 6,5 kGy, pro enterobakterie 8 kGy, salmonelly 7 kGy, *Bacillus pumilus* a *Streptococcus faecium*, které patří mezi poměrně odolné mikroorganismy, postačuje dávka 25 kGy. Během rozborů nebyly izolovány zárodky čeledi *Enterobacteriaceae*. Stejně výsledky byly získány z 20 rozborů směsi Selasan v SVÚ Český Brod v roce 1979. Faktorem, který ovlivňuje volbu sterili-

zační dávky, je rezistence jednotlivých mikroorganismů vůči gama záření. Rezistence izolátů byla zjišťována na základě stanovení parametrů inaktivačních křivek. Konstanta k představuje významnou hodnotu pro charakterizaci rezistence daného kmene. Velikost konstanty k je jednak dána aktuální rezistencí kódovanou genotypem, jednak je fenotypický projev do značné míry ovlivněn podmínkami prostředí. Čím je hodnota k nižší, tím větší odolnost vykazuje daný kmen vůči gama záření. Zcela opačný význam má dávka D_{10} , tj. dávka postačující k inaktivaci 90 % původní populace. Čím vyšší je její hodnota, tím rezistentnější je daný kmen. V průběhu sledování vlivu osmi vzestupných dávek záření na mikrobiální znečištění mléčné krmné směsi Selasan nebyl zaznamenán kmen s vysokou radiorezistencí.

Na základě výsledků získaných při sledování kvantity a kvality mikrobiální kontaminace směsi Selasan, výsledků získaných při sledování vlivu osmi dávek záření na pokles kontaminace i výsledků při stanovení spektra rezistence izolátů byla jako minimální sterilizační dávka pro krmnou směs Selasan stanovena dávka 25 kGy. V provozních podmínkách bude mléčná směs Selasan ozařována na zdroji ^{60}Co průmyslové ozařovny AECL — typ J 6000 (Kanada) v pětikilogramovém balení v polyetylenových pytlích o síle 0,10 až 0,15 mm, hermeticky uzavřených. Na základě využití testovacích standardů pro radiační sterilizaci i přímého testování sterility 5kg balení směsi Selasan byla při provozních zkouškách prokázána sterilita výrobku po ozáření minimální dávkou 25 kGy.

Výsledky praktické aplikace ozařování potravin v rámci programu IFIP od roku 1971 ve 23 zemích byly kriticky zváženy organizací WHO. Na základě těchto výsledků bylo mnoho produktů radiačně ošetřených uznáno jako velmi bezpečné pro humánní konzumaci.

Literatura

- ADAMIKER, D.: A comparison of various methods for treating feedstuffs for laboratory animals. In: Food irradiation information, 5, 19, Ont. Projects in Field of Food Irradiation, Karlsruhe 1975.
- COATES, M. E.: The germfree animal in research. London — New York, Academic Press 1968.
- ČSN 56 0100. Mikrobiální zkoušení poživatin, předmětů běžného užívání a prostředí potravinářských provozoven. 1970.
- ČSN 57 0101. Mikrobiální zkoušení mléka a mléčných výrobků. 1969.
- FERNANDES, R. E. B.: Microbial control of gamma-irradiated feed for laboratory animals. Radioact. Phys. Chem., 14, 1979, s. 635-637.
- HANSEN, P. I. E.: Radiation treatment of meat products and animal-by products. In: Proc. Symp. Food Irradiation, Karlsruhe, 1966, IAEA, Vienna, 1968, s. 411-426.
- HERZIG, I. — HOLUB, A. — HAMPL, J. — TOULOVÁ, M. — KREJČÍ, P. — RAŠOVSKÁ, B. — PINKAS, F.: Změny tukové složky medikované krmné směsi Selasan. [Výzkumná zpráva.] Brno, Výzk. ústav veterinárního lékařství 1981.
- HILLER, H. H.: Untersuchungen über die Einflüsse verschiedener Sterilisation-verfahren des Futters aus biologische Leistungen kemfreien Ratten (Abstrakt.) Z. Versuchstierkde, 13, 1971, s. 243.
- HORN, H. — PRÍVORA, M. — WEUFFEN, W.: Handbuch der Desinfektion und Sterilisation. Band. II. Grundlagen der Sterilisation. Berlin. VEB Verlag Volk und Gesundheit 1973.

- CHRISTENSEN, E. A.: Radiation sterilization of bacteria and microbiological control of irradiated medical products. Sterilization and preservation of biological tissues by ionizing radiation. IAEA, Vienna, 1970, s. 1-13.
- IDZIAK, E. S. — EPPS, H. A.: Microbiological aspects of poultry feed irradiation. Process for the elimination of *Salmonella* from animal feeds by gamma radiation. A technological Review, Bio-Research Laboratories Ltd., Commercial Products AECL, Ottawa, Canada 1971.
- International projects in field of food irradiation. Food Irradiat. Inform., Karlsruhe, 4, 1975.
- ITO, H. — IIZUKA, M. — SATO, T.: Sterilization of laboratory animal diets by gamma-irradiation. Jap. atom. Res. Inst. M-5458. 1973, s. 132.
- LANGE, A.: Vernichtung bakterieller Pyrogene durch physikalische Verfahren. Wiss. Z. Humboldt-Univ. Berlin, Math.-naturwiss., R. XVI, 2, 1967, s. 155-158.
- LAWRENCE, E. A. — BLOCK, S. S.: Disinfection, sterilization and preservation. London, H. Kimpton 1968.
- LEY, F. S.: Radiation control of salmonellas in food and feed products. Techn. Rep., No 22, IAEA, Vienna, 1963, s. 107.
- LEY, F. S. — BLEBY, J. — COATES, M. E. — PATERSON, J. S.: Sterilization of laboratory animal diets using gamma radiation. Lab. Anim., 3, 1969, s. 221.
- LEWIS, N. F.: Studies on a radio-resistant coccus isolated from Bombay duck. J. gen. Microbiol., 66, 1971, s. 28-35.
- OLBRICHOVÁ, D. — ZOUHAROVÁ, A. — BURIÁNKOVÁ, E.: Sledování předsterilizační kontaminace. [Závěrečná zpráva úkolu P-09-159-405-03.] Veverská Bítýška, Stát. výzk. ústav textilní, Centrum radiačních technologií 1982.
- ON 57 0836. Selasan — medikovaná mléčná krmná směs pro raný odstav selat. 1974. Recommendation for the radiation sterilization of medical products. IAEA-SM-192. Vienna, IAEA 1975.
- SANTAR, L. — KLÍR, D.: Experimentální zařízení pro poloproduční radiační sterilizaci diet a podestýlky pro laboratorní zvířata. Zbraslav nad Vltavou, Ústřední informační středisko pro jaderný výzkum 1980.
- STRASSER, H.: Newsletter of European gnotobiotics association. 1974, č. 5.
- TALLENTIRE, A. — DWYER, J. — LEY, F. J.: Microbiological quality control of sterilized products. Evaluation of a model relating frequency of contaminated items with increasing radiation treatment. J. appl. Bact., 34, 1971, s. 521-534.
- TOULOVÁ, M. — HERZIG, I. — HAMPL, J. — HOLUB, A. — KREJČÍ, P. — RAŠOVSKA, B.: Změny tukové složky mléčné krmné směsi Selasan, vyvolané radiační sterilizací. Biol. Chem. Veter. (Praha), 1983, č. 4.
- WHO Press: Irradiated food commodities recognized as safe for human consumption. Press Release, WHO, 35, 1976.
- WRIGHT, K. A. — TRUMPH, J. G.: Sterilization and preservation of biological tissues by ionizing radiation. IAEA-PL-333/12. Vienna, IAEA 1970.

Došlo dne 25. 4. 1983

ОЛБРИХОВА, Д. — ЗОУГАРОВА, А. — БУРИАНКОВА, Е. (Государственный научно-исследовательский институт текстильной промышленности, Либерец; Центр радиационных технологий, Веверска Битышка): Применение ионизирующего излучения для стерилизации молочной кормосмеси Селасан. Veter. Med. (Praha), 29, 1984 (8) : 495-502.

У молочной кормосмеси Селасан с начальным загрязнением $4,9 \cdot 10^4$ патогенных зародышей на 1 грамм препарата изучали влияние восьми восходящих доз облучения в пределах от 3 до 30 кГр на изолированную микрофлору. Микроорганизмы, пережившие примененную дозу облучения, оценивали в макро- и микроскопическом отношении и на основе определения параметров инактивационных кривых $N_D = N_0 \cdot e^{-kD}$ определяли степень устойчивости изолятов. Полученные данные послужили основой для определения минимальной стерилизационной дозы 25 кГр для молочной кормосмеси Селасан.

радиационная стерилизация; влияние облучения на микроорганизмы; степень устойчивости изолятов

OLBRICHOVÁ, D. — ZOUHAROVÁ, A. — BURIÁNKOVÁ, E. (State Research Institute of Textile Industry, Liberec, Radiation Technology Centre, Veverská Bítýška): *The Use of Ionizing Radiation for the Sterilization of Selasan Milk Replacer*. Veter. Med. (Praha), 29, 1984 (8) : 495-502.

The Selasan milk replacer with an initial contamination of $4.9 \cdot 10^4$ germs per gram of preparation was studied for the effect of eight increasing doses of radiation, ranging from 3 to 30 kGy, upon isolated microflora. The microorganisms that had survived exposure to each of the doses were evaluated from the macroscopic and microscopic point of view, and the degree of resistance of the isolates was determined on the basis of the parameters of inactivation curves $N_D = N_0 \cdot e^{-kD}$. The data served as a basis for determining the minimum sterilization dose of 25 kGy for Selasan milk replacer.

sterilization by radiation; effect of radiation on microorganisms; resistance degree of isolates

Adresa autorů:

RNDr. Dagmar Olbrichová, ing. Alžběta Zouharová, RNDr. Eva Buriánková, Státní výzkumný ústav textilní, Centrum radiačních technologií, 664 71 Veverská Bítýška

POUŽITÍ KAPALINOVÉ CHROMATOGRAFIE PRO STANOVENÍ FORMALDEHYDU V BIOLOGICKÝCH MATERIÁLECH

A. Bartko, O. Pár, J. Příkryl

BARTKO, A. — PÁR, O. — PŘÍKRYL, J. (Výzkumný ústav pivovarský a sladařský, pracoviště Brno; Výzkumný ústav výživy zvířat, Pohořelice): *Použití kapalinové chromatografie pro stanovení formaldehydu v biologických materiálech*. Veter. Med. (Praha), 29, 1984 (8) : 503-509.

Formaldehyd lze ze zhomogenizovaného vzorku vytěsnit destilací s vodní párou. Po převedení na 2,4-dinitrofenylhydrazon je možno jej stanovit pomocí kapalinové chromatografie v reverzní fázi. Detekční limit metody je 2,5 ng/ml.

vysokotlaká kapalinová chromatografie (HPLC); formaldehyd; dinitrofenylhydrazony

V poslední době se v rostlinné výrobě zkoumají možnosti použití konzervantů obsahujících formaldehyd. Protože existují obavy zejména z možnosti přechodu formaldehydu z potravy do mléka, které by se mohlo stát technologicky nezpracovatelným, vzneslo MZVŽ ČSSR požadavek, aby bylo zjištěno, jak zkrmování siláží s formaldehydickými konzervanty ovlivní koncentraci formaldehydu v mléce. To vyvolalo potřebu ověřit selektivní a citlivé metody stanovení formaldehydu v biologických materiálech.

Formaldehyd je téměř všudypřítomný. Vzniká přirozeným způsobem v troposféře (Lowe aj., 1981; Volz aj., 1981). Byl nalezen v průmyslových emisích, ve výfukových plynech, tabákovém kouři (Kuwata aj., 1979) i v různých potravinách (Möhler a Denbski, 1970) a pivu (Piendl aj., 1981).

Formaldehyd působí dráždivě na zrak, kůže a horní cesty dýchací (Dally aj., 1981). Za určitých podmínek může tvořit karcinogenní bis-chlorometyléter (Yao a Miller, 1979). National Institute for Occupational Safety and Health (NIOSH) nedovoluje, aby pracovník byl vystaven během 30 minut koncentraci CH_2O vyšší než $1,2 \text{ mg/m}^3$ vzduchu (Girard a Heuser, 1981). Proto byly až dosud publikovány především práce, které se zabývají stanovením formaldehydu ve vzduchu.

V zemědělství se formaldehyd začal používat jako součást konzervačních přípravků, neboť dokáže chránit bílkoviny před mikrobiální degradací. Počátečním krokem reakce je protonace formaldehydu nebo jeho metylénglykolové formy. Následuje rychlá tvorba metylolových sloučenin s koncovými aminoskupinami, ϵ -aminoskupinou lyzínu, primárními aminoskupinami asparaginu a glutaminu, guanidylovou skupinou argininu, hydroxy-skupinami treoninu a serinu, sulfhydrylovou sku-

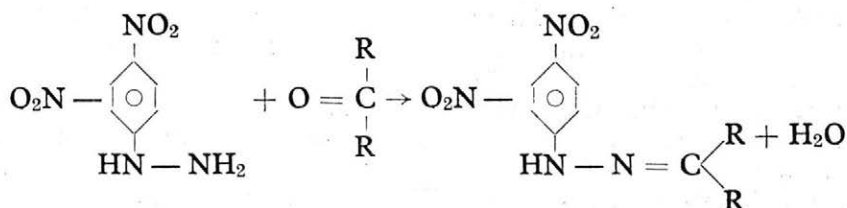
pinou cysteinu, fenolickými skupinami tyrozinu a fenylalaninu, indolovou skupinou tryptofanu a imidazolovou skupinou histidinu. V tomto stadiu je reakce ještě vratná. Potom dochází k pomalému síťování bílkovinných řetězců stabilními metylenovými můstky (Barry, 1976). V biologickém materiálu lze tedy předpokládat formaldehyd ve třech formách — volný (nezreagovaný), reverzibilně vázaný (lze uvolnit hydrolýzou) a nevratně vázaný metylenovými můstky (nelze běžnými technikami stanovit).

V literatuře jsou popsány různé metody stanovení formaldehydu (Davídek aj., 1977; Kitchen s aj., 1976). Jedná se o metody titrační, spektrofotometrické, polarografické i chromatografické. Většina z nich však nemá dostatečnou citlivost a mnohé nejsou specifické pro CH_2O (Rayner a Jephcott, 1961; Davídek aj., 1977). Karbonylové sloučeniny, k nimž CH_2O patří, reagují selektivně s mnoha činidly. Této skutečnosti lze výhodně využít pro jejich předběžnou izolaci ze vzorku. Piendl aj. (1981) použili pro derivatizaci p-nitrobenzyloxyamin-hydrochlorid, dansylhydrazin a 2,4-dinitrofenylhydrazin, Komárek aj. (1981) uvádějí odkazy na použití FFAP, kovových hydridů, o-dianisidinu, benzinu, semikarbazidu, hydroxylaminu a hydrogensířičitanu sodného.

Nejvíce se využívá reakce s 2,4-dinitrofenylhydrazinem (DNPH). Piendl aj. (1981) citují 171 prací, jejichž autoři této reakce pro stanovení karbonylových sloučenin použili. Lowe aj. (1981) se zabývali vlivem teploty, pH a koncentrace vodného roztoku 2,4-dinitrofenylhydrazinu na výtěžek reakce. Zjistili, že pro dosažení 100% výtěžnosti je rozhodujícím faktorem poměr koncentrace CH_2O a činidla. Je-li hmotnostní koncentrace činidla nejméně desetkrát vyšší než koncentrace CH_2O , proběhne při pH 3 za 150 minut 100% reakce bez ohledu na teplotu (v rozmezí 2–22 °C).

Dosud publikované postupy přípravy činidla a derivatizace shrnul Piendl aj. (1981). Nejvyšší výtěžky dávají metody, při nichž se používají roztoky DNPH v kyselině chlorovodíkové a chloristé. Roztoky vzniklých dinitrofenylhydrazonů jsou při skladování ve skle nejméně dva měsíce stálé (Lowe aj., 1980).

Reakce probíhá v kyselém prostředí podle uvedeného schématu:



Vzniklé 2,4-dinitrofenylhydrazony mohou být separovány a stanoveny plynovou nebo kapalinovou chromatografií. O potížích spojených se stanovením pomocí plynové chromatografie se zmiňují Papa a Turner (1972) a Hoshika a Takata (1976). Proto je v poslední době většina prací orientována na použití vysokotlaké kapalinové chromatografie (HPLC). Fung a Grosjean (1981) separovali pomocí HPLC devět DNPH-karbonylových sloučenin, Kuwata aj. (1979) 19 a Greenhoff a Wheeler (1981) 31. Analytický výtěžek (recovery) metody pro CH_2O uvádějí autoři zhruba 96 až 97 % a detekční

limit se pohybuje od 1,1 ng (Fung a Grosjean, 1981) do 0,1 ng/ml (Lowe aj., 1981).

U biologických materiálů je třeba věnovat značnou pozornost izolaci stanovené látky ze vzorku. Problémům kvantitativní analýzy těkavých látek se věnovali Drozd a Novák (1981). Různé izolační postupy vhodně pro těkavé látky uvádějí Davídek aj. (1977).

MATERIÁL A METODY

Veškeré chemikálie byly před použitím zbaveny karbonylových sloučenin. Zvláště velkou pozornost je třeba věnovat přečištění HCl, která jich obsahuje značné množství. K čištění jsme použili postupu, který popisují Davídek aj. (1977).

K izolaci formaldehydu ze vzorku byl použit modifikovaný postup podle Rallse (cit. Davídek aj., 1977). Roztok 2,4 DNPH byl připraven podle Wanga a Sieberta (strong acid methode) (cit. Piendl aj., 1981).

ZPRACOVÁNÍ VZORKU

50 až 300 g vzorku (podle sušiny materiálu) se v mixéru zhomogenizuje s 300 ml destilované vody, prosté karbonylových sloučenin. Do destilační baňky opatřené chladičem se naváží 100 g homogenátu. Vzorek se destiluje s vodní párou za normálního tlaku a destilát se jímá do předlohy s roztokem DNPH. Ústí chladiče je ponořeno pod hladinu činidla. V destilaci se pokračuje, dokud se v činidle tvoří zákal nebo slabá opalescence (prověřuje se roztokem čerstvého činidla). Tímto způsobem se ze vzorku izoluje volný formaldehyd. Nyní se do destilační baňky přidá 30 ml konc. HCl, nasadí se nová předloha s činidlem a v destilaci se opět pokračuje, dokud se v činidle tvoří zákal. Takto se izoluje reverzibilně vázaný formaldehyd, který je schopný se hydrolýzou odštěpit. Po každé destilaci se ústí chladiče pečlivě opláchne chloroformem. Oba roztoky se zpracovávají odděleně. Roztoky se nechají stát přes noc při teplotě 4 °C. Uchovávají se ve skleněných nádobách uzavřených skleněnými zátkami. Potom se sraženina dinitrofenylhydrazonů vytřepe do 3 × 10 ml CHCl₃, extrakt se promyje 5 ml 2N HCl a 3 × 5 ml H₂O. Promytý extrakt se odpaří za vakua při teplotě 30 °C do sucha. Odparek se rozpustí v 10 až 50 ml CHCl₃ a koncentrace přítomných 2,4-dinitrofenylhydrazonů se stanoví pomocí HPLC.

PŘÍPRAVA ČINIDLA

K 1 l 2N HCl se přidá přebytek 2,4-DNPH. Před použitím se činidlo přečistí protřepáním s 3 × 5 ml CHCl₃.

PŘÍPRAVA STANDARDU 2,4-DNPH-CH₂O

K roztoku činidla se přidá několik mililitrů koncentrovaného roztoku formaldehydu. Vzniklá sraženina se nechá stát přes noc při teplotě 4 °C a odsaje se přes skleněnou fritu. Sraženina se promyje 2N HCl a destilovanou vodou. Po vysušení v exsikátoru nad bezvodým Na₂SO₄ se sraženina rozpustí v CHCl₃ a odpaří za vakua při teplotě 30 °C do sucha. U krystalického produktu se stanoví bod tání (tabelovaná hodnota pro 2,4-dinitrofenylhydrazon je 166 °C), popřípadě λ_{max} v chloroformu a 0,25N NaOH (348 a 431 nm).

Takto byly připraveny standardní roztoky dinitrofenylhydrazonu formaldehydu v chloroformu o koncentracích 3,092 mg/ml; 0,9276 mg/ml; 0,09276 mg/ml a 0,03104 mg/ml.

POUŽITÉ PŘÍSTROJE

Použili jsme kapalinový chromatograf typ 8500 s injektorem stop-flow (Varian Assoc., USA), UV-VIS detektor UV-50 s proměnnou vlnovou délkou (Varian Assoc., USA), zapisovač A-25 (Varian Assoc. USA), kolonu Separon SiC₁₈ 10 μ m o rozměrech 250 $\times$ 4,6 mm (Laboratorní přístroje, n. p., Praha, ČSSR) a mikrostříkačky.

PODMÍNKY SEPARACE

Bylo použito mobilní fáze metanol : voda (60 : 40), kolona Separon SiC₁₈ průtok 1,5 ml/min, detekce při vlnové délce λ 360 nm. Nastříkované množství vzorku bylo 5 μ l, posun zapisovače 20 cm/h. Separace probíhala při teplotě laboratoře. Pro kvantifikaci bylo použito metody externího standardu. K výpočtům bylo použito ploch píků.

VÝSLEDKY A DISKUSE

Retenční čas dinitrofenylhydrazonu formaldehydu je 7,5 min za podmínek uvedených v předchozí části. Rozlišení píků formaldehydu a acetaldehydu (R_s) je 1,28, což odpovídá rozlišení na základní linii. Identita píku formaldehydu byla ověřena srovnáním s retenčním časem standardu. Čistota standardu byla potvrzena stanovením bodu tání, což je u dinitrofenylhydrazonů charakteristická hodnota. Stanovená hodnota bodu tání 166 °C souhlasí s hodnotou tabelovanou. Srovnáním s retenčními časy standardů bylo možné v chromatogramu dále identifikovat acetaldehyd (t_R 8,90 min), aceton (t_R 11,54 min) a propionaldehyd (t_R 12,58 min). Pomocí standardních roztoků byla ověřena platnost Lambert-Beerova zákona pro CH₂O-DNPH při 360 nm. Detekční limit byl při nástřiku 5 μ l

I. Reprodukovatelnost měření koncentrace formaldehydu — The reproducibility of formaldehyde concentration measurement

Měření	Materiál			
	ovesná siláž		bachorový obsah	agar
	volný CH ₂ O (μ g/g 100% sušiny)	vázaný CH ₂ O (μ g/g 100% sušiny)	vázaný CH ₂ O (μ g/ml)	celkový CH ₂ O (μ g/ml)
1	12,09	221,88	4,13	211,68
2	12,76	229,43	4,24	182,17
3	12,13	207,88	3,95	194,95
4	—	—	4,28	181,16
5	—	—	3,61	212,51
6	—	—	4,42	214,95
7	—	—	—	189,08
$\bar{x}$	12,33	219,73	4,105	198,07
S_x	0,307	8,93	0,26	13,67
C_x	2,49	4,06	6,43	6,90

a poměru signál: šum 4 : 1 stanoven na 2,5 ng CH₂O/ml. Reprodukovanost metody byla ověřena na vzorcích bacherové šťávy, ovesné siláže a bakteriologické půdy (agaru), do které byl přidán CH₂O. Výsledky jednotlivých stanovení jsou uvedeny v tab. I. Z hodnot byla vypočtena směrodatná odchylka (S_x) a variační koeficient ($C_x\%$).

Výtěžnost (recovery) nelze u biologických materiálů zjistit vzhledem k tomu, že část přítomného CH₂O se na bílkovinu naváže nevratně. Metoda byla použita pro stanovení formaldehydu v silážích z různého materiálu, v bacherových a střevních obsazích, v mléce, krvi, mase i vnitřnostech.

Ve všech případech stanovení byl pík formaldehydu dobře oddělen od ostatních píků v chromatogramu a mohl být dobře kvantifikován. Rozmezí, ve kterém se pohybovala koncentrace CH₂O u jednotlivých typů siláží, je uvedeno v tab. II.

Koncentrace CH₂O v mléce se pohybovala od 0,24 do 0,31 mg/l bez ohledu na druh krmiva, kterým byly dojnice krmeny. Nalezené hodnoty souhlasí s výsledky, které uvádějí Möhler a Denbský (1970). Tito autoři našli spektrofotometrickou metodu v mléce 0,3 mg CH₂O/l.

Koncentrace CH₂O v bacheru a střevě skopců se pohybovaly pro volný i pro vázaný formaldehyd od 1 do 7 µg/ml.

Protože ve vzorku jsou vždy přítomny i jiné karbonylové sloučeniny než formaldehyd, trvá vlastní analýza cca 30 minut. Kromě píku formaldehydu a acetaldehydu nejsou ostatní píky rozlišeny natolik, aby jim odpovídající sloučeniny bylo možné kvantifikovat. V chromatogramech většiny vzorků lze rozeznat šest až deset píků. Při použití účinnější kolony by bylo možné dosáhnout lepšího rozlišení těchto píků, aniž by se podstatně prodloužila doba analýzy. Identifikace a kvantifikace píků by mohly přispět zejména k hodnocení kvality silážní hmoty a k posouzení,

II. Koncentrace formaldehydu v různých druzích siláží — Formaldehyde concentrations in different kinds of silage

Materiál	Počet stanovení	Koncentrace CH ₂ O ve 100% sušině	
		volný (mg/kg)	vázaný (mg/kg)
Ovesná siláž			
bez konzervantu	5	3–10	150–290
konzervant SILKO	11	12–47	200–290
Vojtěšková siláž			
bez konzervantu	4	1,5–6	80–190
konzervant SILKO	8	3–60	60–350
Bramborová siláž			
bez konzervantu	2	6–7	55–60
konzervant SILKO	7	6–80	100–160
Řízková siláž			
bez konzervantu	10	14–20	25–50
konzervant SILKO	18	30–150	100–500

projevili se změna koncentrací těchto látek v krmivu změnou jejich koncentrace v mléce. Zároveň by se zvýšilo množství informací získaných z jednoho chromatogramu.

ZÁVĚR

Kapalinovou chromatografii lze použít pro stanovení formaldehydu v biologických materiálech. Metoda je zcela selektivní a umožňuje stanovit nanogramová množství formaldehydu. Při použití dostatečně účinné kolony je možné touto metodou stanovit i další karbonylové sloučeniny.

Literatura

- BARRY, T. N.: The effectiveness of formaldehyde treatment in protecting dietary protein from rumen degradation. *Proc. Nutr. Soc.*, 35, 1976, s. 221-229.
- DALLY, K. A. — HANDRAHAN, L. P. — WOODSBURY, M. A. — KANAREK, M. S.: Formaldehyde exposure in nonoccupational environments. *Arch. envir. Hlth*, 36, 1981, č. 6, s. 277-284.
- DAVÍDEK, J. a kol.: Laboratorní příručka analýzy potravin. SNTL Praha, Stát. nakl. technické literatury 1977, s. 404-418.
- DROZD, J. — NOVÁK, J.: Nepřímé stanovení těkavých složek kondenzovaných materiálů analýzou koexistující plynné fáze. *Chem. Listy*, 75, 1981, č. 11, s. 1148-1169.
- FUNG, K. — GROSJEAN, D.: Determination of nanogram amounts of carbonyls as 2,4-dinitrophenylhydrazones by High-Performance Liquid Chromatography. *Analyt. Chem.*, 53, 1981, s. 168-171.
- GIRARD, J. E. — HEUSER, J. R.: Determination of formaldehyde in air by an HPLC method. *Varian Instruments at Work*, No. LC 132, 1981.
- GREENHOFF, K. — WHEELER, R. E.: Analysis of beer carbonyls at the part per billion level by combined liquid chromatography and high pressure liquid chromatography. *J. Inst. Brew.*, 86, 1981, s. 35-41.
- HOSHIKA, Y. — TAKATA, Y.: Gas chromatographic separation of carbonyl compounds as their 2,4-dinitrophenylhydrazones using capillary columns. *J. Chromatogr.*, 120, 1976, s. 379-389.
- KITCHENS, J. F. — GASNER, R. E. — EDWARDS, G. S. — HARWARD, III., W. E. — MACRI, B. J.: Investigation of selected potential environmental contaminants: Formaldehyde. U. S. Dept. of Commerce NTIS, PS-256839, 1976.
- KOMÁREK, K. — ROŠOVÁ, J. — CHURÁČEK, J.: Analýza směsí obsahujících některé karbonylové sloučeniny reakční plynovou chromatografií. *Chem. Listy*, 76, 1981, č. 2, s. 200-210.
- KUWATA, K. — UEBORI, M. — YAMASAKI, Y.: Determination of aliphatic and aromatic aldehydes in polluted airs as their 2,4-dinitrophenylhydrazones by high performance liquid chromatography. *J. chromatogr. Sci.*, 17, 1979, s. 264-268.
- LOWE, D. C. — SCHMIDT, U. — ENHALT, D. H.: A new technique for measuring tropospheric formaldehyde (CH₂O). *Geophys. Res. Lett.*, 7, 1980, č. 10, s. 825-828.
- LOWE, D. C. — SCHMIDT, U. — EHHALT, D. H.: The tropospheric distribution of formaldehyde. *Ber. Kernforsch.-anl. Jülich*, 1981, č. 1756, s. 5.
- LOWE, D. C. — SCHMIDT, U. — EHHALT, D. H. — FRISCHKORN, C. G. B. — NÜRNBERG, H. W.: Determination of formaldehyde in clean air. *Envir. Sci. Technol.*, 15, 1981, s. 819-823.
- MÖHLER, K. — DENBSKY, G.: Zur Bestimmung des Formaldehyds in Lebensmitteln. *Z. Lebensm.-Unters. Forsch.*, 1970, s. 109-120.
- PAPA, L. J. — TURNER, L. P.: Chromatographic determination of carbonyl compounds as their 2,4-dinitrophenylhydrazones. *J. chromatogr. Sci.*, 10, 1972, s. 744-747.
- PIENDL, A. — WESTNER, H. — GEIGER, E.: Bedeutung der Aldehyde, als Flavour-Verbindungen und apparativer Aufbau eines HPLC-Mossplatzes. *Brauwissenschaft*, 34, 1981, č. 3, s. 62-70.

PIENDL, A. — WESTNER, H. — GEIGER, R.: Hochdruckflüssigkeitschromatographische Bestimmung von Aldehyden in Modellösungen als Dansyl-Hydrazon- und Dinitrophenylhydrazon-Derivate. Brauwissenschaft, 34, 1981, č. 5, s. 117-131.

PIENDL, A. — WESTNER, H. — GEIGER, E.: Vergleich verschiedener Derivatbildungsmethoden bei der Bestimmung von Aldehyden in Modellösungen mittels Hochdruckflüssigkeitschromatographie (HPLC). Brauwissenschaft, 34, 1981, č. 6, s. 159-166.

RAYNER, A. C. — JEPHCOTT, C. M.: Microdetermination of formaldehyde in air. Analyt. Chem., 33, 1961, s. 627-630.

VOLZ, A. — ENHALT, D. H. — DERWENT, R. G.: Seasonal and longitudinal variation of ^{14}CO and the tropospheric concentration of OH radicals. J. geophys. Res., 86, 1981, s. 5163-5171.

YAO, C. C. — MILLER, G. C.: Research study on bis(chloromethyl)ether formation and detection in selected work environments. DHEW (NIOSH) Pub. No 79-118, Cincinnati, OH, 1979.

Došlo dne 16. 1. 1984

БАРТКО, А. — ПАР, О. — ПРШИКРЫЛ, Я. (Научно-исследовательский институт питания животных, Погоржелице): Применение жидкостной хроматографии для определения формальдегида в биологических материалах. Veter. Med. (Praha), 29, 1984 (8): 503-509.

Формальдегид можно из гомогенизированного образца вытеснить путем дистилляции с водяным паром. После перевода на 2,4-динитрофенилгидразон его можно определить при помощи жидкостной хроматографии в реверсивной фазе. Детекционный лимит метода равен 2,5 нг/мл.

высоконапорная жидкостная хроматография (HPLC); формальдегид; динитрофенилгидразоны

BARTKO, A. — PÁR, O. — PŘIKRYL, J. (Research Institute of Animal Nutrition, Pohořelice): *The Use of Liquid Chromatography for the Determination of Formaldehyde in Biological Materials*. Veter. Med. (Praha), 29, 1984 (8): 503-509.

Formaldehyde can be displaced from a homogenized sample by steam distillation. After transfer to 2,4-dinitrophenylhydrazone it can be determined by liquid chromatography in reverse phase. The detection limit of the method is 2.5 ng/ml.

high-pressure liquid chromatography (HPLC); formaldehyde; dinitrophenylhydrazones

Adresy autorů:

RNDr. Alexander Bartko, Výzkumný ústav pivovarský a sladařský, Mostecká 7, 614 00 Brno

Ing. RNDr. Oldřich Pár, CSc., ing. Jaroslav Přikryl, CSc., Výzkumný ústav výživy zvířat, 691 23 Pohořelice

Upozorňujeme čtenáře, že v čísle 9 časopisu

VETERINÁRNÍ MEDICÍNA

mají být uveřejněny články:

- L. Holý: Submukózní vestibulo-vaginální aplikace cloprostenolu (Oestrophan-Spofa) u krav ve vztahu k říjové aktivitě, koncepci a hladinám progesteronu v mléce
- J. Říha, A. Pavlok, J. Fulka, V. Landa: Oplození vajíček a kvalita embryí při získávání *post mortem*
- F. Tremel, Z. Šebek, K. Hejliček: Plošné rozšíření protilátek proti leptospirám v jednotlivých zemědělských závodech okresu, zjišťované na základě sérologického vyšetření jatečného skotu a prasat
- L. Leng, K. Boďa, K. T. Tašenov, R. S. Karimbaev, E. K. Makašev, S. A. Rachimberdiev, D. K. Tlegenov, L. A. Jurgalieva: Renálna regulácia exkrécie močoviny u hladujúcich tiav
- M. Molnárová, J. Arendarčík, P. Molnár: Vplyv protrahovaného celotelového gama žiarenia 6,7 Gy a 4,8 Gy (700 a 500 R) na trypsín inhibičnú aktivitu (TIA) krvi, cervikálneho hlienu a morfológickú štruktúru cervixu bahníc
- L. Vysloužil, K. Seidl, J. Švarcová, V. Landsmannová: Nález *Corynebacterium equi* Magnusson 1923 v souvislosti s úhyny hříbat ve Východočeském kraji
- J. Mouka, J. Konrád: Nutrie — technika fixace a odběru krve pro laboratorní účely

Upozorňujeme čtenáře, že v čísle 10 časopisu

VETERINÁRNÍ MEDICÍNA

mají být uveřejněny články:

- M. Pastrnková, D. Ryšánek: Závislost počtu somatických buněk v bazénových vzorcích na prevalenci kontagiózních mastitid ve velkých stádech
- M. Valent: Zmeny acidobázických indexov v krvi dojníc v závislosti od sezónnej skladby krmnej dávky a fázy reprodukčného cyklu
- J. Gabriš, E. Dunčáková, J. Mattová: Obsah celkových aminokyselín v mlieku kráv a ich vzťah k množstvu vyprodukovaného mlieka
- Z. Knotek, S. Navrátil, M. Maňásková, P. Forejteck: Zabřezávání prasniček a prasnic během roku ve vztahu k vybraným ukazatelům makroklimatu
- J. Pleva, R. Cabada, P. Maľa, P. Turek: Predikcia PSE mäsa ošípaných meraním pH na živom zvierati a jeho korelácia s aktivitou kreatinkinázy
- J. Arendarčík, M. Molnárová: Účinok niektorých hormonálnych prípravkov na superovuláciu a pasáž vajčok u bahníc
- V. Svobodová, M. Svoboda, M. Nevoľe: Výskyt kokciidií u psů z Brna a okolí
- M. Krajčovičová - Kudláčková, O. Dibák: Vplyv vysokého príjmu tukov u rôznych vekových kategórií potkanov na utilizáciu bielkovín

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.

DANILEVSKIJ, V. M.

E 43.735

Spravočník po veterinarnoj terapii.

Moskva, Kolos 1983. 191 s. (Veterinární terapie — veterinární léčiva — nemoci nakažlivé — příručka)

E 43.742

BELOV, A. D. — BELJAKOV, I. M. — LUK'JANOVSKIJ, V. A.

Fizioterapija i fizioprofilaktika boleznej životnych.

Moskva, Kolos 1983. 205 s., 107 obr., 32 tab. (Nemoci hospodářských zvířat — fyzioterapie — fyzioprofylaxe — veterinární profylaktika — příručka)

HORSCH, M.

E 38.066/1090

Die Stickstoffanalyse — ein Lungenfunktionstest in der Diagnostik alveolärer Ventilationsstörungen beim Pferd. Inaug. — Diss. d. Tierärztl. Hochschule Hannover.

Hannover, Tierärztl. Hochschule 1983. 122 s., obr., tab. (Kůň — dýchací ústrojí — funkce — metody — dusík — analýza — výzkum — NSR — disertační práce)

HACKMANN, F.

E 38.006/980

Zur Östrus- und Ovulationsterminierung beim Pferd. Einfluss eines Prostaglandin F₂ alpha Analogs (K 11941) sowie der Palpation auf klinisch bedeutsame Reproduktionsparameter bei der Stute. Inaug. — Diss. Tierärztl. Hochschule Hannover. Res. angl., něm.

Hannover, n. vl. 1982. 84 s., 12 obr., 13 tab. (Klisna — pohlavní cyklus — prostaglandin F₂ — analog 11941 — použití — vliv — výzkum — NSR — disertační práce)

FRIES, I.

E 32.333/1109

Die Verbreitung von Askariden und Strongyliden in Berliner Pferdebeständen. Inaug. — Diss. d. Freien Universität Berlin.

Berlin, Freie Universität 1982. 86 s., obr., tab. (Kůň — cizopasníci — škrkavkovití a zubovkovití — výskyt — NSR — oblast Berlína — výzkum — disertační práce)

OBSAH

Simon M., Abrhámová D., Dušinský R., Boďa K.: Cytotoxické protilátky proti lymfocytárnym antigénom hovädzieho dobytku . . .	449
Říha J.: Využití vyřazených krav jako dárců embryí . . .	457
Pícha J., Barcikowski B., Píchová D., Míka J., Olša T.: Účinnost séra březích klisen na luteální tkáň skotu . . .	465
Kmeť V., Boďa K., Kravjanský I.: Adherencia bakterií na epitelální bunky bacherovej steny . . .	473
Kozumplík J., Vlček Z.: Vliv apramycinu na bakteriální kontaminaci a přežitelnost semene kance během krátkodobé konzervace . . .	479
Pleva J., Gorzová A., Saladiová D., Rogovská E.: PSE a DFD maso u brojlerových kuřat . . .	489
Olbrichová D., Zouharová A., Buriánková E.: Využití ionizujícího záření ke sterilizaci mléčné krmné směsi Selasan . . .	495
Bartko A., Pár O., Přikryl J.: Použití kapalinové chromatografie pro stanovení formaldehydu v biologických materiálech . . .	503

СОДЕРЖАНИЕ

Симон М., Абргамова Д., Душински Р., Бодя К.: Цитотоксические антитела против лимфоцитарных антигенов крупного рогатого скота . . .	449
Ржига Я.: Использование выбракованных коров как доноров эмбрионов . . .	457
Пиха Я., Барциовски Б., Пихова Д., Мика Й., Олша Т.: Действие сыворотки жеребых кобыл на лутеальные ткани крупного рогатого скота . . .	465
Кметь В., Бодя К., Кравянски И.: Адгерентность бактерий к эпителиальным клеткам стенки рубца . . .	473
Козумплик Я., Влчек З.: Влияние апрамицина на бактериальное загрязнение и на выживаемость спермы хряка в течение кратковременного консервирования . . .	479
Плева Я., Горзова А., Саладиова Д., Роговска Е.: PSE и DFD мясо бройлерных цыплят . . .	489
Олбрихова Д., Зоугарова А., Бурианкова Е.: Применение ионизирующего излучения для стерилизации молочной кормосмеси Селасан . . .	495
Бартко А., Пар О., Прикрыл Я.: Применение жидкостной хроматографии для определения формальдегида в биологических материалах . . .	503

CONTENTS

Simon M., Abrhámová D., Dušinský R., Boďa K.: Cytotoxic Antibodies to Bovine Lymphocyte Antigens . . .	449
Říha J.: The Use of Culled Cows as Embryo Donors . . .	457
Pícha J., Barcikowski B., Píchová D., Míka J., Olša T.: The Effectiveness of Pregnant Mare Serum on Bovine Luteal Tissue . . .	465
Kmeť V., Boďa K., Kravjanský I.: The Adherence of Bacteria to the Epithelial Cells of Rumen Wall . . .	473
Kozumplík J., Vlček Z.: The Effect of Apramycin on the Bacterial Contamination and Survival of Boar Semen Subjected to Short-Term Preservation . . .	479
Pleva J., Gorzová A., Saladiová D., Rogovská E.: PSE and DFD Meat in Broiler Chickens . . .	489
Olbrichová D., Zouharová A., Buriánková E.: The Use of Ionizing Radiation for the Sterilization of Selasan Milk Replacer . . .	495
Bartko A., Pár O., Přikryl J.: The Use of Liquid Chromatography for the Determination of Formaldehyde in Biological Materials . . .	503

Rukopisy odevzdány k tisku 4. 5. 1984 — Podepsáno k tisku 25. 6. 1984

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.