

VĚDECKÝ ČASOPIS



VETERINÁRNÍ MEDICÍNA

**K životnímu jubileu
akademika Otto Jaroslava Vrtiaka**

11

ROČNÍK 29 (LVII)
PRAHA
LISTOPAD 1984
CENA 10 Kčs
CS ISSN 0390-5214

ČESKOSLOVENSKÁ AKADEMIE ZEMĚDĚLSKÁ
ÚSTAV VĚDECKOTECHNICKÝCH INFORMACÍ
PRO ZEMĚDĚLSTVÍ

Vědecký časopis

VETERINÁRNÍ MEDICÍNA

Řídí redakční rada:

akademik Otto Jaroslav Vrtiak (předseda), akademik Koloman Boďa, MVDr. Miroslav Dvořák, CSc., prof. MVDr. Ján Elečko, CSc., MVDr. Miloš Halaša, CSc., prof. MVDr. Jozef Hrušovský, DrSc., prof. MVDr. Dagmar Ježková, DrSc., doc. MVDr. Evžen Jurák, CSc., prof. MVDr. Ladislav Polák, CSc., MVDr. Josef Straka, CSc., prof. MVDr. Bohumil Ševčík, DrSc.

Za vedení časopisu odpovídá akademik Otto Jaroslav Vrtiak

Redaktorka ing. Jovanka Václavíčková

© Ústav vědeckotechnických informací pro zemědělství,
Praha 1984

■

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

■

Научный журнал VETERINÁRNÍ MEDICÍNA публикует обзоры, анализы и научные статьи о решенных задачах по научному исследованию в области ветеринарии. Издает Чехословацкая сельскохозяйственная академия — Институт научно-технической информации по сельскому хозяйству. — Выход в свет ежемесячно. Редакция 120 56 Прага 2, 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. Published by the Czechoslovak Academy of Agriculture — Institute of Scientific and Technical Information for Agriculture. Issued monthly. Editorial office 120 56 Prague 2, Slezská 7.

Životní jubileum akademika Otto Jaroslava Vrtiaka

Dne 1. listopadu 1984 se dožil v plné tvůrčí činnosti 60 let předseda redakční rady našeho časopisu, rektor Vysoké školy veterinární v Košicích akademik Otto Jaroslav Vrtiak. Patří k předním vědecko-pedagogickým pracovníkům resortu školství a celý svůj život zasvětil práci ve veterinárním lékařství.

Od ukončení vysokoškolského studia na Vysoké škole veterinární v Brně v roce 1951 pracuje soudruh akademik Vrtiak dodnes na Vysoké škole veterinární v Košicích. Prošel více místy vysokoškolského učitele a od roku 1972 je jejím rektorem. Bezprostřední činnost na jednotlivých katedrách mu umožnila poznat potřeby veterinární medicíny, potřeby zemědělství, jejich problémy a stala se velkým impulsem k jeho další práci v pedagogice a ve výzkumu.

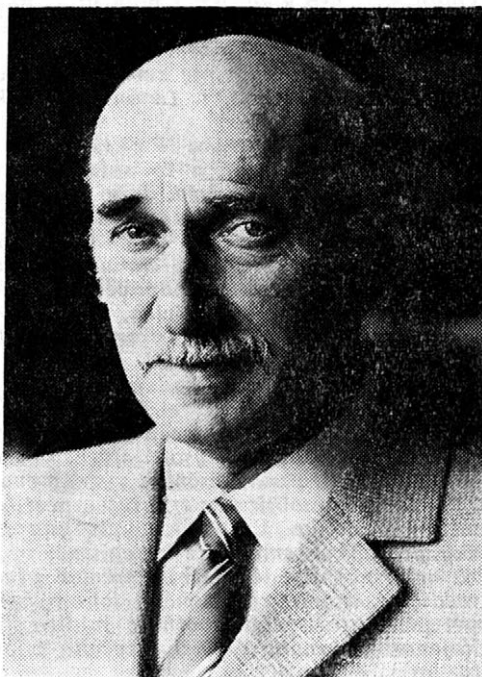
Požadavek akademika Vrtiaka na novelizaci nomenklatury funkcí stanovených kvalifikačním katalogem zemědělství je nanejvýš aktuální a nutný - systemizovat v potravinářských i zemědělských podnicích absolventy vysokých škol veterinárních, profesi veterinární lékař, veterinární lékař-hygienik, veterinární lékař-biotechnolog; všichni jsou připravováni na své poslání na základě společenské objednávky resortních orgánů.

Ve vědeckovýzkumné práci akademika Vrtiaka se odrážejí hluboké teoretické znalosti příslušných vědních disciplín i smysl pro konkrétní praktické řešení úkolů veterinárního lékařství v praxi. Zasloužil se o úspěchy československých veterinárních věd v boji proti nakažovým chorobám. Vyhranil koncepci tohoto vědního oboru a rozvinul rozsáhlou vědeckovýzkumnou a výchovně vzdělávací činnost. Pozoruhodné úspěchy zaznamenal ve studiu myxovirových infekcí ptáků, když jako jeden z prvních izoloval chřipkový virus A z kachen a prostudoval podíl chlamydií v etiologii chorob drůbeže, telat a holubů. S kolektivem katedry zavedl do diagnostiky čistě tuberkuliny a rozvinul výzkumnou činnost v oblasti vztekliny a veterinární onkologie.

Nové širší souvislosti se projevíly v jeho řídicí výzkumné práci v době, kdy se stal ředitelem Ústavu experimentální veterinární medicíny v Košicích. Úzké spojení s interdisciplinárním výzkumem ho vedlo k tomu, aby zkoumal a řešil problémy efektivnosti vědeckovýzkumné práce, její organizace a jejího řízení a aby se věnoval novým otázkám veterinární služby vůbec. Ve své práci vytvořil zásadní předpoklady pro řešení vzájemných vztahů mezi zemědělskými, lékařskými a veterinárními vědami. Neustále iniciativně vytváří podmínky nejen pro rozvoj vědeckých poznatků, ale dbá i o to, aby se výsledky výzkumů dostávaly do praxe.

Je třeba podtrhnout význam požadavku akademika Vrtiaka, aby vědecká zařízení včetně vysokých škol měla dostatečně dobudované vazby na společenskou praxi, v nichž nesmí chybět ani vlastní realizační základny — polovýrobní či výrobní provozy, konstrukční kanceláře apod. V SSR bychom k tomu našli mnohé příklady, jak jubilat sám připomíná.

Vedle jeho dlouholeté řídicí činnosti ve vedoucích funkcích je nutno ocenit i jeho osobní přínos jako vědeckovýzkumného pracovníka. Publikoval více než 300 experimentálních prací, je spoluautorem několika monografií, např. Tuberkulóza zvířat (1963), Všeobecná epizootologie (1972), Nádorové choroby zvířat (1973); byl vedoucím autorského kolektivu celostátní učebnice Nakažlivé choroby hospodářských zvířat (1972) a další.



Po celou dobu své řídící činnosti vede kolektivy spolupracovníků k rozvoji teoretické práce, k vysoké výkonnosti a především ke konkrétní pomoci veterinární praxi. Jubilantovy rozsáhlé znalosti a organizační schopnosti jsou využívány v mnoha odborných funkcích, z nichž uvádím jen nejvýznamnější. Je předsedou komise vlády SSR pro koordinaci boje proti nemocem přenosným ze zvířat na lidi, od roku 1973 je členem předsednictva Slovenské akademie věd a byl předsedou vědeckého kolegia pro biologicko-zemědělské vědy, je prvním místopředsedou a členem prezidia Československé akademie zemědělské, od roku 1978 je členem Vsesvazové akademie zemědělských věd V. I. Lenina v Moskvě a od roku 1983 členem Maďarské akademie věd.

V osobě akademika Vrtiaka se střetávají vlastnosti vynikajícího pedagoga, vědce a organizátora, a to nejen ve veterinárních a lékařských vědách, ale také ve sféře biologických věd. Jeho oddanost československé vědě, věrnost vedoucí síle naší společnosti — Komunistické straně Československa, správný soudružský vztah ke spolupracovníkům na jakémkoliv stupni oblasti vědy, výzkumu a pedagogie se staly krédem jeho života. Na něm se zakládá jeho příkladná mravní síla, optimismus a vědomí vysoké odpovědnosti. Projevilo se to např. při budování Vysoké školy veterinární v Košicích, při budování katedry infekčních chorob této školy, při založení Ústavu experimentální veterinární medicíny a v mnoha dalších případech.

Dosavadní práce akademika Vrtiaka je založena na politické uvědomělosti, angažovanosti při realizaci politiky KSČ v oblasti vědy, výzkumu, pedagogie a vůbec při budování naší socialistické společnosti. Za tuto obětavou a záslužnou vlasteneckou práci obdržel vysoká státní vyznamenání — Řád práce, Národní cenu a řadu dalších našich i zahraničních vyznamenání a medailí.

Je velmi obtížné ve zkratce postihnout všechny stránky plodného tvůrčího života akademika Vrtiaka, všechny sféry jeho bohaté činnosti, činnosti společensky prospěšné, směřující k realizaci vědeckovýzkumného poznání jednotlivých oborů veterinárního lékařství. Jménem všech členů redakční rady časopisu Veterinární medicína a jménem čtenářů tohoto časopisu přeji akademiku O. J. Vrtiakovi při příležitosti jeho životního jubilea hodně tvůrčích sil, pevné zdraví, osobní spokojenost a mnoho dalších úspěchů v oblasti pedagogiky, vědy a výzkumu.

Prof. MVDr. Jozef Hrušovský, DrSc.

BESNOTA CHRČKOV ROĽNÝCH (*CRICETUS CRICETUS*) NA SLOVENSKU

Š. Švrček, R. Ondrejka, K. Mlynarčíková, J. Švec

ŠVRČEK, Š. — ONDREJKA, R. — MLYNARČÍKOVÁ, K. — ŠVEC, J. (Vysoká škola veterinárská, Košice; Ústav experimentálnej veterinárnej medicíny, Košice): *Besnota chrčkov roľných (Cricetus cricetus) na Slovensku*. Veter. Med. (Praha), 29, 1984 (11) : 643-652.

Pokusy boli vykonané v rámci komplexného štúdia ekológie vírusu lyssy. Počas kalamitného premnoženia chrčkov roľných vo Východoslovenskom kraji boli tieto v celkovom počte 283 kusov vyšetrené na besnotu. Priamou metódou imunofluorescencie (PMIF) bol rabický antigén detekovaný v mozgu piatich chrčkov. Inokulačným testom na cicajúcich myšiach boli izolované tri kmene vírusu (označené 3 O, 7 E, 9 E). Izolované kmene (na základe detekcie nukleoproteínového antigénu PMIF, resp. jej inhibície, detekcie Babešových-Negriho teliesok, určenia neutralizačného indexu, titrácie na myšiach a určenia inkubačnej doby) boli identifikované ako uličné kmene vírusu besnoty. Na základe podrobnejšieho štúdia ich biologických vlastností (určenie indexu invazivity na zvieratách v rozdielnej miere vnímavých voči vírusu besnoty, stanovenia patogenity pre rôzne druhy laboratórnych zvierat, rôznej hmotnostnej kategórie, pri rozdielnych spôsoboch aplikácie, indexu invazivity) zaraďujeme „chrčie“ kmene medzi stredne virulentné, resp. so zníženou virulenciou. Najvirulentnejší z troch študovaných „chrčích“ kmeňov (3 O) pri intramuskulárnej aplikácii vyvoláva smrteľný priebeh besnoty líšok obyčajných a mačiek domácich; pre vlkov, psov a králikov je apatogénny. U líšok a mačiek sa nachádza aj v slinných žľazách. Nami študované „chrčie“ kmene vytvárali pri imunofluorescenčnej detekcii rabického nukleoproteínového antigénu zmiešaný obraz fluoreskujúcich partikul, charakteristický pre uličné kmene.

vírus lyssy; biologické vlastnosti vírusu lyssy; patogenéza lyssy; distribúcia vírusu lyssy; chrček roľný

Napriek tomu, že besnota je jednou z najstarších známych infekčných chorôb a jej všestrannému štúdiu sa venuje veľká pozornosť, doterajšie znalosti o tejto významnej zoonóze sú neúplné. Najmenej preštudovanou je ekológia vírusu lyssy.

Na základe súčasného stavu poznania zahŕňa besnota podľa Maľkova (1976), v zmysle základných koncepcií Pavlovského (1939, 1946, 1960) o prírodnej ohniskovosti chorôb ľudí a zvierat, netransmisívnu zoonózu voľne žijúcich zvierat a synantropnú zoonózu domácich zvierat, pričom v závislosti od viacerých určujúcich ekologických podmienok prevláda jedna alebo druhá forma. Podobne aj Kantorovič (1976) rozdeľuje ohniská besnoty na dva základné typy: 1. prírodné ohniská — ohniská besnoty voľne žijúcich zvierat; 2. antropourgické ohniská — ohniská besnoty domácich a hospodárskych zvierat. Pri sídliskovej [urbánnej] forme besnoty sú pramene nákazy uniformné

na celom svete (psy, mačky). Naproti tomu pri silvatickej — lesnej besnote v závislosti od zvláštností prírodných podmienok prameňom nákazy sú rôzne druhy *Carnivora* a *Chiroptera*. V súčasnom období v Európe prevláda besnota voľne žijúcich zvierat, pričom rozhodujúci je podiel tzv. líščej besnoty. Údaje o význame líšky obyčajnej v súčasnej epizootológii besnoty sme zhrnuli v našej predchádzajúcej práci (Švrček a i., 1982), vrátane historického aspektu tohoto problému a vlastných experimentálnych štúdií.

V tejto štúdii uvádzame sumárne údaje o výsledkoch izolácie vírusu besnoty z chrčkov roľných (*Cricetus cricetus*) počas ich kalamitného premnoženia vo Východoslovenskom kraji (Grulich 1973, 1975; Švrček a i., 1972, 1980), výsledky štúdia biologických vlastností troch izolovaných kmeňov (Alexander a i., 1977, 1981), vrátane výsledkov porovnávacieho štúdia patogenézy besnoty u rôznych druhov zvierat infikovaných „chrčmi“ kmeňmi (Alexander a i., 1981). Práca bola vykonaná v rámci komplexného štúdia ekológie vírusu besnoty, sčasti v medzinárodnej spolupráci (Mal'kov a i., 1978).

MATERIÁL A METÓDA

VYŠETROVANÝ MATERIÁL, ISOLÁCIA A IDENTIFIKÁCIA VÍRUSU

V rokoch 1972 a 1973 počas kalamitného premnoženia chrčkov roľných vo Východoslovenskom kraji sme na besnotu vyšetrili 283 chrčkov odchytených v živom stave alebo nájdených uhynutých v siedmich lokalitách. Pri pitve získaný materiál (mozog, vrátane predĺženej miechy a podčelustné slinné žľazy) sme priamou metódou imunofluorescencie (PMIF) vyšetrili na prítomnosť rabického antigénu (Dean, 1966). Izolačné pokusy sme vykonali metódou inokulačného testu na cicajúcich myšiach (Koprowski, 1966). Rovnakým spôsobom sme vyšetrili aj 16 krčkov obyčajných (*Talpa europea*).

Tri izolované vírusové kmene (označené 3 O, 7 E, 9 E) sme v predbežných pokusoch identifikovali. Pre porovnanie sme použili uličný „líščí“ kmeň vírusu besnoty označený 1151 a kmeň CVS. K identifikácii sme použili tieto metódy: PMIF k detekcii nukleoproteínového rabického antigénu v mozgu uhynutých myší, resp. dôkaz špecificity inhibíciou priamej metódy imunofluorescencie (IPMIF); detekciu Babešových-Negriho teliesok v mozgu experimentálne infikovaných zvierat (Selimov a i., 1964; Tierkell, 1966); určenie neutralizačného indexu (Johnson, 1966); titráciu na myšiach o hmotnosti 6 až 8 g a určenie inkubačnej doby.

URČENIE BIOLOGICKÝCH VLASTNOSTÍ ISOLOVANÝCH KMEŇOV VÍRUSU

K pokusom sme použili prvú, resp. piatu sériovú myšiu mozgovú pasáž uvedených troch kmeňov vírusu besnoty, izolovaných z chrčkov. Pokusy boli zamerané na štúdium patogenity a virulencie izolovaných „chrčích“ kmeňov, ich adaptáciu a fixáciu. Index invazivity sme určovali v pokusoch na 6 až 8-gramových a 12 až 15-gramových myšiach, morčatách a potkanoch. Titráciu študovaných kmeňov sme vykonali metódou intramuskulárnej infekcie uvedených druhov zvierat (do žuvacieho a stehenného svalstva). Bola sledovaná tiež dĺžka inkubačnej doby a overená patogenita pre králiky domáce pri intramuskulárnej infekcii. Pre porovnanie boli použité uvedené referenčné kmene vírusu besnoty (uličný 1151 a CVS).

PATOGENÉZA EXPERIMENTÁLNEJ BESNOTY LÍŠOK OBYČAJNÝCH A MAČIEK DOMÁCICH

Pokusy boli vykonané na líškach obyčajných, mačkách domácich (po 9 kusoch), vlkoch obyčajných, psoch domácich a králikoch domácich (po 2 kusoch). K infekcii

uvedených zvierat sme použili „chrčí“ kmeň vírusu besnoty označený 3 O (v predchádzajúcich pokusoch bol najvirulentnejší). Zvieratá sme infikovali intramuskulárne do žuvacieho svalstva; tie, čo klinicky ochoreli, sme podrobili pitve. Pri pitve boli odobraté časti mozgu, miechy, periférneho nervstva a parenchymatóznych orgánov; PMIF sme detekovali rabický antigén, inokulačným testom vírus besnoty. Pri pozitívnom výsledku sme vykonali intracerebrálnu titráciu na myšiach.

DISTRIBÚCIA RABICKÉHO ANTIGÉNU V CNS POTKANOV A MYŠÍ

V pokusoch sme použili tri „chrčie“ kmene vírusu besnoty a „líščí“ kmeň 1151 (pre porovnanie). Zvieratá sme infikovali subkutánne do horného pysku v dávke, ktorá v predpokuse vyvolala 100% mortalitu. Vždy tri kusy infikovaných zvierat sme v 24-hodinových (myši), resp. 72-hodinových interyaloch (potkany) usmrtili éterom a pitvou získali jednotlivé časti CNS. V otláčkových preparátoch farbených PMIF sme detekovali rabický antigén.

VÝSLEDKY

V rokoch 1972 a 1973 bolo v siedmich lokalitách Východoslovenského kraja [Zemplínska Branč, Trebišov, Čaňa, Pavlovce, Krivošská Liesková, Seňa a Haniska] odchytených v živom stave alebo nájdených uhynutých 283 chrčkov rolných a v dvoch lokalitách [Zemplínske Hradište a Čaňa] 196 krtoz obyčajných. Z celkového počtu 14 chrčkov odchytených alebo nájdených mŕtvych v Zemplínskej Branči sme PMIF detekovali rabický antigén v mozgu troch chrčkov. V rovnakých prípadoch boli inokulačným testom izolované tri kmene vírusu (3 O, 7 E, 9 E). PMIF sme rabický antigén detekovali tiež v dvoch prípadoch z celkového počtu 132 vyšetrených mozgov chrčkov z Čane. Inokulačným testom však nebol vírus izolovaný. Pri vyšetrení slinných žliaz chrčkov boli zaznamenané negatívne výsledky. Rovnako negatívne boli výsledky vyšetrenia 196 krtoz obyčajných.

Tri nami izolované „chrčie“ kmene (označené 3 O, 7 E, 9 E) sme na základe detekcie rabického nukleoproteínového antigénu PMIF v mozgu infikovaných myší, dôkazu špecifity PMIF pomocou IPMIF, dôkazu Babešových-Negriho teliesok v mozgu experimentálne infiko-

I. Niektoré biologické vlastnosti kmeňov vírusu besnoty izolovaných z chrčkov rolných — Some biological properties of the strains of rabies virus isolated from hamsters

Kmeň, pôvod	PMIF ⁺	Tvorba B.-N. teliesok	Inhibícia PMIF	Index neutralizácie	log MICLD ₅₀	Inkubačná doba
3 O (<i>Cricetus cricetus</i>)	+	+	+	3,7	5,2	12
7 E (<i>Cricetus cricetus</i>)	+	±	+	3,9	7,3	7
9 E (<i>Cricetus cricetus</i>)	+	+	+	3,8	5,4	15
1151 (<i>Vulpes vulpes</i>)	+	+	+	3,7	5,1	15
CVS (Paříž)	+	—	+	4,0	7,3	6

legenda: ⁺) priama metóda imunofluorescencie

vaných zvierat, určenia neutralizačného indexu, titrácie na myšiach o hmotnosti 6 až 8 g a určenia inkubačnej doby identifikovali ako vírus besnoty. Výsledky uvádzame v tab. I. Vzájomne sa však líšia svojimi vlastnosťami. Pri kmeni 7 E predpokladáme vysoký stupeň atenuácie.

Podrobnejšie štúdium biologických vlastností „chrčích“ kmeňov vírusu besnoty ukázalo, že všetky tri sú vysoko patogénne pre obidve nami použité hmotnostné kategórie myši, a to či už pri intracerebrálnej, subkutánnej alebo pri obidvoch lokalizáciách intramuskulárnej infekcie (žuvacie a stehenné svalstvo). Najnižšie titre sme zaznamenali pri intramuskulárnej infekcii, zvlášť pri inokulácii do stehna. Patogenita pre morčatá bola o niečo nižšia ako pre myši, najnižšia bola pre potkan. Pre králiky boli chrčie kmene pri intramuskulárnej aplikácii apatogénne. Tieto poznatky sú v súlade s údajmi Goršunovej (1962) o nízkej vnímavosti potkanov a králikov. Dôležitým ukazovateľom virulencie je periferická aktivita kmeňa vírusu besnoty (Vanag, 1963), resp. index invazivity. Kmene s hodnotou indexu menej ako 3 hodnotíme ako virulentné, viac ako 4 — nízkovirulentné, pri hodnote 3—4 — stredne virulentné. Na základe tohoto kritéria zaraďujeme nami študované tri „chrčie“ kmene medzi stredne virulentné, resp. so zníženou virulenciou. Výsledky uvádzame v tab. II. Podobne môžeme hodnotiť tieto kmene na

II. Index invazivity kmeňov vírusu besnoty izolovaných z chrčkov roľných na myšiach o hmotnosti 6 až 8 g (prvá myšia mozgová pasáž) — Invasiveness index of the „hamster“ strains of rabies virus on mice weighing 6 to 8 g (the first murine cerebral passage)

Kmeň	log MICLD ₅₀	log MSCLD ₅₀	Index invazivity
3 O	10 ^{-4,3}	10 ^{-1,8}	2,0
7 E	10 ^{-6,4}	10 ^{-2,9}	4,0
9 E	10 ^{-4,4}	10 ^{-1,1}	3,7
1151	10 ^{-3,5}	10 ^{-1,1}	4,8
CVS	10 ^{-6,5}	10 ^{-2,6}	4,4

základe dĺžky inkubačnej doby. O stupni adaptácie a fixácie súdime na základe indexu invazivity v prvej a piatej sériovej myšej mozgovej pasáži. Výsledky ukázali vzostup hodnôt, čo svedčí o fixácii. Výnimku tvoril kmeň 7 E, u ktorého bol vzostup hodnôt vysoký už v prvej pasáži.

Z výsledkov porovnávacieho štúdia patogenézy besnoty zvierat experimentálne infikovaných vyplýva, že najvirulentnejším kmeňom z troch nami izolovaných „chrčích“ kmeňov je kmeň označený 3 O, ktorý vyvoláva smrteľné ochorenie líšok a mačiek; pre vlkov, psov a králikov je apatogénny.

Pri postmortálnom vyšetrení ôsmich líšok sme vírus besnoty, resp. rabický antigén detekovali vo všetkých vyšetrených častiach CNS a *n. ischiadicus*. Z extraneurálnych orgánov sme rabický antigén dokázali u všetkých zvierat v podčelustných slinných žľazách; v ostatných orgánoch a tkanivách sa vyskytoval iba jednotlivo. Podobné boli aj výsledky izolácie vírusu inokulačným testom na myšiach. Podrobnejšie su-

III. Distribúcia rabického antigénu a reizolácia vírusu besnoty u ôsmich líšok obyčajných experimentálne infikovaných „chrčím“ kmeňom 3 0 — Distribution of rabies antigen and re-isolation of rabies virus in eight foxes experimentally infected with “hamster” strain 3 0

Orgán	PMIF		Biologický pokus	
	pozit.	negat.	pozit.	negat.
Kôra mozgu	8	0	8	0
Ammonove rohy	8	0	8	0
Mozoček	8	0	8	0
Predĺžená miecha	8	0	8	0
Lumbálna miecha	8	0	8	0
<i>N. ischiadicus</i>	8	0	8	0
Svalstvo stehna	4	4	0	8
Koža nozdier	8	0	0	8
Podčelustné slinné žľazy	8	0	8	0
Pečeň	4	4	0	8
Slezina	4	4	0	8
Pľúca	8	0	0	8
Srdce	3	5	0	8
Oblička	5	3	0	8
Rohovka	8	0	—	—
Jazyk	3	5	1	7
Oko ⁺)	8	0	8	0

Legenda: PMIF — priama metóda imunofluorescencie

⁺) — celé oko, vrátane rohovky

márne výsledky sú uvedené v tab. III. Sú takmer zhodné s výsledkami distribúcie rabického antigénu a vírusu u siedmich mačiek (tab. IV), ktoré uhynuli po experimentálnej infekcii. Bola vykonaná tiež titrácia vírusu besnoty v CNS (mozog) a v podčelustných slinných žľazách (tab. V).

V poslednej časti práce zameranej na štúdium distribúcie rabického antigénu v CNS vytvárali „chrčie“ kmene zmiešaný obraz fluoreskujúcich partikúl, charakteristický pre uličné kmene. Na rozdiel od myší mala u potkanov (vzhľadom na ich nižšiu vnímavosť voči vírusu besnoty a na predpokladané zníženie virulencie študovaných kmeňov) prvá detekcia rabického antigénu proťahovaný charakter.

DISKUSIA

V súčasnom období sa v epizootológii silvatickej besnoty a ekológii vírusu besnoty v Európe pripisuje mimoriadny význam líške obľúbenej. Dôvody pre to sme uviedli v našej predchádzajúcej práci (Š v r č e k

IV. Distribúcia rabického antigénu a reizolácia vírusu besnoty u siedmich mačiek domácich experimentálne infikovaných „chrčím“ kmeňom 3 0 — Distribution of rabies antigen and re-isolation of rabies virus in seven cats experimentally infected with “hamster” strain 3 0

Orgán	PMIF		Biologický pokus	
	pozit.	negat.	pozit.	negat.
Kôra mozgu	7	0	7	0
Ammonove rohy	7	0	7	0
Mozoček	7	0	7	0
Predĺžená miecha	7	0	7	0
Lumbálna miecha	7	0	7	0
<i>N. ischiadicus</i>	7	0	7	0
Svalstvo stehna	4	3	0	7
Koža nozdier	7	0	0	7
Podčelustné slinné žľazy	7	0	7	0
Pečeň	4	3	0	7
Slezina	4	3	0	7
Plúca	7	0	0	7
Srdce	3	4	0	7
Oblička	5	2	0	7
Rohovka	7	0	—	—
Jazyk	5	2	0	7
Oko ⁺⁾	7	0	7	0

Legenda: PMIF — priama metóda imunofluorescencie

⁺⁾ — celé oko, vrátane rohovky

a i., 1982). Napriek tejto jednoznačne uznávanej koncepcii viaceré aspekty ekológie vírusu lyssy nie sú náležite preskúmané a zovšeobecnené. Zdá sa veľmi pravdepodobné, že nové poznatky z ekológie vírusu lyssy by bolo možné získať na základe široko koncipovaného výskumu možnej úlohy hlodavcov, prípadne ďalších mikromamálií.

V rámci komplexného štúdia problematiky lyssy zvierat, vrátane ekológie vírusu, sme svoju pozornosť upriamili okrem iného na možnú úlohu chrčkov roľných. Naše práce do určitej miery nadväzujú na štúdie v Čechách, v poslednej dobe zosumarizované v práci S o d j u a i. (1982). V citovanej práci sú v primeranej miere zhrnuté aj dostupné údaje svetového písomníctva o problematike besnoty u jednotlivých druhov radu *Rodentia*; preto nepokladáme za potrebné ich opakovane uvádzať.

Pri vyšetrení 283 chrčkov na besnotu sme PMIF detekovali rabický antigén v mozgu v piatich prípadoch, v troch prípadoch sme biologickým pokusom na cicajúcich myšiach (bez subpasáží) izolovali vírusové kme-
ne z mozgu chrčkov odchytených alebo nájdených uhynutých v chotári obce Zemplínska Branč (okres Trebišov). Výsledky izolačných pokusov

V. Výsledky postmortálnej titrácie (i. c. na myšiach o hmotnosti 6—8 g) vírusu besnoty v CNS a v podčelustných slinných žľazách líšok obyčajných a mačiek domácich experimentálne infikovaných kmeňom 3 0 — The results of the post-mortem titration (i. c. on mice with the weight of 6—8 g) of rabies virus in the CNS and in the submaxillary salivary glands of foxes and cats experimentally infected with strain 3 0

Zviera	Číslo	Titer vírusu	
		CNS	podčelustné slinné žľazy
Líšky	1	10 ^{-3,6}	10 ^{-3,8}
	2	10 ^{-4,1}	10 ^{-4,3}
	3	10 ^{-3,8}	10 ^{-3,5}
	4	10 ^{-3,8}	10 ^{-4,4}
	5	10 ^{-4,3}	10 ^{-4,1}
	6	10 ^{-3,1}	10 ^{-3,4}
	7	10 ^{-3,7}	10 ^{-3,7}
	8	10 ^{-2,8}	10 ^{-2,8}
Mačky	1	10 ^{-3,5}	10 ^{-3,8}
	2	10 ^{-4,0}	10 ^{-4,1}
	3	10 ^{-3,8}	10 ^{-3,2}
	4	10 ^{-3,9}	10 ^{-4,2}
	5	10 ^{-4,3}	10 ^{-4,0}
	6	10 ^{-3,6}	10 ^{-3,7}
	7	10 ^{-3,7}	10 ^{-3,7}

z podčelustných slinných žliaz chrčkov boli negatívne. V ďalších štúdiách zameraných na objasnenie významu ďalších hlodavcov a iných mikromamálií boli na našom pracovisku vyšetrené na besnotu stovky zvierat. Okrem iného z lokalít Zemplínske Hradište a Čaňa bolo vyšetrených 196 krtoťov obyčajných (*Talpa europea*) s negatívnym výsledkom. Niektoré práce predpokladali aj detekciu antirabických protilátok metódou vírusneutralizačného testu. Tieto vyšetrenia boli tiež negatívne, s výnimkou štyroch prípadov, keď sme u troch druhov (*Sorex araneus*, *Microtus arvalis* a *Vulpes vulpes*) detekovali protilátky v titri 1 : 8. Jednalo sa o zvieratá klinicky zdravé. PMIF u nich nebol detekovaný rabický antigén a inokulačným testom nebol izolovaný vírus besnoty.

Izolované vírusové „chrčie“ kmene boli na základe platných kritérií (detekcie nukleoproteínového antigénu PMIF v mozgu infikovaných uvedenými kmeňmi, tiež jej inhibície referenčným antirabickým sérom, detekcie Babešových-Negriho teliesok, stanovenia neutralizačného indexu, titrácie na myšiach a inkubačnej doby) identifikované ako uličné kmene vírusu besnoty.

Ďalej sme pomerne podrobne študovali tri nami izolované „chrčie“ kmene vírusu besnoty. Na základe biologických vlastností (patogenity pre jednotlivé druhy laboratórnych zvierat, rôzne hmotnostné kategórie

zvierat, virulencie, periferickej aktivity, rýchlosti adaptácie a fixácie) ich môžeme charakterizovať ako stredne virulentné, prípadne ako kmene so zníženou virulenciou.

Pre štúdium patogenézy experimentálnej besnoty u cieľových druhov zvierat (líšok obyčajných a mačiek domácich) sme z troch „chrčích“ kmeňov vybrali najvirulentnejší (kmeň označený 3 O). Pri intramuskulárnej infekcii sme pozorovali smrteľné ochorenie mačiek domácich (v 18. až 34. dni po infekcii z deviatich infikovaných ochorelo sedem) a líšok obyčajných (v 20. až 21. dni všetkých deväť infikovaných zvierat ochorelo). Pre porovnanie sme v pokuse použili tiež po dvoch kusoch psov domácich, vlkov obyčajných a králikov domácich. Tieto zvieratá klinicky neochoreli.

Pri postmortálnom laboratórnom vyšetrení experimentálne infikovaných mačiek a líšok sme osobitnú pozornosť venovali distribúcii rabického antigénu (detekovanému PMIF) a vírusu besnoty (detekovanému a titrovanému inokulačným testom na myšiach). Výsledky ukázali prítomnosť v pomerne vysokom titri aj v podčeľustných slinných žľazách, čo je z hľadiska epidemiologického a epizootologického mimoriadne významné. V tejto súvislosti pripomíname, že pôvodne z chrčkov nebola primoizolácia z podčeľustných slinných žliaz úspešná.

Robiť závery o potenciálnom význame besnoty chrčkov roľných v ekológii vírusu besnoty na základe našich výsledkov by bolo predčasné. Štúdia bola vykonaná v oblasti so stacionárnym výskytom besnoty a s veľmi nízkou epizootologickou denzitou, ktorá je charakteristická pre celé územie Slovenska (Matouch a Švrček, 1982).

Literatúra

- ALEXANDER, R. — ŠVRČEK, Š. — VRTIAK, O. J.: Izučenie biologičeskich svojstv štamov virusa bešenstva vydelennych iz chomjakov obyknovennyh (*Cricetus cricetus*). Folia veter., 21, 1977, č. 1-2, s. 213-227.
- ALEXANDER, R. — ŠVRČEK, Š. — VRTIAK, O. J. — ONDREJKA, R. — BENÍŠEK, Z. — ZÁVADOVÁ, J.: Patogenéza experimentálnej rabickej infekcie líšok obyčajných a mačiek domácich infikovaných vírusom izolovaným z chrčkov roľných (*Cricetus cricetus*). Veter. Med. (Praha), 26, 1981a, č. 4, s. 233-246.
- ALEXANDER, R. — ŠVRČEK, Š. — VRTIAK, O. J. — ONDREJKA, R. — BENÍŠEK, Z. — ZÁVADOVÁ, J.: Distribúcia rabického antigénu v CNS potkanov a myší experimentálne infikovaných kmeňmi vírusu besnoty izolovanými z chrčkov roľných (*Cricetus cricetus*). Veter. Med. (Praha), 26, 1981b, č. 5, s. 271-278.
- DEAN, D. J.: The fluorescent antibody test. In: Lab. techniques in rabies. Geneva, WHO 1966, s. 59-68.
- GORŠUNOVA, L. P.: Estestvennaja rezistentnost' k bešenstvu i antirabicheskoj immunitet. [Avtoreferat dokt. diss.] Moskva 1962.
- GRULICH, I.: Přemnožení křečka na východním Slovensku v r. 1971. Vesmír, 52, 1973, s. 323-327.
- GRULICH, I.: Populační exploze křečka polního (*Cricetus cricetus* L.) na východním Slovensku v roce 1971. Zpr. ÚKZÚZ, 9, 1975, s. 15-23.
- JOHNSON, H. N.: The serum-virus neutralization test. In: Lab. techniques in rabies. Geneva, WHO 1966, s. 81-84.
- KANTOROVIC, R. A.: Sovremennye problemy ekologii i prirodnej očagovosti bešenstva. In: GALUZO, I. G. (ed.): Prirodnoočagovye antropozoonozy. Omsk 1976, s. 59-60.
- KOPROWSKI, H.: Mouse inoculation test. In: Lab. techniques in rabies. Geneva, WHO 1966, s. 69-80.
- MALKOV, G. B.: O sovremennyh ekologičeskich aspektach problemy prirodnogo bešenstva. In: GALUZO, I. G. (ed.), 1976: Prirodnoočagovye antropozoonozy. Omsk 1976, s. 57-58.

MALKOV, G. B. — VRTIAK, O. J. — MAČIČKA, O. — SELIMOV, M. A. — LICHARD, M. — VORONIN, Ju. K. — ŠVRČEK, Š. — BIRČAK, O. — ALEXANDER, R. — DUDIČ, A. — ONDREJKA, R. — RANDÍK, A. — ŠTOLLMAN, A. — KLEINERT, J.: Materialy ekologičeskogo i virusologičeskogo issledovanija prirodnogo očaga bešenstva na severo-vostoke Slovakii. In: GALUZO, I. G. (Ed.) 1978: Voprosy prirodnoj očagovosti boleznej. Alma-Ata, AN Kazachskoj SSR 1978, s. 111-118.

MATOUCH, O. — ŠVRČEK, Š.: Die Epizootologie der Tollwut in der ČSSR. Beitr. Jagd. Wildforsch., 12, 1982, s. 191-194.

PAVLOVSKIJ, E. N.: O prirodnoj očagovosti infekcionnyh i parasitarnyh boleznej. Vest. Akad. Nauk SSSR, 1939, s. 98-108.

PAVLOVSKIJ, E. N.: Osnova učenija o prirodnoj očagovosti transmisivnyh boleznej čeloveka. Ž. obšč. Biol., 7, 1946, č. 1, s. 3-33.

PAVLOVSKIJ, E. N.: Sovremennoe sostojanie učenija o prirodnoj očagovosti boleznej čeloveka. In: PAVLOVSKIJ, E. N. (ed.): Prirodnoočagovye bolezni čeloveka. Moskva 1960, s. 6-40.

SELIMOV, M. A. — SEMIONOVA, E. V. — KLJUEVA, E. V.: Sovremennye metody laboratornoj diagnostiki bešenstva. Moskva 1964.

SODJA, I. — LÍM, D. — MATOUCH, O. — SEIDLOVÁ, A. — FARNÍK, J. — ŠVEC, J. — ČERNÝ, J. — KLIMEŠ, A.: Bešenstvo dikich melkich gryzunov v Českoslovakii. Ž. Gig. Epidem. Mikrobiol. Immunol., 26, 1982, s. 122-131.

ŠVRČEK, Š. — VRTIAK, O. J. — GERLACHOV, D. — ALEXANDER, R. — ĐURAN, A.: Príspevok k štúdiu patogenézy a ekológie lyssy. X. výročný zjazd. Brno, ČSSM 1972, s. 124-125.

ŠVRČEK, Š. — ALEXANDER, R. — VRTIAK, O. J. — MAČIČKA, O. — GRULICH, I. — ONDREJKA, R.: Izolacija virusa bešenstva iz chomjaka obyknovennogo (*Cricetus cricetus*) v Českoslovakii. Acta veter. Acad. Sci. hung., 28, 1980, č. 1, s. 21-26.

ŠVRČEK, Š. — VRTIAK, O. J. — MATOUCH, O. — ALEXANDER, R. — ONDREJKA, R.: Die Bedeutung des Rotfuchses in der Epizootologie der Tollwut in Europa. Beitr. Jagd. Wildforsch., 12, 1982, s. 21-26.

TIERKELL, E. S.: Shipment of specimens and techniques for preparation of animal tissues. In: Lab. techniques in rabies. Geneva, WHO 1966, s. 29-37.

VANAG, K. A.: Biologija, morfologija i antigenne svojstva virusa uličnogo bešenstva. [Dokt. diss.] Moskva 1963.

Došlo dňa 18. 7. 1984

ŠVRČEK, Š. — ONDREJKA, R. — MLIŇARČIKOVA, K. — ŠIBEC, J. (Veterinárný inštitút, Košice; Inštitút experimentálnej veterinárie, Košice): **Bešenstvo chomjakov poľových (*Cricetus cricetus*) v Slováku.** Veter. Med. (Praha), 29, 1984 (11): : 643-652.

Iskúšanija provodilisja v ramkah kompleksnogo izučenia ekologii virusa lissy. V period bedstvennogo perenaselenija chomjakov poľových v Vostočnoslovackom rajone, bylo v obščem 283 chomjaka issledovano na bešenstvo. Priamym metodom immuno fluorescencij (PMIF) byl antigen po Rabiцу detektirovan v mozgu pjam chomjakov. Inokulacijonnym testom na sosušich myšax byli izolirovani tri štamma virusa (oboznačennnye 3 O, 7 E, 9 E). Izolirovannnye štammy (na osnove detektirovanija nukleoproteinoovogo antigena PMIF, ili ih ingibicii, detektirovanie telec Babesha-Negri, opredelenie nejtralizacijonnogo indeksa, titracii na myšax i opredelenie perioda inkubacii) byli otoždestveneny kak uličnye štammy virusa bešenstva. Putem bolee podrobnoogo izučenia ih biologičeskich svojstv (opredelenie indeksa napadenija na životnyh v različnoj mere čuvstvitelnyh k virusu bešenstva, opredelenie patogennosti dlia raznyh vidov laboratornyh životnyh, raznoj vesovoj kategorii, pri različnyh sposobah primenenija, indeksa (napadenija) «chomjacie» štammy vključаем v srednju virulentnost', ili s ponizžennoj virulentnost'jo. Samym virulentnym iz treh izučаемых «chomjacyh» štammov (3 O) pri vnutrimyšecnom primenenii vyzvayet smert' bešenstvo lissic obyknovennyh i košek domashnih; dlia volkov, sobak i krolikov javljaetsja apatogennym. U lissic i košek naходитсja takže v sljunnyh železax. Izučаемые nami «chomjacy» štammy sozdavali pri immuno fluorescencijnom detektirovanii nukleoproteinoovogo antigena Rabiца smeshannuju kartinu fljuoresciрующих častej, charakternu dlia uličnyh štammov.

virus lissy; biologičeskije svojstva virusa lissy; patogenez lissy; raspredelenie virusa lissy; chomjak poľovoj

ŠVRČEK, Š. — ONDREJKA, R. — MLYNARČÍKOVÁ, K. — ŠVEC, J. (University of Veterinary Medicine, Košice; Institute of Experimental Veterinary Medicine, Košice): *Rabies in Common Hamster (Cricetus cricetus) in Slovakia*. Veter. Med. (Praha), 29, 1984 (11) : 643-652.

The trials were conducted within the full-scale research on the ecology of lyssa virus. In a period of the mass outbreak of common hamster population in the East Slovakian region, 283 hamsters were examined for rabies. Using the direct immunofluorescence method (DIFM), the rabies antigen was detected in the brain of five hamsters. Three virus strains (denoted as 3 O, 7 E, 9 E) were isolated by means of the inoculation test on sucking mice. On the basis of the detection of the nucleoprotein antigen by DIFM, or its inhibition, detection of the Babes-Negri bodies, determination of the neutralization index, titration on mice and determination of incubation time, the isolated strains were identified as the street strains of rabies virus. As determined by further detailed studies on biological characteristics (determination of the invasiveness index on animals with different susceptibility to rabies virus, determination of pathogenicity for different species of laboratory animals, different weight categories, with different methods of administration, invasiveness index), the "hamster" strains are included among those of intermediate virulence or reduced virulence. At intramuscular administration, the most virulent of the three "hamster" strains studied (3 O) induces a fatal course of rabies in common fox and cat; for wolves, dogs and rabbits it is apathogenic. This strain is also contained in the salivary glands of foxes and cats. In immunofluorescent detection of the rabies nucleoprotein antigen, the "hamster" strains formed a mixed picture of fluorescing particles, characteristic of street strains.

lyssa virus; biological characteristics of lyssa virus; lyssa pathogenesis; distribution of lyssa virus; common hamster

Adresy autorov:

Doc. MVDr. Štefan Švrček, CSc., MVDr. Róbert Ondrejka, MVDr. Katarína Mlynarčíková, Vysoká škola veterinárska, Komenského 73, 041 81 Košice
RNDr. Jaroslav Švec, Ústav experimentálnej veterinárnej medicíny MPVŽ SSR, Dukelských hrdinov 1, 040 01 Košice

VYLUČOVÁNÍ VIRU VZTEKLINY U LIŠEK PO EXPERIMENTÁLNÍ INFEKCI

O. Matouch, J. Jaroš, P. Pohl

MATOUCH, O. — JAROŠ, J. — POHL, P. (Státní veterinární ústav, Liberec): *Vylučování viru vztekliny u lišek po experimentální infekci*. Veter. Med. (Praha), 29, 1984 (11) : 653-658.

U 14 experimentálně infikovaných lišek obecných (*Vulpes vulpes crucigera*) bylo kvalitativně studováno vylučování viru ve slině. K *i. m.* infekci byly použity tři různé uliční kmeny izolované na území ČSR v dávce 50 nebo 5000 MICLD₅₀. Přítomnost viru ve slině byla prokázána u 12 zvířat (86 %) a ve slinné žláze *post mortem* u 13 zvířat (93 %). K vylučování viru ve slině docházelo maximálně dva dny před nástupem klinických příznaků onemocnění a trvalo nejvýše šest dní. Afinita viru k slinné žláze závisela na použitém kmeni a zvyšovala se při použití nižší infekční dávky.

lyssa; uliční virus; klinický obraz; virus ve slině

V posledních desetiletích si na evropském kontinentu dominantní postavení v epizootologii vztekliny udržují lišky. V našich podmínkách se podílejí 91 % na všech pozitivních nálezech a jsou hlavním zdrojem nákazy pro další volně žijící i domácí druhy zvířat. S narůstajícím významem lišky obecné při šíření vztekliny roste i zájem vědců o tento živočišný druh.

Většina experimentálních studií je novějšího data a zaměřuje se na hlubší poznání vzájemného vztahu liška — virus.

Středem zájmu je především vylučování viru v oronazálních sekretech a jeho přítomnost ve slinných žlázách. U přirozeně infikovaných lišek je virus prokazován ve slinné žláze v 90 až 100 % případů (Baer, 1975; Matouch, 1975; Schaaf a Schaaf, 1968; Wandler aj., 1974). Také u experimentálně infikovaných lišek je afinita viru ke tkáni slinné žlázy značná a zjišťované titry mohou převyšovat i titr v CNS (Alexander aj., 1981; Švrček aj., 1977).

Další experimentální studie ukázaly, že obsah viru ve slinné žláze je v recipročním vztahu k infekční dávce. Čím byla použitá infekční dávka nižší, tím vyšší byl finální titr ve tkáni slinné žlázy (Sikes, 1962; Švrček aj., 1972).

Všeobecně se uvádí, že virus se může objevit ve slinné žláze a ve slinách ještě před klinickými příznaky. Blancou aj. (1979b) v rozsáhlé studii stanovili maximální dobu pro objevení viru ve slině šest dní před úhynem a pět dní před objevením prvních symptomů u téhož jedince. Jednalo se však o výjimečný případ. Ostatní literární údaje

o vylučování viru ve slině jsou většinou starší, nebo se týkají jiných druhů zvířat.

V naší práci jsme se zaměřili vedle sledování klinického průběhu na kvalitativní vylučování viru vztekliny ve slině po infekci různými tuzemskými kmeny uličního viru v různých dávkách.

MATERIÁL A METODY

POKUSNÁ ZVÍŘATA

Lišky různého pohlaví byly vykopány z nor a chovány v individuálních klecích. Do pokusu byly použity ve věku osm měsíců až dva roky, o hmotnosti 3,5 až 8 kg. Celkem bylo použito 16 zvířat, z toho devět samců a sedm samic.

VIROVÉ KMENY

V pokuse byly použity tři různé kmeny viru ve formě 10% suspenze originální slinné žlázy. Všechny kmeny pocházely z území CSR a byly označeny takto:

- L-1724/81 — slinná žláza lišky, titr $10^{-5,7}$ MICLD₅₀
- L-5434/81 — slinná žláza jezevce, titr 10^{-5} MICLD₅₀
- L-4078/82 — slinná žláza lišky, titr $10^{-6,3}$ MICLD₅₀

Připravené suspenze s přídatkem antibiotik a 20 % inaktivovaného koňského séra byly uchovány do použití při teplotě -70°C . Před použitím byla provedena titrace a stanovena LD₅₀ na myších o hmotnosti 9 až 12 g při i. c. aplikaci 0,03 ml.

EXPERIMENTÁLNÍ INFEKCE

Lišky byly infikovány i. m. hluboko do krční svaloviny dávkami 50 nebo 5000 MICLD₅₀ v 1 ml ředěné suspenze a chovány v individuálních klecích opatřených fixačním zařízením. Sliny jsme odebírali suchým vatovým tampónem. Po fixaci zvířete a rozevření čelistí jsme vytřeli horní plochu jazyka a podjazyčí. Tampón nasáknutý slinami jsme ponořili do 1 ml PBS roztoku s ATB a 20 % inaktivovaného séra a důkladně vymačkali o stěny zkumavky. Vzorky slin byly odebírány každý den počínaje osmým dnem po infekci a ihned po odběru ukládány při teplotě -70°C . Průkaz viru byl prováděn i. c. inokulací bílých myší vlastního chovu. Specifita úhynu byla kontrolována imunofluorescenčním testem (Dean a Abelse, 1973). Uhynulé lišky byly vždy imunofluorescenčně vyšetřeny a byly podrobeny biologickému pokusu (Koprowski, 1973) z mozku a slinné žlázy.

VÝSLEDKY

Ze 16 infikovaných lišek onemocnělo 14 zvířat. Liška č. 5 uhynula následkem úrazu v inkubační době a zvíře č. 11 přežilo bez klinických příznaků onemocnění 90 dnů. Inkubační doba byla 11 až 48 dní (průměr 24,3) a klinické onemocnění trvalo tři až šest dní (průměr 4,1) — (tab. I).

Prodromální příznaky byly charakterizovány nechutenstvím, neklidem, zdánlivě zvýšeným zájmem o okolí („zvědavost“) a někdy i sténáním a zvýšenou pohybovou aktivitou. Dále se stupňoval neklid a dostavilo se aktivní kousání do předmětů vložených do klece. Charakteristická byla potácivá chůze jako důsledek parézy pánevních končetin. Občas

I. Průběh experimentální infekce u lišek po intramuskulární inokulaci — The course of experimental infection in fox after intramuscular inoculation

Zvíře číslo	Kmen	MICLD ₅₀	Inku- bační doba (dny)	Klinické onemoc- nění (dny)	Vylučo- vání viru (dny)	Izolace	
						z mozku	ze slinné žlázy
1	L-1724	5000	11	3	4	+	+
2	L-1724	50	48	4	6	+	+
3	L-1724	5000	17	4	5	+	+
4	L-1724	50	39	4	6	+	+
5	-L1724	50	úhyn následkem úrazu				
6	L-5434	5000	24	6	3	+	+
7	L-5434	5000	20	4	—	+	—
8	L-5434	5000	23	4	2	+	+
9	L-5434	50	26	5	4	+	+
10	L-5434	50	29	5	6	+	+
11	L-5434	5000	přežití				
12	L-4078	50	26	6	4	+	+
13	L-4078	50	22	4	2	+	+
14	L-4078	5000	17	4	—	+	+
15	L-4078	5000	16	4	3	+	+
16	L-4078	50	22	3	3	+	+

se vyskytly záchvaty agresivity, při nichž lišky vyskakovaly na strop klece a kousaly do mříží, což vedlo až k automutilaci čelistí. Charakteristický byl rovněž častý ochraptělý „rabický“ řev. Často byla pozorována unilaterální nebo oboustranná mydriáza a výhřez třetího víčka. Ojedinele se vyskytlo i požírání trusu. Salivace byla zvýšená a v konečném stadiu se objevoval i samovolný výtok slin. Klinická fáze vrcholila generalizovanou paralýzou s občasnými tonicko-klonickými křečemi a agonií.

Vylučování viru ve slině bylo prokázáno u 12 ze 14 jedinců (86 %) a slinná žláza byla pozitivní u 13 lišek (93 %). U lišky č. 14 nebyl virus prokázán ani ve slině ani *post mortem* ve slinné žláze a zvíře č. 7 nevylučovalo virus, ačkoliv žláza byla pozitivní. Liška č. 11 klinicky neonemocněla a v pozorovací době 90 dnů virus nevylučovala. K vylučování viru docházelo nejvýše dva dny před nástupem klinických příznaků a nejvýše šest dní před úhynem zvířete (obr. 1—3).

Nejvyšší afinitu ke slinné žláze vykazoval kmen L-1724 s průměrnou délkou vylučování 5,25 dne a 1,5denním předstihem před nástupem klinických příznaků. Nejnižší glandotropie byla u kmene L-4078 — vylučování ve slině trvalo v průměru 2,4 dne a začínalo nejdříve s nástupem klinických příznaků nebo jeden až dva dny po nich (obr. 1).

S ohledem na velikost inokula byly u nižší infekční dávky zjišťovány v průměru u všech kmenů vyšší sledované hodnoty. Po aplikaci

zvíře č.	MLD 50	↓ začátek klinického onemocnění
1	5000	-----
2	50	-----
3	5000	-----
4	50	-----
5	50	----- nespecifický úhyn

1. Dynamika vylučování viru ve slině po infekci kmenem L-1724 (plná čára — klinické onemocnění, přerušovaná čára — přítomnost viru ve slině, jednotlivé dílky — dny) — The pattern of virus excretion in saliva after infection with strain L-1724 (solid line — clinical disease, broken line — presence of virus in saliva, segments — days)

zvíře č.	MLD 50	↓ začátek klinického onemocnění
6	5000	-----
7	5000	-----
8	5000	-----
9	50	-----
10	50	-----
11	5000	----- přežití

2. Dynamika vylučování viru ve slině po infekci kmenem L-5434 — The pattern of virus excretion in saliva after infection with strain L-5434

zvíře č.	MLD 50	↓ začátek klinického onemocnění
12	50	-----
13	50	-----
14	5000	-----
15	5000	-----
16	50	-----

3. Dynamika vylučování viru ve slině po infekci kmenem L-4078 — The pattern of virus excretion in saliva after infection with strain L-4078

50 MLD₅₀ byla průměrná inkubační doba 30,3 dne, klinická fáze 4,42 dne a délka vylučování viru 4,42 dne. U dávky 5000 MLD₅₀ byly průměrné hodnoty inkubační doby 18,3 dne, klinické onemocnění trvalo 4,14 dne a délka vylučování ve slině 2,71 dne.

DISKUSE

Experimentální studie, které se zabývají exkrecí viru lyssy do vnějšího prostředí, jsou cenné především z hlediska posouzení přenosových vztahů a úlohy jednotlivých zvířecích druhů pro šíření nákazy. V dostupné literatuře nejsou informace o vylučování viru ve slinách příliš časté, neboť pokusy tohoto druhu jsou limitovány jak technickými možnostmi, tak i vysokým rizikem při manipulaci s rabickými zvířaty.

Naše experimenty byly zaměřeny na objasnění časových relací mezi vylučováním viru ve slině lišek a klinickým průběhem onemocnění. K infekci zvířat byly použity tuzemské uliční kmeny viru z originální slinné žlázy, aby se experiment co nejvíce přiblížil terénním podmínkám.

Námi zjišťovaná inkubační doba 11 až 48 dní je plně v korelaci s údaji jiných autorů [Sikes, 1962; Švrček aj., 1972; Blancou aj., 1979a], jestliže bylo použito stejných infekčních dávek a *i. m.* aplikace. Rovněž reciproký vztah inkubační doby k infekční dávce byl potvrzen. Popsané symptomy vlastního onemocnění odpovídají zhruba údajům francouzských autorů [Blancou aj., 1979a; George aj.,

1980). Na rozdíl od nich jsme nezjišťovali krvavý průjem ani okusování ocasu a vytrhávání chlupů. Nebyl pozorován ani otok hlavy a pruritus v místě vpichu, o kterých se zmiňuje Alexander (1981).

Dálka klinické fáze nebyla ovlivněna velikostí inokula a průměrná délka jejího trvání 4,1 dne byla delší než zjistili Blancou aj. (1979a); tito autoři uvádějí pouze 3,7 dne. Přítomnost viru ve slinné žláze, prokázaná v 93 %, je ve shodě s nálezy, které popisují Wandler aj. (1974) u přirozeně infikovaných lišek. Blancou aj. (1979b) uvádějí po experimentální infekci 100% pozitivitu žláz, ale virus ve slině prokázali pouze v 54 %. Stejní autoři referují o maximální době vylučování ve slině pět dní před nástupem klinických symptomů. V našich pokusech předbýhala přítomnost viru ve slině manifestní onemocnění maximálně o dva dny a vylučování trvalo maximálně šest dní.

Vezmeme-li v úvahu, že se pohybová aktivita lišek na začátku onemocnění ještě zvyšuje (Andral aj., 1982), pak má tato skutečnost značný epizootologický a epidemiologický význam.

Na délce vylučování se výrazně podílela infekční dávka. Při nižší dávce (50 MLD₅₀) byla průměrná délka vylučování 4,42 dne, zatímco u 5000 MLD₅₀ pouze 2,71 dne. Stejným mechanismem může ovlivnit velikost inokula i finální titr (Sikes, 1962; Švrček aj., 1972), což nebylo předmětem naší studie.

Z výsledků naší práce vyplývají i významné rozdíly mezi použitými kmeny. Nejvyšší glandotropii vykazoval kmen L-1724 s průměrnou délkou vylučování 5,25 dne a 1,5denním předstihem vylučování před klinickým onemocněním. U obou dalších kmenů byla délka exkrece 2,4 až 3 dny a její nástup byl zaznamenán v průměru až 1,8 dne po propuknutí choroby.

Skutečnost, že liška č. 11 přežila po dobu 90 dnů, dokumentuje, že ani vysoce vnímaví masožravci nemusí na infekci reagovat uniformně, ale že mohou i přežít nebo vykazovat extrémně dlouho inkubační dobu. Black a Lawson (1970) udávají délku inkubace až 153 dny.

Předkládané výsledky ukazují, že vylučování viru ve slině je závislé nejen na velikosti infekční dávky, ale i na biologických vlastnostech virového kmene.

Prokázaná možnost vylučování viru v preklinické fázi podtrhuje význam lišek při šíření nákazy. Tuto skutečnost je nutné brát plně v úvahu při posuzování eventuální expozice člověka.

Literatura

- ALEXANDER, R.: Štúdium ekológie vírusu lyssy v ČSSR. [Kandidátska disertačná práca.] Košice 1981. 168 s. — Vysoká škola veterinárska.
- ALEXANDER, R. — ŠVRČEK, Š. — VRTIAK, O. J. — ONDREJKA, R. — BENÍŠEK, Z. — ZÁVADOVÁ, J.: Patogenéza experimentálnej rabickej infekcie líšok obyčajných a mačiek domácich infikovaných vírusom izolovaným z chrčkov roňných (*Cricetus cricetus*). Veter. Med. (Praha), 26, 1981, s. 233-246.
- ANDRAL, L. — ARTOIS, M. F. — AUBERT, A. — BLANCOU, J.: Radio-pistage de renards enrages. Comp. Immunol. Microbiol. inf. Dis., 5, 1982, s. 285-291.
- BAER, G. M.: The natural history of rabies. Vol. II. New York, Acad. Press 1975. 454 s.
- BLACK, J. G. — LAWSON, K. F.: Sylvatic rabies in the silver fox (*Vulpes vulpes*). Susceptibility and immune response. Can. J. comp. Med., 34, 1970, s. 309-311.
- BLANCOU, J. — AUBERT, M. F. A. — ANDRAL, L. — ARTOIS, M.: Rage expé-

rimentale du rénard roux (*Vulpes vulpes*). I. Sensibilité selon la voie d'infection et la dose infectante. Rev. Méd. vétér., 130, 1979a, s. 1001-1015.

BLANCOU, J. — ANDRAL, L. — SAMUDIO, A. — SIVACRISPIM, L.: Rage expérimentale du rénard roux (*Vulpes vulpes*). II. Excrétion du virus rabique après infection. Rev. Méd. vétér., 130, 1979b, s. 1473-1482.

DEAN, D. J. — ABELSETH, M. K.: The fluorescent antibody test. In: Lab. techniques rabies. Geneva, WHO 1973, s. 73-84.

GEORGE, J. P. — GEORGE, J. — BLANCOU, J. — AUBERT, M. F. A.: Description clinique de la rage du rénard. Rev. Méd. vétér., 131, 1980, s. 153-160.

KOPROWSKI, H.: The mouse inoculation test. In: Lab. techniques in rabies. Geneva, WHO 1973, s. 85-93.

MATOUCH, O.: Některé biologické vlastnosti kmenů viru lyssy, izolovaných na území ČSR. [Kandidátská disertační práce.] Košice 1975. 130 s. — Vysoká škola veterinárská.

SCHAAF, J. — SCHAAF, E.: Viruslokalisation bei Tollwut. Dtsch. tierärztl. Wschr., 75, 1968, s. 315-323.

SIKES, R. K.: Pathogenesis of rabies in wildlife. I. Comparative effect of varying doses of rabies inoculated into foxes and skunks. Amer. J. veter. Res., 23, 1962, s. 1041-1052.

ŠVRČEK, Š. — VRTIAK, O. J. — GERLACHOV, D. — ĐURAN, A.: Kvantitatívne štúdium vylučovania vírusu besnoty u niektorých druhov volne žijúcich a domácich mäsožravcov. Polov. Zbor., II., 1972, s. 173-178.

ŠVRČEK, Š. — VRTIAK, O. J. — ALEXANDER, R. — ONDREJKA, R.: Distribúcia vírusu besnoty u perorálne a intramuskulárne infikovaných líšok obyčajných (*Vulpes vulpes*) a mačiek domácich. Folia veter., 21, 1977, s. 229-238.

WANDELER, A. — WACHENDÖRFER, G. — FÖRSTER, V. — KREKEL, H. — MÜLLER, J. — STECK, F.: Rabies in wild carnivores in Central Europe. II. Virological and Serological Examinations. Zbl. Veter.-Med., R. B, 21, 1974, s. 754-764.

Došlo dňa 19. 4. 1984

МАТОУХ, О. — ЯРОШ, Я. — ПОГЛ, П. (Государственный ветеринарный институт, Либерец): Выделение вируса бешенства у лисиц после экспериментальной инфекции. Veter. Med. (Praha), 29, 1984 (11) : 653-658.

У 14 экспериментально зараженных лисиц (*Vulpes vulpes crucigera*) качественно исследовалось выделение вируса в слюне. Для *i. m.* инфекции использовали три разных уличных штаммов изолированных на территории ЧСР в дозе 50, или 5000 MICLD₅₀. Наличие вируса в слюне было доказано у 12 животных (86 %) и в слюне железы посмертно у 13 животных (93 %). Выделение вируса в слюне происходило максимально два дня перед наступлением клинических признаков заболевания и продолжалось не более шести дней. Аффинитет вируса к слюнной железе зависел от использованного штамма и повышался при использовании меньшей инфекционной дозы.

бешенство; уличный вирус; клиническая картина; вирус в слюне

MATOUCH, O. — JAROŠ, J. — POHL, P. (State Veterinary Institute, Liberec): The Excretion of the Rabies Virus by Foxes after Experimental Infection. Veter. Med. (Praha), 29, 1984 (11) : 653-658.

Fourteen foxes (*Vulpes vulpes crucigera*) were experimentally infected with rabies. The excretion of the virus in saliva was subjected to qualitative study. Three different street strains isolated in the territory of the Czech Socialist Republic were used for the intramuscular infection at the doses of 50 or 5000 MICLD₅₀. The presence of the virus in saliva was demonstrated in 12 animals (86 %). Post-mortal examination revealed the virus in the salivary gland of 13 animals (93 %). The virus started to be excreted in saliva maximally two days before the onset of the clinical signs of the disease and it lasted maximally six days. The affinity of the virus for the salivary gland was related to the strain used, and increased when a lower infection dose had been administered.

lysis; street virus; clinical picture; virus in saliva

Adresa autorů:

MVDr. Oldřich Matouch, CSc., MVDr. Jaroslav Jaroš, MVDr. Přemysl Pohl, Státní veterinární ústav, U síla 310, 463 11 Liberec

VLIV DLOUHODOBÉ FYZICKÉ A PSYCHICKÉ VÝCVIKOVÉ ZÁTĚŽE NA ČERVENÝ KREVŇÍ OBRAZ PSA

J. Konrád, M. Cupák, J. Hrušovský, S. Husák

KONRÁD, J. — CUPÁK, M. — HRUŠOVSKÝ, J. — HUSÁK, S. (Vysoká škola veterinární, Brno; Vojenský veterinární doškolovací a výzkumný ústav, Košice): *Vliv dlouhodobé fyzické a psychické výcvikové zátěže na červený krevní obraz psa*. Veter. Med. (Praha), 29, 1984 (11) : 659-668.

U 30 klinicky zdravých psů dvou věkových kategorií jsme studovali vliv fyzické a psychické zátěže v průběhu dlouhodobého výcviku na jednotlivé složky červeného krevního obrazu. Studie ukázala zvýšené hodnoty erytrocytů v protikladu k depresi hodnot hemoglobinu, hematokritu a dalších složek (MCV, MCH, BI, MCHC). Diskuse se zabývá vlivem tréninku, adaptačního procesu, parasympatikotonické formy přetížení, popřípadě kvalitativní nutriční deficiencie jako odrazu studované výcvikové zátěže na určitou insuficienci kvalitní tvorby červeného krevního obrazu, a tím i na možnost negativního zásahu do výkonnosti cvičeného psa.

klinická hematologie; fyziologie výcviku; kynologie

Dosavadní kynologická praxe využívala pouze tradičních způsobů hodnocení fyzického a psychického zatížení psa při různých formách jeho výcviku. Jednalo se především o subjektivní posuzování jeho celkového stavu, chování, příznaků únavy a zájmu o prováděné úkony.

Předložená práce podává výsledky studia vlivu fyzického a psychického zatížení dlouhodobého výcviku na hemopoézu — červený krevní obraz psa a tuto zátěž se snaží objektivizovat.

V literatuře se jen ojediněle setkáváme s pracemi, které by se věnovaly vlivu fyzické zátěže na červený krevní obraz. Zabývají se spíše vlivem zátěže vyvolané transportem, přičemž jsou brány v úvahu i vlivy psychické. Tak *Reece* (1972) zjišťoval u psů, kteří byli od mládí navykáni na běžecký trénink ve „šlapacím mlýnu“, průměrné hodnoty erytrocytů 6,17 mil., hemoglobinu 14 g%, hematokritové hodnoty 44,6 %. Tento trénink zvyšoval obsah hemoglobinu a hematokritovou hodnotu.

Jednorázovou fyzickou zátěží při transportu psů na vzdálenost 300 km se zabývali *Dobšínská a Lehký* (1973). Tito autoři zaznamenali za 12 hodin po transportu signifikantní pokles erytrocytů, hemoglobinu a hematokritové hodnoty a nesignifikantní pokles MCHC. Neprůkazně se zvýšil MCV, MCH zůstal beze změny. Osmý den po převozu se hodnoty erytrocytů, hemoglobinu, hematokritu a MCHC zvýšily nad hodnoty před zahájením převozu. Po 12 dnech došlo k návratu ke klidovým hodnotám, pouze MCV bylo průkazně menší a MCHC naopak vyšší.

Podobný pokus dělala Pokorná [1972] na beaglech. Při tomto pokuse byli psi transportováni v bednách pět hodin na vzdálenost 220 km. Bezprostředně po přesunu počet erytrocytů mírně poklesl, osmý den se opět blížil k výchozí hodnotě, ale nadále zůstal mírně snížený. Hodnoty hemoglobinu měly vlnovitý charakter: počáteční zvýšení se již druhý a pátý den upravilo na klidovou hodnotu, osmý den se však množství hemoglobinu opět zvyšovalo a dále až do 28. dne klesalo pod výchozí hodnoty. Hematokritová hodnota se po transportu signifikantně zvýšila více než o 30 %, od pátého dne se začala vracet k výchozím hodnotám s kolísáním ± 5 %. MCH vykazovalo bezvýznamné kolísání, u MCHC došlo po převozu k prudkému poklesu z 30,8 g% na 24,6 g%, osmý den se však zvýšilo nad klidovou hodnotu (32,3 g%) s dalším již nevýrazným kolísáním. Střední objem červené krvinky se v souladu s hematokritovou hodnotou signifikantně zvyšoval ze 77,4 fl na 105,5 fl, později opět poklesl až na klidové hodnoty.

Podstatně bohatší informace o vlivu pracovního a tréninkového zatížení poskytují údaje o koních (Čerkasova, 1975; Mason a Kwok, 1977). Všeobecně se uvádějí vyšší hodnoty erytrocytů, hemoglobinu a hematokritové hodnoty u trénovaných hříbat (Ócsag, 1971), u pravidelně pracujících koní (Mill a Wolf, 1977), u sportovních koní při zátěži a po ní (Laskov aj., 1973; Krzywaneck aj., 1973; Persson a Ullberg, 1976 a jiní).

Mnoho výsledků samozřejmě získalo i sportovní a pracovní lékařství u lidí (Vinařický aj., 1948; Holmgren aj., 1960; Schönhöfer, 1962; Seliger aj., 1966). Obecně se konstatuje, že při práci nacházíme u lidí v červeném krevním obraze pouze nevýrazné změny, které se pohybují paralelně se změnami koncentrace krevní plazmy jako změny relativní. Pokud se v počtu erytrocytů vyskytují absolutní změny, jsou vyvolány adrenergními podněty působícími na vyplavování krevních elementů z kostní dřeně.

MATERIÁL A METODY

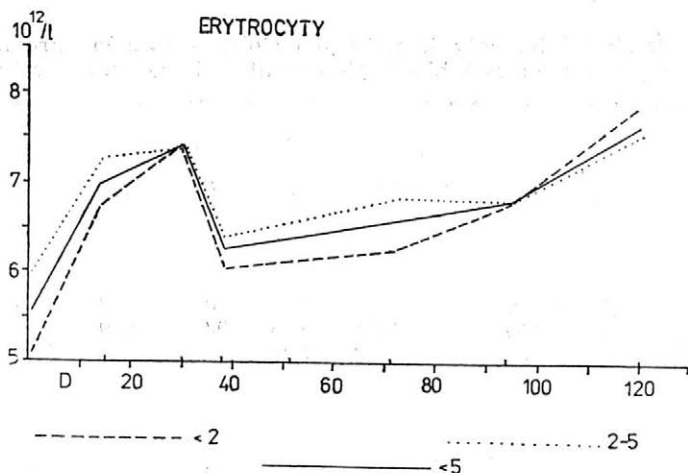
Ke studiu vlivu fyzické a psychické zátěže dlouhodobým výcvikem bylo vybráno 30 psů samčího pohlaví ve věku 13 měsíců až 5 roků. Celkem se uskutečnilo osm odběrů krevních vzorků v průběhu 130 dnů trvání výcviku v časovém intervalu od 13. května do 20. září. Výchozí odběr — kontrolní — jsme dělali před zahájením výcviku, další již během výcviku: po 14 dnech (2. odběr), za 30 dnů (3. odběr), 38 dnů (4. odběr), 51 den (5. odběr), 71 den (6. odběr), 93 dny (7. odběr) a 120 dnů (8. odběr).

CHARAKTERISTIKA VÝCVIKOVÉ ZÁTĚŽE

Úvodní část (14 dnů) probíhala bez zvláštní fyzické zátěže psa — seznamování se s prostředím, vedení, kontakt s psovodem, hra (2. odběr). Další tři týdny již byly věnovány vlastnímu výcviku s prvky poslušnosti s průměrnou intenzitou fyzické i psychické zátěže (3. a 4. odběr). V šestém týdnu výcviku nastupují speciální disciplíny, jako je rozvíjení zloby, nedůvěry, odvahy, zadržování, odvolání, později i práce stopařské až do konce 15. týdne výcviku. Toto období je hodnoceno zátěžově jako průměrné až nadprůměrné (5., 6. a 7. odběr). Následuje komplexní maximálně intenzivní výcvik a příprava ke zkouškám v trvání 14 dnů (8. odběr).

Vzorky krve byly odebírány z *v. saphena* a *v. cephalica antebrachii* v dopoledních hodinách, po ranním nakrmení. Jednotlivé složky červeného krevního obrazu jsme stanovili podle současných hematologických metodik.

1. Výsledné hodnoty počtu erytrocytů — The resultant values of erythrocyte numbers



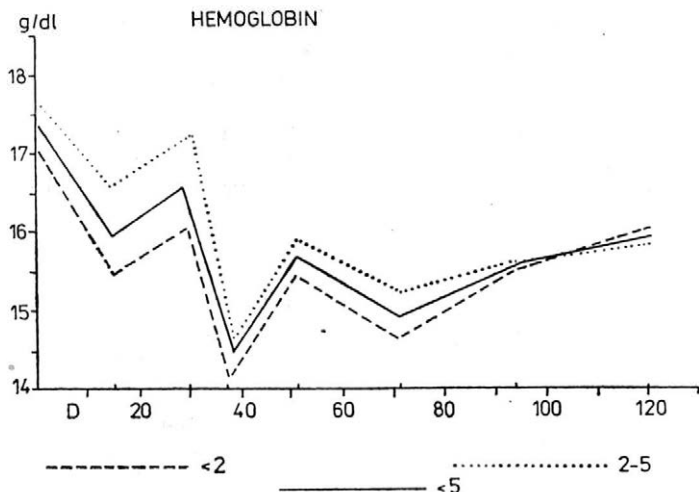
V rámci červeného krevního obrazu byly zjišťovány hodnoty erytrocytů (Ercs. $\cdot 10^{12}/l$), hemoglobinu (Hb — g/dl), hematokritu (HK — l/l), objemu červené krvinky (MCV — fl), barviva červené krvinky (MCH — pg), barevné koncentrace (MCHC — g/dl) a barevného indexu (BI).

Výsledky jsou číselně zpracovány v tabulkách a jejich dynamika je zachycena graficky podle věku psů na skupiny do dvou let, do pěti let a pro celý věkový soubor.

VÝSLEDKY

ERYTROCYTY

Výsledné hodnoty počtu erytrocytů jsou zachyceny v tab. I a na obr. 1. Je z nich patrné, že výcviková zátěž vesměs vyvolává do konce prvního měsíce výcviku podstatné zvýšení počtu erytrocytů; toto zvýšení vrcholí 30. den výcviku a kromě skupiny psů do dvou let věku je statisticky vysoce průkazné. Následný pokles, nedosahující však výchozí hodnoty, je opět sledován postupným zvyšováním počtu erytrocytů u obou věkových kategorií, a to statisticky průkazně až vysoce průkazně. Přitom hodnoty získané 120. den výcviku jsou vyšší než hodnoty v první vrcholové fázi jejich zvýšení (30. den).



2. Hodnoty hemoglobinu — Haemoglobin values

I. Výsledné hodnoty jednotlivých složek červeného krevního obrazu při dlouhodobých psychických a fyzických zátěžích
 components of red blood picture at a long-term psychical and physical load of

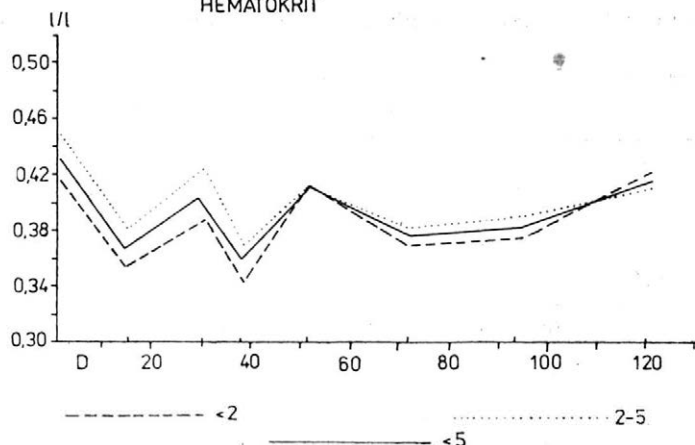
Odběr	1.			2.			3.			4.		
	$\bar{x}$	s	P	$\bar{x}$	s	P	$\bar{x}$	s	P	$\bar{x}$	s	P
Ercs. $10^{12}/l$ (mil./mm ³)												
G < 2	5,07	1,07	-	6,72	1,94	0	7,40	0,89	0,01	6,01	0,63	0,05
G 2-5	5,98	1,71	-	7,21	0,85	0,01	7,39	0,64	0,01	6,36	0,67	0
G < 5	5,72	1,59	-	7,08	1,22	0,01	7,38	0,71	0,01	6,27	0,66	0
Hb g/dl (g %)												
G < 2	17,08	1,62	-	15,32	2,30	0	16,08	1,99	0	14,18	1,73	0,01
G 2-5	17,57	1,71	-	16,59	1,67	0	17,28	1,47	0	14,65	1,59	0,01
G < 5	17,43	1,67	-	16,25	1,90	0,05	17,12	1,69	0	14,52	1,61	0,01
HK l/l (%)												
G < 2	0,41 (41,37	0,05 5,37)	0	0,35 (35,37	0,06 6,47)	0	0,38 (38,75	0,07 7,32)	0	0,34 (34,33	0,04 4,08)	0,05
G 2-5	0,45 (45,10	0,07 7,48)	-	0,38 (38,00	0,04 4,63)	0,01	0,42 (43,31	0,04 4,37)	0	0,36 (36,90	0,05 5,77)	0,01
G < 5	0,44 (44,03	0,07 7,05)	-	0,37 (37,30	0,05 5,20)	0,01	0,41 (41,36	0,05 5,42)	0	0,36 (36,32	0,05 5,48)	0,01
MCV (OČK) fl (μm^3)												
G < 2	84,82	19,52	-	46,13	8,14	0,01	52,38	8,53	0,01	57,48	7,35	0,01
G 2-5	79,27	16,85	-	53,19	7,97	0,01	59,90	11,05	0,01	58,76	8,55	0,01
G < 5	80,86	17,46	-	51,49	8,45	0,01	57,93	10,81	0,01	58,51	8,21	0,01
MCH (BČK) pg (μg)												
G < 2	35,45	9,97	-	20,18	3,96	0,01	22,20	3,98	0,01	23,70	2,98	0,01
G 2-5	31,00	6,38	-	23,19	2,93	0,01	23,46	2,86	0,01	23,17	2,76	0,01
G < 5	32,27	7,65	-	22,46	3,39	0,01	23,12	3,17	0,01	23,31	2,78	0,01
MCHC (B konc.) g/dl (g %)												
G < 2	41,54	3,40	-	43,71	4,07	0	42,49	5,20	0	40,70	1,67	0
G 2-5	39,51	4,29	-	43,91	3,69	0,01	41,07	5,18	0	40,23	5,33	0
G < 5	40,09	4,10	-	43,86	3,73	0,01	41,45	5,13	0	40,32	4,75	0
B index												
G < 2	1,79	0,51	-	1,01	0,20	0,01	1,11	0,19	0,01	1,19	0,14	0,01
G 2-5	1,52	0,34	-	1,16	0,14	0,01	1,17	0,14	0,01	1,17	0,14	0,01
G < 5	1,62	0,39	-	1,12	0,17	0,01	1,16	0,16	0,01	1,17	0,14	0,01

Odběry: 1. — před zahájením výcviku 4. — 38. den výcviku 7. — 93. den výcviku
 2. — 14. den výcviku 5. — 51. den výcviku 8. — 120. den výcviku
 3. — 30. den výcviku 6. — 71. den výcviku

	5.			6.			7.			8.		
	$\bar{x}$	<i>s</i>	<i>P</i>	$\bar{x}$	<i>s</i>	<i>P</i>	$\bar{x}$	<i>s</i>	<i>P</i>	$\bar{x}$	<i>s</i>	<i>P</i>
	+			6,22	0,65	0,05	6,71	1,03	0,05	7,80	1,78	0,01
	+			6,81	1,00	0	6,78	1,29	0	7,47	0,75	0,01
	+			6,65	0,95	0,05	6,76	1,21	0,01	7,56	1,09	0,01
	15,54	1,68	0	14,54	1,91	0,05	15,51	1,87	0	15,75	2,39	0
	15,94	1,43	0,01	15,28	1,74	0,01	15,61	1,60	0,01	15,87	1,86	0,01
	15,84	1,47	0,01	15,11	1,75	0,01	15,52	1,64	0,01	15,84	1,95	0,01
	0,41	0,06	0	0,37	0,03	0	0,37	0,05	0	0,42	0,05	0
	(41,28	6,55)		(37,00	5,82)		(42,00	5,53)		(42,44	5,53)	
	0,41	0,06	0	0,38	0,05	0,01	0,38	0,05	0,01	0,41	0,05	0
	(41,13	6,03)		(38,25	5,50)		(38,95	5,61)		(41,10	5,32)	
	0,41	0,06	0	0,38	0,04	0,01	0,38	0,05	0,01	0,41	0,05	0
	(41,17	6,04)		(38,30	4,78)		(38,59	5,59)		(41,34	5,28)	
	+			60,06	9,28	0,01	56,88	10,49	0,01	55,52	10,64	0,01
	+			56,99	9,66	0,01	58,44	10,90	0,01	55,13	5,63	0,01
	+			57,78	9,48	0,01	58,02	10,60	0,01	55,23	7,07	0,01
	+			23,64	4,44	0,05	23,26	1,28	0,01	20,74	3,64	0,01
	+			22,85	3,96	0,01	23,59	4,03	0,01	21,39	2,70	0,01
	+			23,24	4,21	0,01	23,50	3,47	0,01	21,39	3,14	0,01
	38,34	6,63	0	39,40	4,47	0	42,00	7,77	0	37,48	2,92	0,05
	39,17	3,95	0	42,22	3,90	0,05	41,17	5,46	0	39,37	5,46	0
	38,97	4,61	0	40,01	3,61	0	41,39	6,01	0	38,87	4,92	0
	+			1,19	0,22	0,05	1,16	0,05	0,01	1,03	0,18	0,01
	+			1,14	0,19	0,01	1,18	0,20	0,01	1,07	0,13	0,01
	+			1,16	0,39	0,01	1,17	0,17	0,01	1,06	0,14	0,01

+ = erytrocyty neudělaný

HEMATOKRIT



HEMOGLOBIN

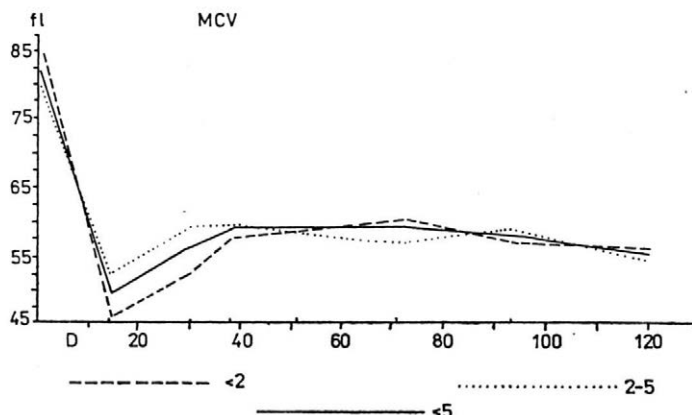
Rovněž hodnoty hemoglobinu vykazují v průběhu celého výcviku značné změny (tab. I, obr. 2). Všeobecně dochází k jeho poklesu s maximem deprese v 38. dnu výcviku až na hodnotu 14,52 g na 100 ml z původní hodnoty 17,43 g na 100 ml u celkového souboru, což je pokles vysoce průkazný. Obdobný pokles se projevuje samostatně i u obou věkových skupin. I když v průběhu dalšího výcviku lze konstatovat mírné zvyšování množství hemoglobinu, nedosahuje již výchozích hodnot. V průběhu celého výcviku lze tedy registrovat tři nápadné výkyvy poklesu hodnot hemoglobinu, a to 14., 38. a 71. den výcvikové zátěže.

HEMATOKRITOVÁ HODNOTA

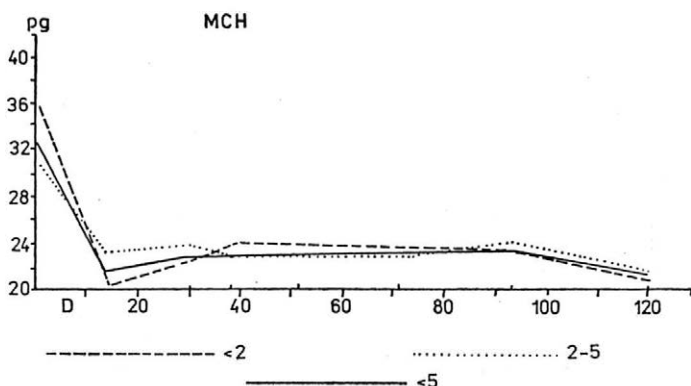
Také u hodnot hematokritu zjišťujeme podobný průběh jako u hemoglobinu, výkyvy však nejsou tak výrazné (tab. I, obr. 3). Statisticky vysoce průkazný pokles se projevuje u hodnot zjišťovaných po 14., 38. a 71. dnu výcviku. Poměrně nevýrazné změny byly registrovány u psů mladší kategorie, ve věku do dvou let.

OBJEM ČERVENÉ KRVINKY

MCV vykazuje již po 14denním výcviku prudký pokles až na 51,49 fl z původní hodnoty 80,86 fl u celého souboru. I když následuje mírný



5. Hodnoty barviva červených krvinek — The values of mean corpuscular haemoglobin



vzestup hodnot, zůstávají po celou dobu výcviku pod úrovní hodnot výchozích, a to statisticky vysoce průkazně (tab. I, obr. 4).

BARVIVO ČERVENÉ KRVINKY

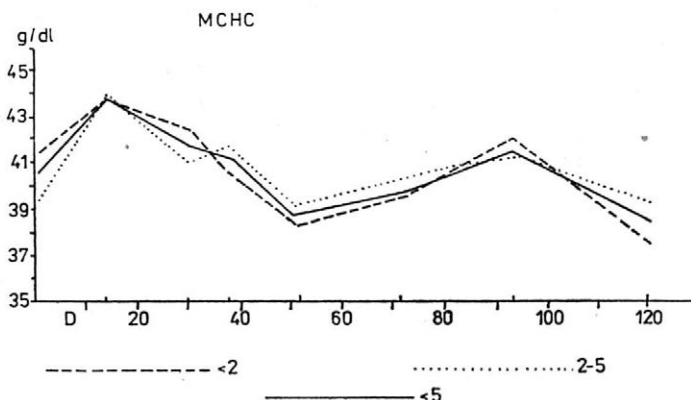
Hodnoty barviva červené krvinky (MCH) zaznamenávají zcela obdobný vývoj, jako je tomu u objemu červené krvinky (tab. I, obr. 5).

BAREVNÁ KONCENTRACE ERYTROCYTŮ

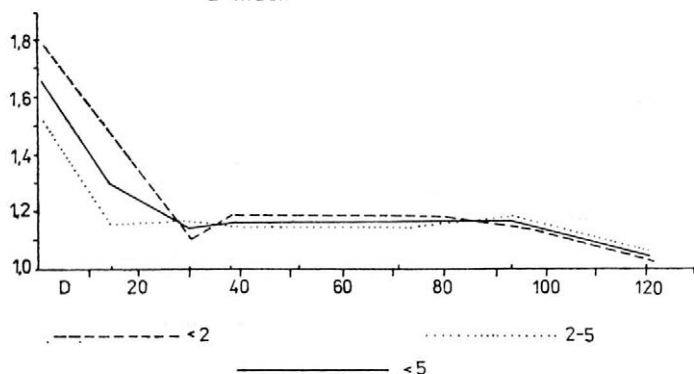
V porovnání s předchozími hodnotami MCV a MCH se u barevné koncentrace (MCHC) hladiny zvyšují již od nástupu výcviku. 14 den dosahují vrcholu se statistickou průkazností, pak až do 51. dne trvá jejich pokles. Dále se udržuje mírný vzestup, ale bez statistické průkaznosti. Pouze u mladých psů je od 93. dne pokles statisticky průkazný (tab. I, obr. 6).

BAREVNÝ INDEX

Hodnoty barevného indexu vcelku odpovídají průběhu, který byl zaznamenán u hodnot MCV a MCH s tím rozdílem, že maximální pokles je u mladých psů zjišťován až po 30. dnu výcviku, zatímco u psů starších již po 14 dnech. Přesto byly nejnižší hodnoty u obou věkových kategorií i u celého souboru naměřeny v konečné fázi výcviku, tj. 120. den při osmém odběru krevních vzorků (tab. I, obr. 7).



6. Barevná koncentrace erytrocytů — Mean corpuscular haemoglobin concentration



DISKUSE

Jestliže se červený krevní obraz hodnotí jako významná součást transportního systému, podílející se na přenosu plynů vnějším a vnitřním dýcháním, pak jeho studium za takových podmínek fyzické a psychické zátěže, jakým je dlouhodobý výcvik služebního psa, má své plné opodstatnění.

V počtu erytrocytů vykazuje výcviková zátěž u obou věkových kategorií psů (do dvou let a starších) vesměs zvýšené hodnoty, u psů starší kategorie dokonce vysoce průkazné. Zvýšené počty erytrocytů na začátku výcviku lze zřejmě zdůvodnit jejich evakuací z krevních zásobáren, jako je slezina a dřevě kostní, protože se vyplavují pravděpodobně humorální regulací v důsledku nedostatečné saturace organismu kyslíkem. Podobné poznatky jsou známé i z tělovýchovného lékařství (Seliger aj., 1966). U lidí jsou však známé i případy snižování počtu erytrocytů v průběhu fyzické zátěže. Netoušek (1962) mluví o tzv. emoční nebo stresové polycytémii (polyglobulii) relativního charakteru jako odezvě na svalovou práci a duševní vypětí.

Pokles počtu erytrocytů k hranici 6 až 7 miliónů v období po 30. dnu výcviku až do 93. dne zátěže lze zřejmě odůvodnit nástupem adaptačních procesů. Bude nutné dále zkoumat, do jaké míry lze druhou fázi elevace erytrocytů v konečném období výcvikové zátěže považovat za důsledek negativního vlivu nadměrného fyzického i psychického zatížení v závěrečné fázi výcviku či za projev postupující trénovanosti na dlouhodobě řízenou výcvikovou zátěž vzhledem k hodnotám hemoglobinu a hematokritu. Podobné názory, hodnotící vyšší hodnoty erytrocytů u trénovaných a pravidelně pracujících koní jako důsledek trénovanosti, citují Ócsag (1971), Mill a Wolf (1977), Persson a Ullberg (1976) a další. Také Reece (1972) zjistil u psů trénovaných již od dvou měsíců věku zvýšené hodnoty erytrocytů.

V hodnotách hemoglobinu byl zaznamenán nápadný pokles, statisticky až vysoce průkazný, třebaže se předpokládalo spíše jeho zvýšení. Zřejmě zde dochází k chudšímu syčení krvinek hemoglobinem, zejména těch, které jsou vyplavovány z kostní dřevě. Jeho pokles umocňuje i hypoxii organismu, což se odráží i v návazném vyplavování erytrocytů z dep. Naproti tomu u trénovaných sportovců (Seliger, 1966) i u trénovaných koní (Ócsag, 1971) se uvádějí zvýšené hodnoty hemoglobinu. Poněvadž snížené hodnoty hemoglobinu

jsou známé při karenci bílkovin a aminokyselin (jako je cystin či histidin) při deficitu vitamínů skupiny B, je nutné uvažovat i o možnostech určité kvalitativní karence ve výživě sledovaných psů v návaznosti na náročnost výcvikové zátěže.

Také v dynamice hodnot hematokritu zjišťujeme průkazný pokles v porovnání s výchozími hodnotami a v protikladu se zátěží u lidí, u kterých nastupuje hemokoncentrace v důsledku přesunu tekutin z intravazálních prostorů s projevy relativní polycytémie. Zde je nutné brát v úvahu i fyziologické odlišnosti ve výdaji tekutin kožním pocením u člověka a koně v kontrastu se psem. Naše nálezy nejsou v relaci ani s výsledky, o nichž referoval Reece (1972), který souběžně s polycytémií zjišťoval i zvýšení hladiny hemoglobinu a hematokritové hodnoty u psů trénovaných ve šlapacím kole. Uvedené skutečnosti je však nutné posuzovat i z hlediska mikroklimatických a makroklimatických podmínek, za kterých k fyzické zátěži dochází.

Depresi hodnot hemoglobinu a hematokritové hodnoty je nutné posuzovat i z hlediska možné parasympatikotonické formy výcvikového přetížení (přetrénovanosti), jak je známé z výsledků zjišťovaných po tréninku lidí (Seliger aj., 1967) nebo koní (Hanák, 1982).

V relaci s poklesem hodnot hemoglobinu a hematokritu zjišťujeme v našich sledováních i pokles hodnot MCV, MCH a barevného indexu. Bez zvláštních odchylek probíhá křivka barevné koncentrace erytrocytu (MCHC).

Souhrnně lze červený krevní obraz v průběhu dlouhodobé výcvikové zátěže hodnotit jako odraz dráždění krvetvorných orgánů ke zvýšené produkci a vyplavování erytrocytů jak z jejich dep, tak i z kostní dřeně se snahou kompenzační náhrady deprese hodnot hemoglobinu a hematokritu. Snížené hodnoty hemoglobinu, hematokritu a hodnot MCV, MCH a BI signalizují určitou insuficienci kvalitativní tvorby krvinčky, což se může negativně odrážet i ve výkonnosti cvičeného psa. Vlastní etiologii i genezi těchto poznatků je nutné dále studovat, včetně otázek nutričních i vlastního adaptačního procesu. Výsledky by se měly stát součástí komplexního vědeckého řízení výcviku psa ve služební kynologii.

Literatura

- ČERKASOVA, V. I.: Изменение физиологических, гематологических и биохимических показателей у спортивных лошадей при нагрузках. Сбор. науч. Тр. Москов. ветер. Акад., 79, 1975, s. 43-45.
- DOBŠINSKÁ, E. — LEHKÝ, F.: Vliv transportu jako stressového faktoru na krevní obraz psa — německého ovčáka. Veter. Med. (Praha), 18, 1973, s. 499-506.
- HANÁK, J.: Základy diagnostiky u koní z aspektu sportovní veterinární medicíny. Praha, TURE, SSM 1982.
- HOLMGREN, A. et al.: Effect of training on work capacity, total hemoglobin, blood volume, heart volume and pulse rate in recumbent and upright position. Acta physiol. scand., 50, 1960, s. 72.
- KRZYWANEK, H. — SCHULZE, A. — WITTKKE, G.: Der Einfluss von Wettkampfbelastung auf einige Blutparameter bei Brabrennpferden. Inst. Z. Angew. Physiol., 31, 1973, s. 127-139.
- LASKOV, A. A. — KUŠNIRENKO, E. A. — DOILNEB, A. G.: Динамика физиологических и биохимических показателей у лошадей в условиях двигательности и острожипоксии. Науч. Тр. Всесоюз. науч.-исслед. Инст. Конев., Москва, 26, 1973, s. 161-164.
- MASON, D. K. — KWOK, H. N.: Some hematological and biochemical parameters in race horse in Hon Kong. Equine veter. J., 9, 1977, s. 96-99.

- WILL, J. — WOLF, G.: Untersuchungen zum Verhalten einiger Parameter des roten Blutbildes beim Sportpferd in Abhängigkeit von der physischen Belastung. *Mh. Veter.-Med.*, 32, 1977, s. 148-152.
- NETOUŠEK, M.: Klinická hematologie. Praha, Stát. zdravot. nakl. 1962.
- ÓCSAG, J.: A sportló utánpótlást szolgáló kiképzési előtréningje. *Tudom. Ért.* Agrártudom. Egyet., Gödöllő, 38, 1971, s. 33-58.
- PERSSON, S. G. — ULLBERG, L. E.: Artetshämatokrit och räd cellvolym på travkåstar. *Sven. Veter.-Tidn.*, 28, 1976, s. 443-448.
- POKORNÁ, D.: Vliv transportu na krevní obraz laboratorních zvířat. [Disertační práce.] Praha 1972. — Univerzita Karlova. Fakulta přírodovědecká.
- REECE, W. O.: Serum activity for glutamic oxalacetic transaminase and lactic dehydrogenase and haematologic values for treadmill-exercised beagles. *Amer. J. veter. Res.*, 33, 1972, s. 357-359.
- SELIGER, V. a kol.: Přehled fyziologie tělesných cvičení. Praha, Stát. zdravot. nakl. 1966.
- SCHÖNHOLZER, G.: Trainingswirkung auf den Organismus — Übertraining. Stuttgart, Sportmedizin 1962.
- VINAŘICKÝ, R. a kol.: Modifications de la formule sanguine rouge au cours de l'effort sportif. In: Sbor. VIII. mezinár. kongresu, Praha, FIMS 1948.

Došlo dne 14. 5. 1984

КОНРАД, Я. — ЦУПАК, М. — ГРУШОВСКИ, Й. — ГУСАК, С. (Ветеринарный институт, Брно; Военный ветеринарный научно-исследовательский институт по повышению знаний, Кошице): Влияние долго продолжающейся физической и психической нагрузки на красную картину крови при дрессировке собак. *Veter. Med. (Praha)*, 29, 1984 (11): 659-668.

У 30 клинически здоровых собак двухвозрастных категорий мы изучали влияние физической и психической нагрузки в течение долго продолжающейся дрессировки на отдельные составные красной картины крови. Изучение показало повышение количества эритроцитов в противоположность к депрессии величины гемоглобина, гематокрита других составных (MCV, MCH, BI, MCHC). Дискуссия посвящена влиянию тренировки, адаптивного процесса, парасимпатикотонической формы перегрузки, при случае недостаточного качественного питания, как отражение изучаемой нагрузки дрессировкой на некоторую неспособность качественного образования красной картины крови, а тем и возможности отрицательного влияния на работоспособность дрессируемой собаки.

клиническая гематология; физиология дрессировки; кинология

KONRÁD, J. — CUPÁK, M. — HRUŠOVSKÝ, J. — HUSÁK, S. (University of Veterinary Medicine, Brno; Military Veterinary Institute for Post-Gradual Studies and Research, Košice): *The Effect of Long-Continued Physical and Psychological Load of Training on the Red Blood Picture in the Dog.* *Veter. Med. (Praha)*, 29, 1984 (11): 659-668.

The effect of the physical and psychological load of long-continued training on the components of the red blood picture was studied in thirty clinically healthy dogs of two age categories. The values of erythrocytes were found to be increased whereas those of haemoglobin, haematocrit and other components (MCV, MCH, BI, MCHC) were depressed. The effects are discussed of training, adaptation process, parasympathicotonic form of overload, and qualitative nutrition deficiency as a reflection of the studied training load as exerted on certain insufficiency of the desired formation of the red blood picture, and thereby of a possible adverse impact on the performance of the trained dog.

clinical haematology; physiology of training; dog breeding

Adresy autorů:

Prof. MVDr. Jaroslav Konrád, DrSc., MVDr. Miloš Cupák, MVDr. Stanislav Husák, CSc., Vysoká škola veterinární, Palackého 1-3, 612 42 Brno
 Prof. MVDr. Jozef Hrušovský, DrSc., Vojenský veterinární doškolovací a výskumný ústav, Kukučínova 2, 040 00 Košice

CERVIKÁLNY HLIEN MATERNICE JALOVÍC V ČASE RUJE A INSEMINÁCIE PO SKRMOVANÍ SYNTETICKÉHO BETA-KAROTÉNU

J. Elečko, I. Maraček, J. Choma, J. Hajurka, V. Hendrichovský, L. Lázár,
M. Krajničáková

ELEČKO, J. — MARAČEK, I. — CHOMA, J. — HAJURKA, J. — HENDRICHOVSKÝ, V. — LÁZÁR, L. — KRAJNÍČÁKOVÁ, M. (Ústav experimentálnej veterinárnej medicíny, Košice): *Cervikálny hlien maternice jalovic v čase ruje a inseminácie po skrmovaní syntetického beta-karoténu*. Veter. Med. (Praha), 29, 1984 (11) : 669-678.

V práci sme sledovali vplyv beta-karoténu na množstvo, ťažnosť, pH, arborizáciu a čas prežívania spermií v prostredí cervikálneho hlienu jalovic zaraďovaných na chovné využitie v čase ruje a ich pripustenia. Zvieratá sme rozdelili do štyroch skupín. Prvá skupina bola kŕmená diétou bez karoténu. V ďalších skupinách (II., III. a IV.) dostávali jalovice prídavok syntetického beta-karoténu podľa skupín v množstve 100, 200 a 400 mg na kus a deň. Zistili sme signifikantné predĺženie prežívateľnosti spermií v prostredí cervikálneho hlienu vo štvrtej skupine (115,2 %) v porovnaní s prvou skupinou (61,8 %). Pri štatistickom porovnaní týchto výsledkov bolo $P < 0,05$. Pozorovali sme štatisticky významné rozdiely v množstve, ťažnosti a v arborizačnom fenoméne medzi zabreznutými a prebehnutými jalovicami prvej pokusnej skupiny. Tieto rozdiely sa zmiernili po pridaní beta-karoténu. Zistili sme, že saturácia beta-karoténu v kŕmnej dávke signifikantne neovplyvňuje pH cervikálneho hlienu. Z hodnotenia dosiahnutých výsledkov a z ich porovnania s literárnymi údajmi vyplýva, že beta-karotén okrem času prežívania spermií v prostredí cervikálneho hlienu signifikantne neovplyvnil ďalšie sledované parametre. Zdá sa, že beta-karotén ovplyvňuje uplatnenie polyfaktoriálnych činiteľov v regulácii steroidogenézy.

množstvo cervikálneho hlienu; ťažnosť cervikálneho hlienu; pH; arborizácia; prežívanie spermií; chovné využitie

Cervikálny hlien maternice je produktom endocervikálnych žliaz, ktoré sú vystlané cylindrickým epitelom. Sekrečná činnosť žľazového epitelu krčka maternice ako aj množstvo, zloženie a kvalita vylučovaného hlienu sú regulované pohlavnými steroidnými hormónmi. Z toho vyplýva všeobecne známy jav, že v priebehu pohlavného cyklu dochádza k zjavným zmenám v sekrécii hlienu a v priechodnosti krčka maternice [Dlhoš, 1977; Kudláč, Elečko a i., 1977; Gamčík, 1980 a iní].

Počas ruje vytvára cervikálny hlien jalovic a kráv priaznivé prostredie pre spermie, ktoré si v ňom zachovávajú pohyblivosť a oplodňovaciu schopnosť 24 až 30 hodín. Okrem toho hrá krčkový hlien úlohu fyziologického filtra tým, že zabraňuje preniknutiu infekcií a nečistôt

otvoreným krčkom do dutiny maternice. Ku koncu ruje tvorba a vylučovanie hlienu prudko klesá a v luteálnej fáze pohlavného cyklu pôsobením progesterónu tvorí krčková sliznica maternice len nepatrné množstvo hustého lepkavého hlienu (Kudláč, Elečko a i., 1977).

Ťažnosť cervikálneho hlienu je schopnosť pri ťahu vytvoriť rozlične dlhé vlákno. Dĺžka vlákna závisí od vizkozity hlienu a od štádia pohlavného cyklu. V proestre v 18. až 21. dni estrálneho cyklu sa ťažnosť začína zvyšovať a v čase ruje dosahuje maximálne hodnoty. Pomerne vysoké hodnoty ťažnosti sú zachované aj v prvých dňoch luteálnej fázy v treťom až piatom dni cyklu. V nasledujúcich dňoch fázy žltého telieska v 6. až 12. dni a v diestre v 13. až 18. dni pohlavného cyklu jalovic a kráv je ťažnosť nízka (Gamčík, 1980).

Podstata arborizačného fenoménu cervikálneho hlienu spočíva v prítomnosti chloridu sodného a glykoproteínov v cervikálnom hliene. Pritom sa prejavuje účinok ovariálnych hormónov, najmä estrogénov, ktoré vo folikulárnej fáze tvorbu kryštálov podporujú a v luteálnej fáze cyklu pôsobením progesterónu rozrušujú (Gamčík, 1963, 1980; Dlhóš, 1977).

Prvé arborizačné útvary tvoriace kryštáliky v zaschnutom cervikálnom hliene kráv a jalovic sa objavujú v 18. až 20. dni pohlavného cyklu v podobe postupného usporiadania bodiek a čiarok, z ktorých sa v 20. až 21. dni estrálneho cyklu formujú jemné arborizačné útvary v podobe kríčkov a vetvičiek. Na začiatku ruje pribúdajú charakteristické formy arborizačných útvarov, majúce na začiatku tvar konárikov, neskôr sa objavuje plavúňovitý tvar. Na konci ruje sa vytvárajú zoskupené kryštáliky papraďovitého tvaru, ktoré sú charakteristické pre blížiacu sa ovuláciu. Po skončení ruje sa v náteroch cervikálneho hlienu vyskytujú kryštáliky rozloženého typu, ktoré majú zaoblenejšie tvary, tzv. prezreté formy. V 6. až 12. dni pohlavného cyklu, ktorý zodpovedá fáze rozkvetu žltého telieska, nie je možné v náteroch z cervikálneho hlienu zistiť arborizačné kryštáliky (Gamčík, 1963, 1980). Podobné zmeny vykazuje arborizačný fenomén aj v priebehu menštruačného cyklu žien (Dlhóš, 1977; Horský a Presl, 1978).

Beta-karotén ako hlavný prekursor vitamínu A-retinolu môže sekundárne ovplyvniť funkciu pohlavných orgánov prostredníctvom tohoto vitamínu. Avšak podľa nálezov beta-karoténu vo vaječníku, podľa jeho akumulácie v žltom teliesku jalovic a kráv, ako aj na základe výsledkov klinických a endokrinných sledovaní bola vypracovaná hypotéza o špecifickom účinku beta-karoténu na funkciu genitálneho aparátu hovädzieho dobytku, ktorú podporujú výsledky novších prác (Ahlsvede a Lotthammer, 1978; Lotthammer, 1979), ale aj vyvracajú nálezy iného autorského kolektívu (Folman a i., 1979).

V práci uvádzame výsledky overovania vplyvu beta-karoténu na vybrané ukazovatele cervikálneho hlienu v čase ich pripúšťania s cieľom rozšíriť poznatky o vplyve provitamínu na sexuálne funkcie jalovic v čase ich zaraďovania na chovné využitie.

MATERIÁL A METÓDY

Do sledovania sme zaradili 72 jalovic, z toho 40 čiernostrakatého nížinného plemena, 27 slovenského strakatého plemena a 5 kríženiak SSXNC. Pokus prebiehal od februára do decembra. Zvieratá boli celoročne držané v maštali s vážnym

ustajnením. Pred začatím pokusu boli jalovice rozdelené náhodne do štyroch približne rovnakých trvalých skupín podľa veku, plemena a hmotnosti. V priebehu celého obdobia boli držané na bezkaroténovej diéte. Krmná dávka pozostávala z kukuričnej siláže (8—17 kg), jačmennej slamy (2,5—3 kg) a krmnej zmesi (1,0—2,0 kg). V priebehu pokusu sme zvyšovali množstvá krmív tak, aby obsah živín v krmnej dávke zodpovedal potrebám zvierat podľa ČSN 46 7070. V dennej dávke krmnej zmesi dostávali zvieratá druhej skupiny na kus 100 mg, tretej skupiny 200 mg, štvrtej skupiny 400 mg syntetického beta-karoténu a prvá skupina slúžila ako kontrola. V pokuse bol použitý syntetický beta-karotén firmy BASF Ludwigs-hofen, NSR, dodávaný ako 10% stabilný antioxidant vo forme suchého prášku. So suplementáciou beta-karoténu sme začali v apríli.

Pre posúdenie a hodnotenie cervikálneho hlienu sme použili tieto ukazovatele: Množstvo hlienu sme sledovali pri zistení ruje spravidla ráno pred insemináciou. Samovoľné vytekanie hlienu z pohlavných ústrojov sme hodnotili tromi krížikmi, resp. indexom 3; keď sa výtok objavil pri zavádzaní ruky do rekta za účelom vnútorného palpačného vyšetrenia, hodnotili sme to dvoma krížikmi, resp. indexom 2, a keď bolo možné získať len malé množstvo hlienu po miernej masáži vnútorných pohlavných orgánov, hodnotili sme ho jedným krížikom, resp. indexom 1.

Hodnotu ťažnosti sme stanovili metódou, ktorú uvádzajú Dlhoš (1977) a Kudláč, Elečko a i. (1977), a namerané hodnoty sme vyjadrili v centimetroch.

Koncentráciu vodíkových iónov sme stanovili meraním pH potenciometrickou metódou pomocou sklenenej elektródy analógového prenosného pH metra typu OP 106 firmy Radelkis, MLR.

Arborizačný test sme robili a hodnotili podľa Gamčíka (1980), pričom sme pre kvantitatívne vyjadrenie a lepšiu komparáciu použili stupnicu s číselnými indexmi: A+....1; A++....2; A+++....3; T+....4; T++....5; T+++....6.

Pri stanovení prežívateľnosti spermií v cervikálnom hlienu sme postupovali takto: Do počtu skúmaviek, ktorý bol o jednu skúmavku väčší ako bol počet vzoriek vyšetřovaného hlienu, sme odpipetovali vždy 1 ml citrátu sodného pH 6,9 a ten sme predhriali vo vhodnom kúpeli na teplotu 38 °C. Potom sme do ďalších skúmaviek, ktoré sa počtom zhodovali s počtom vzoriek hlienu, napipetovali po 1 ml cervikálneho hlienu z jednotlivých vzoriek a ten sme predhriali na 38 °C. Do skúmaviek s citrátom sodným sme po dosiahnutí teploty 38 °C vložili jednu peletu spermatu príslušného býka a 30 sekúnd po rozpustení pelety sa sperma rozmrazila z takého počtu skúmaviek, ktorý reprezentoval počet vzoriek hlienu preliateho do skúmaviek s cervikálnym hlienom, pričom sa zabezpečila totožnosť označenia. Jedna skúmavka s citrátom sodným a spermou tvorila kontrolu. V tridsaťminútových intervaloch sme sledovali a posudzovali aktivitu spermií až do úplného zastavenia ich pohybu a zaznamenali sme príslušný čas. Pre percentuálne hodnotenie uvedené vo výsledkoch sme každú hodnotu príslušnej vzorky hlienu prepočítali na hodnotu kontroly tak, že kontrola predstavovala 100 %.

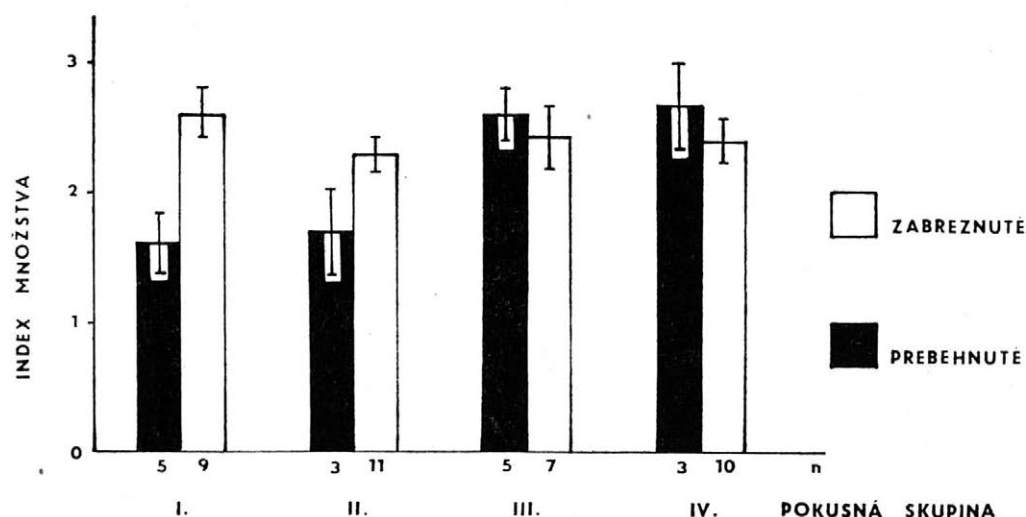
Dosiahnuté výsledky medzi jednotlivými skupinami a plemenami sme hodnotili štatisticky Studentovým *t*-testom (Červenka, 1975).

VÝSLEDKY

Výsledky posudzovania a hodnotenia sledovaných ukazovateľov cervikálneho hlienu v čase ruje a inseminácie sú zhrnuté v tab. I. Z priemerných hodnôt a ich smerodajných odchýlok je zrejmé pomerne veľká individuálna variácia sledovaných parametrov, okrem koncentrácie vodíkových iónov, vyjadrenej pH hodnotou. Práve z tohoto dôvodu sme pri štatistickom testovaní celkových výsledkov (tab. I) zistili iba signifikantný rozdiel prežívateľnosti spermií v prostredí cervikálneho hlienu medzi prvou kontrolnou skupinou bez beta-karoténu, u ktorej bola prežívateľnosť $61,8 \pm 33,5$ %, a štvrtou pokusnou skupinou, ktorá bola saturovaná 400 mg beta-karoténu na kus a deň a prežívateľnosť bola $115,2 \pm 47,1$ %. Pri štatistickom porovnaní týchto výsledkov bolo $P <$

I. Parametre cervikálneho hlienu v čase ruje a inseminácie jalovic — The parameters of heifer cervical mucus in oestrus and at insemination time

Ukazovateľ	Pokusná skupina							
	I		II		III		IV	
	$\bar{x}$	$\pm \sigma$	$\bar{x}$	$\pm \sigma$	$\bar{x}$	$\pm \sigma$	$\bar{x}$	$\pm \sigma$
Celkom								
Množstvo	2,2	0,7	2,1	0,5	2,5	0,5	2,5	0,5
Ťažnosť	24,3	7,6	19,5	6,1	23,5	5,8	27,6	10,2
pH	7,9	0,2	7,8	0,3	7,9	0,2	7,9	0,2
Arborizácia	3,9	0,8	3,5	1,2	3,9	0,4	4,4	0,7
Preživateľnosť	61,8	33,5	96,6	37,7	93,8	30,4	115,2	47,1
Zabreznuté								
Množstvo	2,6	0,5	2,3	0,5	2,4	0,5	2,4	0,5
Ťažnosť	26,7	5,1	19,2	6,3	21,9	2,5	24,7	8,4
pH	7,9	0,2	7,8	0,3	7,9	0,3	7,9	0,2
Arborizácia	4,6	0,7	4,2	1,2	4,3	0,8	4,9	0,9
Preživateľnosť	62,1	36,2	97,7	43,3	104,3	28,3	127,6	34,1
Prebehnuté								
Množstvo	1,6	0,5	1,7	0,6	2,6	0,6	2,7	0,6
Ťažnosť	16,2	6,3	20,7	6,0	25,8	8,5	37,3	11,0
pH	7,9	0,1	8,1	0,1	7,9	0,2	7,9	0,2
Arborizácia	4,0	1,9	2,0	1,0	3,8	1,3	4,5	0,7
Preživateľnosť	60,0	—	92,9	10,1	76,2	29,7	28,6	—



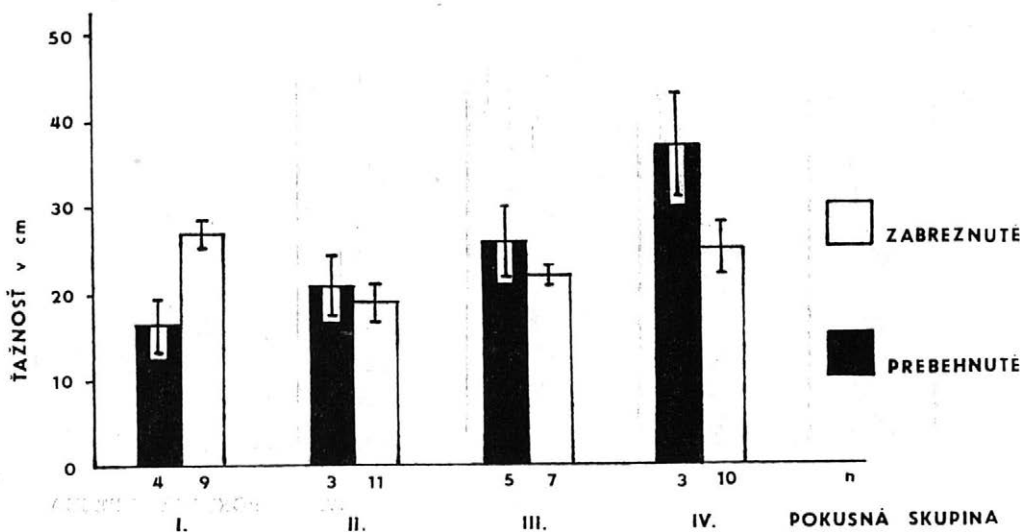
1. Cervikálny hlien v čase ruje a prvej inseminácie jalovic — Cervical mucus of heifers in oestrus and at the first insemination

$< 0,05$ pri $t = 2,61215$ a stupňoch voľnosti 14. Zistené rozdiely celkových hodnôt medzi jednotlivými skupinami pri všetkých ostatných ukazovateľoch neboli štatisticky významné.

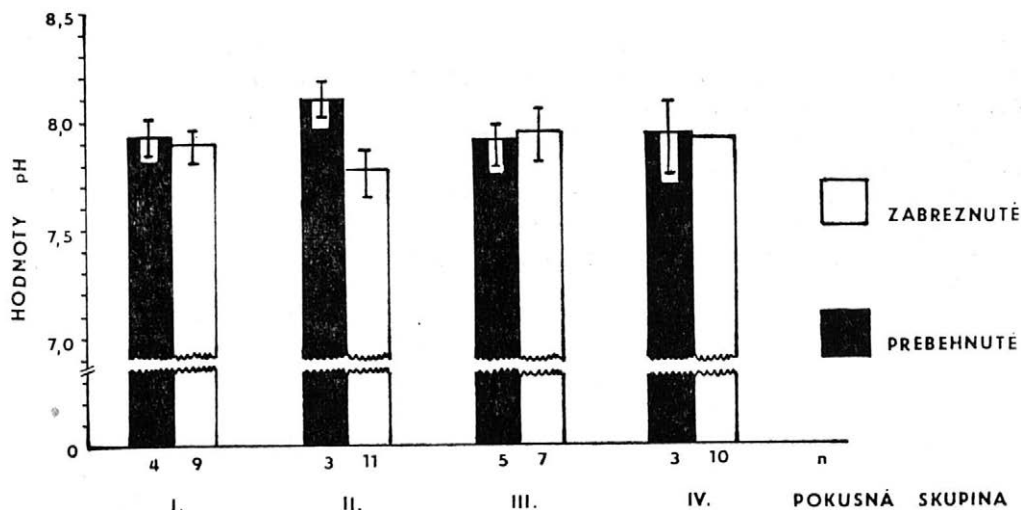
Keď sme však v rámci jednotlivých skupín sledované ukazovatele pri prvej inseminácii hodnotili podľa toho, či zvieratá zabrezli alebo sa prebehli, dosiahli sme zaujímavé výsledky, ktoré sú zhrnuté v druhej a tretej časti tab. I a sú znázornené na obr. 1—5, kde sú vynesené priemerné hodnoty a stredné chyby priemeru.

Pri hodnotení množstva cervikálneho hlienu (obr. 1) sme zistili, že rozdiely medzi skupinami jalovic, ktoré zabrezli po prvej inseminácii, neboli významné. Avšak u zvierat, ktoré sa po prvej inseminácii prebehli, bol rozdiel v množstve hlienu medzi prvou a štvrtou pokusnou skupinou štatisticky významný $P < 0,05$, keď $t = 2,60341$ pri stupňoch voľnosti 6, podobne ako medzi druhou a treťou skupinou $P < 0,05$, keď $t = 2,59943$ pri stupňoch voľnosti 8. Keď sme porovnali rozdiely v množstve krčkového hlienu medzi jalovicami zabreznutými a prebehnutými po prvej inseminácii v jednotlivých skupinách, zistili sme významný rozdiel len v prvej pokusnej skupine, ktorá dostávala bezkaroténovú diétu, a to $P < 0,01$, keď $t = 3,23015$ pri stupňoch voľnosti 12. V ďalších pokusných skupinách neboli zistené rozdiely významné. To svedčí o tom, že účinok beta-karoténu môže mať určitý priaznivý vplyv na činitele, ktoré regulujú sekréciu cervikálnych žliaz u zvierat s horším zabrezávaním.

Z hodnotenia výsledkov ťažnosti cervikálneho hlienu (obr. 2) vyplýva, že u jalovic, ktoré zabrezli po prvej inseminácii, došlo k významnému zvýšeniu ťažnosti v prvej pokusnej skupine v porovnaní s druhou skupinou ($P < 0,05$, keď $t = 2,85889$ pri stupňoch voľnosti 18). Ďalšie rozdiely medzi pokusnými skupinami u zabreznutých zvierat neboli štatisticky významné. U jalovic, ktoré sa po prvej inseminácii prebehli, sme zistili štatisticky významné zvýšenie ťažnosti krčkového

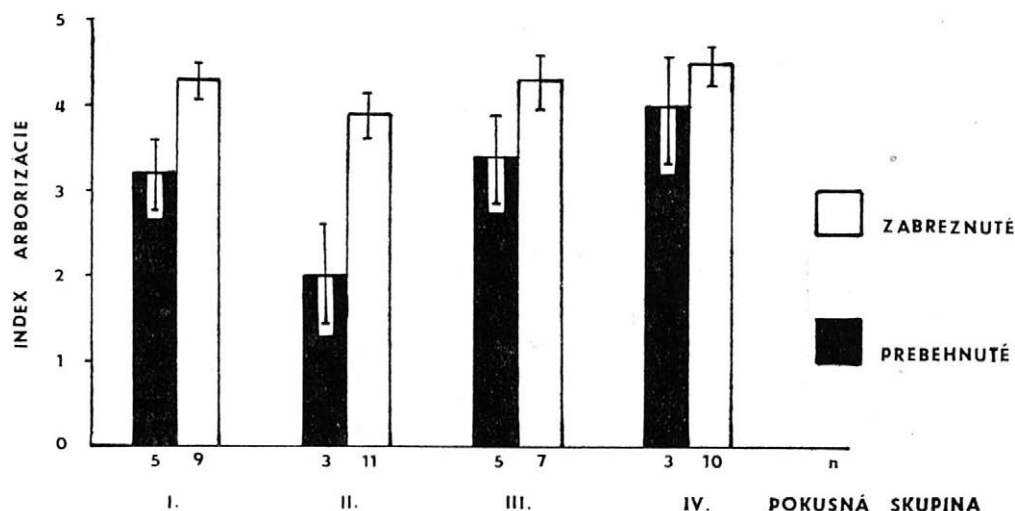


2. Ťažnosť cervikálneho hlienu v čase ruje a prvej inseminácie jalovic — The ductility of the cervical mucus of heifers in oestrus and at the first insemination

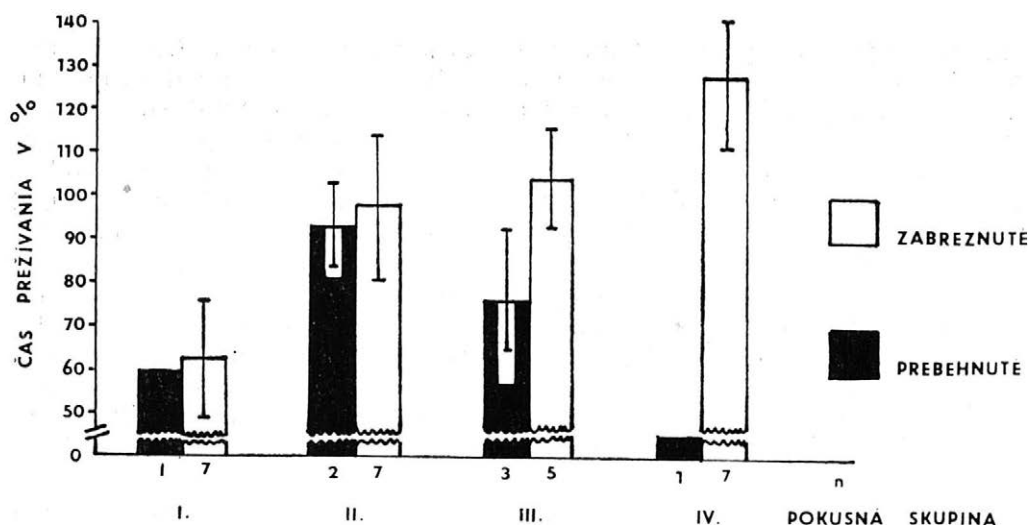


3. Koncentrácia vodíkových iónov v cervikálnom hliene v čase ruje a prvej inseminácie jalovíc — The concentration of hydrogen ions in the cervical mucus of heifers in oestrus and at the first insemination

hlienu v štvrtej pokusnej skupine v porovnaní s prvou skupinou ($P < 0,05$), keď $t = 3,24725$ pri stupňoch voľnosti 5. Ďalšie rozdiely medzi pokusnými skupinami neboli signifikantné. Pri posúdení hodnôt ťažnosti medzi zabehnutými a prebehnutými zvieratami v každej experimentálnej skupine sme zistili, že zníženie ťažnosti cervikálneho hlienu prebehnutých jalovíc v prvej pokusnej skupine bolo štatisticky významné ($P < 0,05$), keď $t = 3,05648$ pri stupňoch voľnosti 11. Rozdiely medzi zabehnutými a prebehnutými jalovicami v ďalších troch experimentálnych skupinách neboli signifikantné.



4. Arborizácia cervikálneho hlienu v čase ruje a prvej inseminácie jalovíc — The arborization of the cervical mucus of heifers in oestrus and at the first insemination



5. Prežívateľnosť spermií v cervikálnom hliene v čase ruje a prvej inseminácie jalovic — Sperm survival time in the cervical mucus of heifers in oestrus and at the first insemination

Z analýzy výsledkov stanovenia koncentrácie vodíkových iónov meraním hodnoty pH (obr. 3) sme zistili, že namerané hodnoty v rámci jednotlivých pokusných skupín, podobne ako v kategórii zabreznutých alebo prebehnutých jalovic, po prvej inseminácii nevykazujú signifikantné diferencie.

Rozborom výsledkov arborizačného testu a ich štatistickou analýzou (obr. 4) sme zistili, že rozdiely medzi pokusnými skupinami zabreznutých jalovic a prebehnutých jalovic po prvej inseminácii neboli signifikantné. Štatisticky významne nižšiu hodnotu arborizácie sme zaznamenali u prebehnutých jalovic v porovnaní so zabreznutými jalovicami po prvej inseminácii v prvej pokusnej skupine ($P < 0,001$), keď $t = 4,91048$ pri stupňoch voľnosti 12, podobne ako v druhej pokusnej skupine ($P < 0,01$), keď $t = 3,42220$ pri stupňoch voľnosti 12.

Zo štatistického hodnotenia dosiahnutých výsledkov prežívateľnosti spermií v cervikálnom hliene v čase ruje a prvej inseminácie jalovic (obr. 5) vyplýva, že čas prežívania vyjadrený v percentách sa signifikantne zvýšil u zabreznutých jalovic štvrtej skupiny v porovnaní s prvou skupinou ($P < 0,01$), keď $t = 3,48699$ pri stupňoch voľnosti 12.

DISKUSIA

Všeobecne uznávaný názor o tom, že sekrečnú aktivitu endocervikálneho žľazového epitelu a množstvo i kvalitu hlienu krčka maternice kráv a jalovic fyziologicky regulujú estrogény a progesterón, podporujú výsledky Jacksona [1981] a Jacksona a i. [1981], ktorí skúmali vplyv beta-karoténu na plodnosť kráv po synchronizácii ruje cloprostenolom (Estrumate ICI), pričom sledovali koncentráciu progesterónu, 17beta-estradiolu, LH, FSH a beta-karoténu v krvnom sére pokusných zvierat. Z 12 synchronizovaných kráv päť zabrezlo v kontro-

lovanej ruji, štyri počas 52 dní a tri zvieratá nezabrezli. Autori zistili koreláciu medzi plazmatickou hladinou beta-karoténu a zabrezávaním. Kravy s nízkymi hladinami beta-karoténu preukázali cyklické nepravidelnosti poukazujúce na to, že u nich bola potlačená produkcia steroidných hormónov. Tieto pozorovania sú v súlade s nálezmi Lott-Hammerovými (1978), ktorý zistil predĺženie folikulárnej fázy, výskyt tichej ruje a opozdenej ovulácie, anovulačnú ruju a výskyt folikulárnych cyst.

Luteálne tkanivo obsahuje vysoké množstvo beta-karoténu (Friescke, 1978) a produkuje vysoké množstvo progesterónu na jednotku masy (Heap, 1978). Keď platí, že cholesterol v krvi má významný podiel na produkcii progesterónu boviným žltým telieskom (Bartosik a i., 1967), tak musí byť účinný spôsob prenosu cholesterolu z krvi do luteálneho tkaniva. Práve tu môže hrať beta-karotén v spojení s lipoproteínmi dôležitú úlohu.

Druhý mechanizmus účinku beta-karoténu môže predstavovať jeho esenciálna potreba pre ovariálnu steroidogézu (Jackson, 1981).

Jacksonom a i. (1981) vyslovená hypotéza o esencionalite beta-karoténu v riadení steroidogézy vaječníkov kráv môže súvisieť s novšími poznatkami o mechanizme účinku gonadotropných hormónov na bunky cieľových orgánov alebo tkanív. V súčasnom období sa uznáva tzv. teória komplexného pôsobenia proteohormónov („multiple action theory“). Tento účinok proteohormónov, a teda aj FSH a LH, počíta s interakciou s bunkovou membránou, ale aj s mitochondriami, mikrozómami a jadrom prostredníctvom ich receptorov. Táto predstava vychádza z predpokladu, že proteohormóny majú celý rad aktívnych centier a ovplyvňujú aj rad bunkových funkcií (Figárová a i., 1974; Horský a Presl, 1978).

Simultánne s našimi pozorovaniami zmien cervikálneho hlienu v tom istom chove jalovic skúmali Lazar a i. (1983) vplyv zásobovania organizmu beta-karoténom na rast a niektoré ukazovatele v krvi jalovic. Zistili pritom úzky vzťah medzi množstvom beta-karoténu v krmive a jeho koncentráciou v systémovom krvnom obeh. Pre tento vzťah stanovili platnosť regresných rovníc v štvrtom a 20. týždni podávania známeho množstva syntetického beta-karoténu. Zaznamenali, že rozdielne množstvo beta-karoténu v kŕmnej dávke nespôsobilo významné rozdiely medzi priemernými koncentraciami vitamínu A, celkových bielkovín, aktivitami enzýmov AST a alkalickéj fosfatázy v krvi a intenzitou rastu jalovic štyroch skupín. Zistili však významnú závislosť hmotnosti jalovic od obsahu beta-karoténu v krvi, ale nie od obsahu vitamínu A v krvi.

Pri hodnotení dosiahnutých výsledkov sledovaných parametrov cervikálneho hlienu jalovic a z ich porovnania s dostupnými literárnymi údajmi vyplýva, že beta-karotén v našich pokusoch, až na významné ovplyvnenie času prežívateľnosti spermií v prostredí cervikálneho hlienu, neovplyvnil významne ďalšie sledované ukazovatele. Štatisticky významné zmeny, ktoré boli pozorované v rámci prvej inseminácie buď u kategórie zvierat zabreznutých alebo prebehnutých, medzi jednotlivými pokusnými skupinami alebo v rámci experimentálnych skupín, poukazujú na to, že beta-karotén môže ovplyvniť uplatnenie polyfaktoriálnych regulačných mechanizmov. Tie riadia funkciu pohlavných steroidov, a tým aj charakteristické vlastnosti cervikálneho hlienu. Me-

chanizmus účinku beta-karoténu i vitamínu A je potrebné ďalej intenzívne experimentálne študovať práve v smere ich uplatnenia pri biologických membránach vo vzťahu k akceptorovým a receptorovým povrchovým bunkovým štruktúram.

Literatúra

- AHLSWEDE, L. — LOTTHAMMER, K. H.: Untersuchungen über eine spezifische Vitamin-A-unabhängige Wirkung des B-Karotins auf die Fertilität des Rindes. 5. Mitteilung: Organuntersuchungen (Ovarien, Corpora lutea, Leber, Fettgewebe, Uterussekret, Nebennieren) — Gewichts- und Gehaltsbestimmungen. Dtsch. Tierärztl. Wschr., 85, 1978, č. 1, s. 7-12.
- BARTOSIK, D. — ROMANOFF, E. B. — WATSON, D. J. — SCRICO, E.: Luteotropic effects of prolactin in the bovine ovary. Endocrinology, 81, 1978, č. 1, s. 7-12.
- ČERVENKA, J.: Základy štatistiky. Martin, Osveta 1975. 161 s.
- ČSN 46 7070: Potreba živin hospodárskych zvierat. 1966.
- DLHOŠ, E.: Pošvová cytodiagnostika a vyšetrenie cervikálneho hlienu. In: DLHOŠ, E. — TACHÉZY, R. — IZAKOVIČ, V. — KOVÁČ, R.: Gynekologická endokrinológia. Martin, Osveta 1977, s. 1962-1973.
- FIGÁROVÁ, V. — PRESL, J. — KRABEC, Z.: HCG-aktivita v buněčném cytosolu některých orgánů po podání hormonu *in vivo*. Čs. Gynek., 39, 1974, s. 768-772.
- FOLMAN, Y. — ASCARELLI, I. — HERZ, Z. — ROSENBERG, M. — DAVIDSON, M. — HALEVI, A.: Fertility of dairy heifers given a commercial diet free of B-carotene. Brit. J. Nutr., 41, 1979, s. 353-359.
- FRIESECKE, H.: The significance of beta-carotene in ruminant nutrition. Field results — Europe. Roche Symposium, London 1978.
- GAMČÍK, P.: Fyzikálno-chemické vlastnosti cervikálneho hlienu kráv a oviec a ich diagnostický význam. [Kandidátska dizertačná práca.] Košice 1963. — Vysoká škola veterinárska.
- GAMČÍK, P.: Špeciálne vyšetrenia. In: GAMČÍK, P. — SAKALA, J. — LOJDA, L.: Plodnosť hovädzieho dobytku a jej poruchy. Bratislava, Príroda 1980, s. 189-210.
- HEAP, R. S.: Studies in pregnancy. Brit. Cattle Breed Club Dig., 1978, č. 33, s. 48-49.
- HORSKÝ, J. — PRESL, J.: Gynekologická endokrinologie. Praha, Avicenum 1978. 554 s.
- JACKSON, P. S.: A note on a possible association between plasma B-carotene levels and conception rate in a group of winter-housed dairy cattle. Anim. Prod., 32, 1981, s. 109-111.
- JACKSON, P. S. — FURR, B. J. A. — JOHNSON, C. T.: Endocrine and ovarian changes in dairy cattle fed a low B-carotene diet during an oestrus synchronization regime. Res. veter. Sci., 31, 1981, s. 377-383.
- KUDLÁČ, E. — ELEČKO, J. a kol.: Veterinární porodnictví a gynekologie. Praha, SZN 1977.
- LAZAR, J. — ROSIVAL, I. — RUŽIČKOVÁ, A. — NAĐ, P. — TUČKOVÁ, M. — SABOL, M. — FABIAN, A.: Vplyv zásobenia organizmu karoténom na rast a niektoré ukazovatele v krvi jalovic a dojníc. [Čiastková záverečná správa.] Košice, ÚEVM 1983.
- LOTTHAMMER, K. H.: Importance and role of Beta-carotene for bovine fertility — original researches. Roche Symposium, London 1978.
- LOTTHAMMER, K. H.: Importance of B-carotene for the fertility of dairy cattle. Feedstuffs (Minneapolis), 51, 1979, s. 16-50.

Došlo dňa 2. 3. 1984

ЭЛЕЧКО, Я. — МАРАЧЕК, И. — ХОМА, Я. — ГАЮРКА, Я. — ГЕНДРИХОВСКИ, В. — ЛАЗАР, Л. — КРАЙНИЧАКОВА, М. (Институт экспериментальной ветеринарии, Кошице): Шеечная слизь матки нетелей в период течки и искусственное осеменение после скормливания синтетического бета-каротина. Veter. Med. (Praha), 29, 1984 (11): 669-678.

В работе мы исследовали влияние бета-каротина на количество, вязкость, pH, кристаллизацию и время выживаемости спермиев в шеечной слизи матки нетелей включаемых в племенное использование в период течки и их случки. Животных мы разделили на четыре

группы. Первая группа получала диету без каротина. В других группах (II, III, IV) нетели получали добавку синтетического бета-каротина согласно группам в количестве 100, 200 и 400 мг на голову в день. Мы установили достоверное продление выживаемости спермиев в среде шеечной слизи в четвертой группе (115,2 %) по сравнению с первой группой (61,8 %). При статистическом сравнении этих результатов было $P < 0,05$. Мы наблюдали статистически значительные различия в количестве, вязкости и в кристаллизационном феномене между забеременевшими и перегуливающими нетелями первой опытной группы. Эти различия уменьшились после добавления бета-каротина. Мы установили, что сатурация бета-каротина в кормовом рационе достоверно не повлияла на pH шеечной слизи. Из оценки полученных результатов и их сравнения с литературными данными вытекает, что бета-каротин кроме времени выживания спермиев в среде шеечной слизи достоверно не влияет на дальнейшие исследуемые параметры. Кажется бетакаротин влияет на внедрение полифакториальных факторов в регулировании стероидогенеза.

количество шеечной слизи; вязкость шеечной слизи; pH, кристаллизация; выживаемость спермиев; племенное использование

ELEČKO, J. — MARAČEK, I. — CHOMA, J. — HAJURKA, J. — HENDRICHOVSKÝ, V. — LÁZÁR, L. — KRAJNÍČÁKOVÁ, M. (Institute of Experimental Veterinary Medicine, Košice): *The Cervical Mucus of Heifer Uterus during Heat and Insemination after the Administration of Synthetic Beta-Carotene*. Veter. Med. (Praha), 29, 1984 (11) : 669-678.

The effect of beta-carotene was studied, as exerted on the amount, ductility, pH value, arborization and sperm survival time in the medium of the cervical mucus of heifers included in the breeding stock. The measurements were taken during oestrus and mating. The animals were divided into four groups. The first group was given diet containing no carotene. In the other groups (II, III, IV) the animals were fed a supplement of synthetic beta-carotene, the doses being 100, 200 and 400 mg per head/day. The survival of spermatozoa in the medium of cervical mucus was found to be significantly longer in the fourth group (115.2 %) as compared with the first group (61.8 %). In the statistical comparison of these results the P level was < 0.05 . Statistically significant differences were observed in the amount, ductility and arborization between the pregnant heifers and oestrus return ones in the first group. These differences were reduced after the addition of beta-carotene to feed. Beta-carotene saturation in the feed ration was not found to exert any significant influence on the pH value of cervical mucus. As suggested by the evaluation of the results and their comparison with literary data, sperm survival time in cervical mucus was the only trait influenced significantly by beta-carotene: no significant effect was exerted on the other parameters under study. Beta-carotene seems to influence the role of polyfactorial factors in the control of steroidogenesis.

amount of cervical mucus; ductility of cervical mucus; pH; arborization; sperm survival; breeding use

Adresa autorov:

Prof. MVDr. Ján Elečko, CSc., MVDr. Imrich Maraček, CSc., MVDr. Ján Choma, CSc., MVDr. Jaroslav Hajurka, MVDr. Valentin Hendrichovský, CSc., Ladislav Lázár, Mária Krajničáková, Ústav experimentálnej veterinárnej medicíny, Dukelských hrdinov 1, 040 01 Košice

MIKROMORFOLÓGIA ENDOMETRIA DOJNÍC PO SYNCHRONIZÁCIÍ RUJE CLOPROSTENOLOM

I. Maraček, J. Elečko, J. Hajurka, J. Choma, E. Bekeová, A. Jušíková

MARAČEK, I. — ELEČKO, J. — HAJURKA, J. — CHOMA, J. — BEKEOVÁ, E. — JUŠÍKOVÁ, A. (Ústav experimentálnej veterinárnej medicíny, Košice): *Mikromorfológia endometria dojníc po synchronizácii ruje cloprostenoľom*. Veter. Med. (Praha), 29, 1984 (11) : 679-688.

V práci sme sledovali a opísali mikromorfologické ukazovatele endometria piatich dojníc čiernostrakatého plemena po odznení synchronizačného účinku cloprostenuľu v preparáte Oestrophan inj. Spofa. Dve zvieratá v štvrtom až piatom dni po estre boli kontrolné a trom zvieratám v šiestom dni pohlavného cyklu s rektálne palpovanými žltými telieskami sme *i. m.* podali 0,5 mg cloprostenuľu v 2 ml Oestrophanu. V ôsmom dni od podania prípravku sme nekropsiou získali vzorky rohov maternice a po histologickom spracovaní excízií sme 7 μ m silné parafrínové rezy ofarbili hematoxylin-eozínom reakciou PAS. Pozorovali sme zmeny v ipsilaterálnych a kontralaterálnych rohoch maternice vo vzťahu k aktívnemu žltému teliesku. V subepiteliálnej vrstve endometria sme opísali stav po predošlej edematizácii s bohatým riedkym väzivom a vytrácaním sa bunkovej infiltrácie po podanom prípravku. Pozorovali sme výskyt intraepiteliálnych lymfoidných buniek v povrchovom epiteli endometria. V ôsmom dni od podania cloprostenuľu zotrúvalo signifikantné zhrubnutie endometria ($P < 0,001$). Zvýšenie povrchového epitelu ipsilaterálne s korešpondujúcim žltým telieskom bolo na hranici významnosti ($P < 0,05$). Bunky endometriálnych žliaz pod povrchom sa signifikantne zmenšili po podaní prípravku ipsilaterálne k žltému teliesku ($P < 0,01$) i kontralaterálne ($P < 0,001$), podobne ako pri žľazách v hĺbke sliznice tesne nad myometriom ($P < 0,01$). Po podaní cloprostenuľu sa signifikantne znížil výskyt intraepiteliálnych lymfoidných buniek.

epitel; žľazy; histológia

Všeobecne je známe, že jednotlivé časti maternice obsahujú špecifické receptory účinku estrogénov a progesterónu. Preto v nich — ako v cieľových orgánoch steroidného účinku — prebiehajú zjavné zmeny počas jednotlivých fáz pohlavného cyklu. Cyklické zmeny endometria v priebehu pohlavného cyklu hovädzieho dobyťka boli predmetom štúdií dostupných prác (Marinov a Lovell, 1986; Cloud a Cassida, 1969; Hackett a Hafs, 1969; Uhrín, 1984 a iní).

V posledných rokoch sa nielen v zahraničí, ale aj u nás pre synchronizáciu ruje kráv a jalovic stále viac používa luteolytický účinok prostaglandínov zo skupiny F_2 alfa (Kudláč a i., 1981; Choma, 1979; Bílek a i., 1981; Choma a i., 1981; Král a i., 1981a, b; Kudláč, 1981 a iní). Okrem luteolytického účinku ovplyvňujú prostaglandíny tejto skupiny maternicu uterotonickým pôsobením a vazokonstrikčným efektom (Schvarc a i., 1979).

V práci sme sa zamerali na pozorovanie kvalitatívnych histologických štruktúr endometria a na zistenie zmien hrúbky endometria, výšky povrchového epitelu a výšky sekrečného epitelu endometriálnych žliaz dojnic po odznení luteolytického a estrus synchronizačného účinku cloprostenolu. Cieľom práce je prispieť k hlbšiemu poznaniu účinku podávaného prípravku.

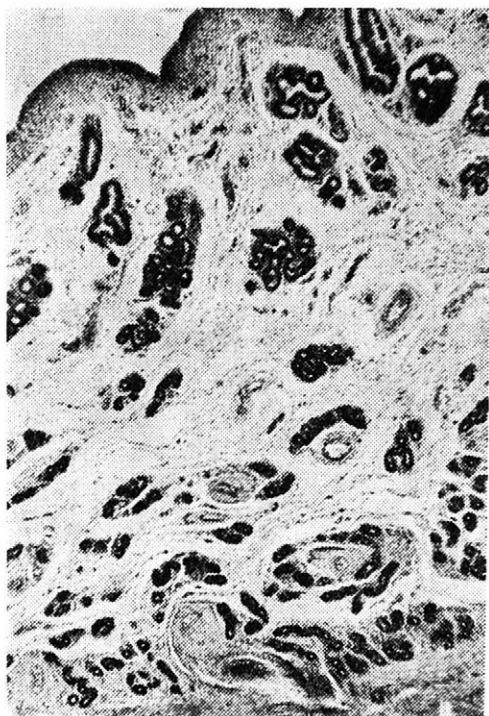
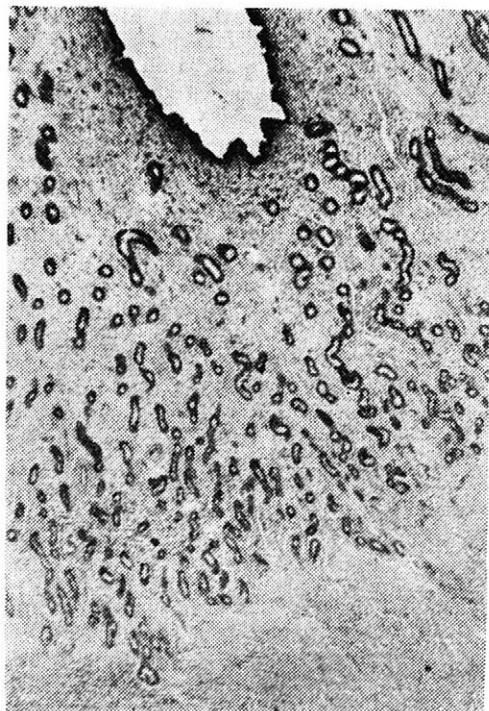
MATERIÁL A METÓDY

Pozorovania sme vykonali na piatich dojnicach čiernostrakatého plemena vo veku troch až štyroch rokov, ktoré boli držané v štandardných chovateľských podmienkach. Experimenty sme vykonali v októbri. Ide o dojnice, ktoré sme už charakterizovali (Maraček a i., 1983). Dve dojnice v štvrtom až piatom dni po ruji slúžili ako kontrola. Trom zvieratám v luteálnej fáze s rektálne potvrdeným žltým telieskom sme i. m. podali 0,5 mg cloprostenolu v prípravku Oestrophan inj. Spofa. Ošetrované dojnice sme v ôsmom dni zabili a vzorky z maternice sme odobrali na dva prsty od bifurkácie z oboch rohov a fixovali v 10% formalíne. Po zaliatí do parafínu sme 7 až 10 μ m hrubé rezy ofarbili hematoxylin-eozínom, reakciou PAS a jej dvojchrómovou kombináciou (di-PAS). Kvantitatívnu mikroskopickú analýzu sledovaných parametrov sme vykonali podľa Hacketta a Halsa (1969). Rozsah výskytu intraepiteliálnych lymfoidných buniek sme hodnotili v 20 zorných poliach z piatich rezov z každej strany maternice pri zväčšení 40 X 10. Výsledky merania sme štatisticky hodnotili Studentovým *t*-testom podľa Červenku (1975).

VÝSLEDKY

Na prvom mikroskopickom obrázku je endometrium kontrolného zvieraťa — subepiteliálne *stratum compactum* plynule prechádza do *stratum spongiosum* (obr. 1). Druhý mikroskopický obrázok pochádza od pokusného zvieraťa a je na ňom zjavná úzka subepiteliálna vrstva s bohatou bunkovou infiltráciou, ktorá odpovedá *stratum compactum*; podstatná časť hrúbky endometria vykazuje zmenu štruktúry *stratum spongiosum*. Výrazne sú väzivové štruktúry chudobné na bunkovú infiltráciu ako stav po edematizácii a hydratacii endometria (obr. 2). Tretia mikrosnímka (obr. 3) znázorňuje steny krvných ciev endometria dojnic v ôsmom dni od podania ruju synchronizujúcej dávky cloprostenolu. Obr. 4 a 5 znázorňujú výskyt tzv. bledých buniek („pale cells“) v povrchovom epiteli endometria. Tieto bunky sú novšie považované za intraepiteliálne lymfoidné bunky.

Dosiahnuté výsledky kvantitatívnej analýzy sme zhrnuli do tabuliek (tab. I—III) a znázornili graficky (obr. 6—8). Zmeny hrúbky endometria dojnic po podaní cloprostenolu (tab. I, obr. 6) sú v súlade s kvalitatívnym histologickým obrazom. Zo štatistického zhodnotenia výsledkov vyplýva (obr. 6), že rozdiel v hrúbke endometria ipsilaterálne a kontralaterálne s aktívnym žltým telieskom po synchronizovanej ruji nie je významný ($P > 0,05$; $t = 2,0381$), na rozdiel od pokusnej skupiny, kde je signifikantne hrubšia sliznica v ipsilaterálnom rohu maternice k žltému teliesku ($P < 0,01$; $t = 3,7356$). Z obr. 6 je zrejmé, že v ôsmom dni od podania cloprostenolu sme ešte zaznamenali signifikantné zhrubnutie sliznice endometria tak ipsilaterálne ($P < 0,001$; $t = 4,6399$), ako aj kontralaterálne ($P < 0,001$; $t = 8,9597$) s aktívnym žltým telieskom.



1. Endometrium rohu maternice kontrolnej dojnice, kde v subepiteliálnej vrstve sliznice *stratum compactum* plynule prechádza v *stratum spongiosum* a endometriálne žľazy sú rovnomerne rozmiestnené. Hematoxylin-eozín. Zväčšenie: objektív 3,5X; okulár 5X — Uterine horn endometrium in a control cow: in the subepithelial layer of the mucous membrane the *stratum compactum* evenly passes into *stratum spongiosum* and the endometrial glands are evenly distributed. Haematoxylin-eosine. Magnif.: objective 3.5X; eyepiece 5X

2. Endometrium rohu pokusnej kravy, kde subepiteliálnymi bunkami bohato infiltrovaná kompaktná vrstva tvorí úzky lem, ktorým je výrazne oddelená špongiózna vrstva chudobná na bunky a endometriálne žľazy sú zoskupené do ostrovčekov. Hematoxylin-eozín. Zväčšenie: objektív 3,5X; okulár 5X — Uterine horn endometrium in a test cow: the compact layer, amply infiltrated by subepithelial cells, forms a narrow margin, by which the spongy layer poor in cells is separated; the endometrial glands are grouped to form small islands. Haematoxylin-eosine. Magnif.: objective 3.5X; eyepiece 5X

Zvýšenie povrchového epitelu endometria (tab. I, obr. 7) po podaní cloprostenolu je na hranici významnosti ipsilaterálne so žltým telieskom ($P < 0,05$; $t = 3,2240$), ale na kontralaterálnej strane nie je významné ($P > 0,05$; $t = 2,2624$).

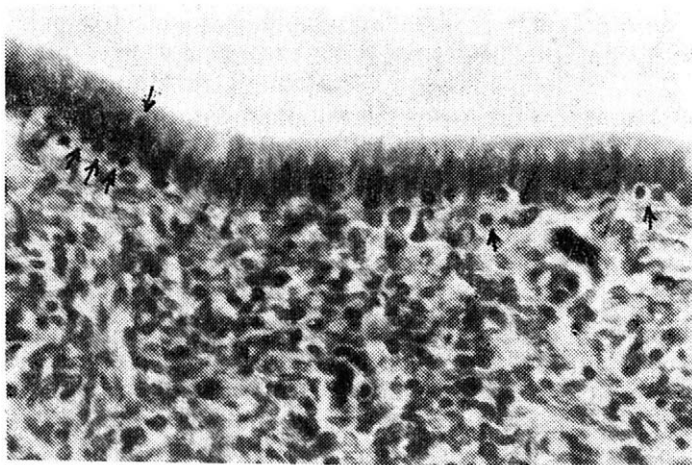
Pozorované zmenšenie buniek žliaz endometria po podaní cloprostenolu je výraznejšie pod povrchom (tab. II, obr. 7) než v hĺbke, nad myometriom. Zmenšenie buniek žliaz sliznice rohov maternice po testovanom prípravku je významné tak na ipsilaterálnej ($P < 0,01$; $t = 4,8589$), ako aj na kontralaterálnej ($P < 0,001$; $t = 6,1517$) strane k aktívnemu žltému teliesku. Menej výrazné, ale štatisticky významné je zmenšenie žľazových buniek v hĺbke endometria na oboch rohoch



3. Prierez krvnými cievami v hĺbke endometria medzi endometriálnymi žľazami u pokusnej dojnice 8. deň od podania cloprostenolu. Hematoxylin-eozín. Zväčšenie: objektív 3,5X; okulár 5X — Cross-section through the blood vessels in the depth of endometrium between the endometrial glands in a test cow on the 8th day after cloprostenol administration. Haematoxylin-eosine. Magnif.: objective 3.5X; eyepiece 5X

ipsilaterálne ($P < 0,01$; $t = 3,3863$) aj kontralaterálne ($P < 0,01$; $t = 3,5026$) k aktívnemu žltému teliesku.

Po odznení účinku estrus synchronizujúcej dávky cloprostenolu sme zistili znížený výskyt intraepiteliálnych lymfoidných buniek (tab. III, obr. 8) v porovnaní s kontrolou. Pokles počtu intraepiteliálnych lymfoidných buniek bol signifikantný na ipsilaterálnej strane k aktívnemu žltému teliesku ($P < 0,001$; $t = 7,734$).



4. Mikroskopický obrázok z povrchového epitelu a subepiteliálnej vrstvy pokusnej dojnice, kde sú vidieť tzv. bledé bunky „pale cells“ (šípky) 8. deň od podania cloprostenolu. Hematoxylin-eozín. Zväčšenie: objektív 20X; okulár 5X — A microscopic picture of the surface epithelium and subepithelial layer of a test cow: pale cells (arrows) are visible on the 8th day from the administration of cloprostenol. Haematoxylin-eosine. Magnif.: objective 20X; eyepiece 5X

I. Zmeny hrúbky sliznice rohov maternice dojnic a výšky povrchového epitelu vo vzťahu k aktívnemu žltému teliesku (CL) po odznení účinku cloprostenolu — Changes in the thickness of mucous membrane in the uterine horns of cows and changes in the thickness of surface epithelium in relation to active *corpus luteum* (CL) after the fading of the effect of cloprostenol

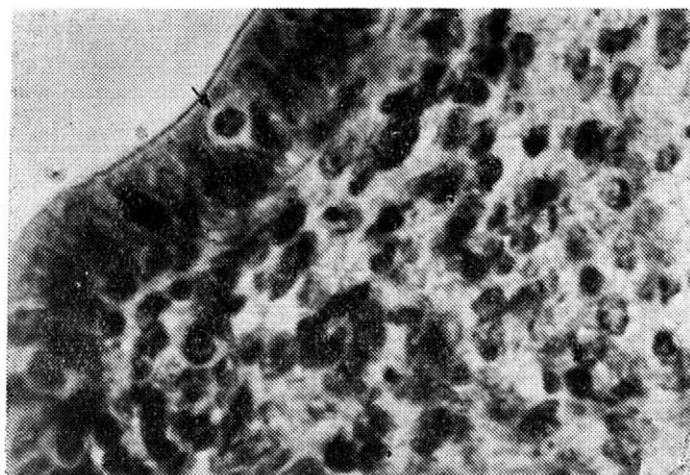
Skupina		Počet vzoriek <i>n</i>	Hodnoty v mikrometroch (μm)		
			$\bar{x}$	$\sigma n - 1$	$m_{\bar{x}}$
Hrúbka sliznice					
Kontrola	CL +	4	2315,43	505,77	252,88
	CL -	6	1983,63	505,20	206,25
Po podaní cloprostenolu	CL +	12	3045,66	405,39	117,03
	CL -	12	2769,08	267,01	77,07
Výška epitelu					
Kontrola	CL +	4	20,49	2,08	1,04
	CL -	4	18,76	2,00	1,00
Po podaní cloprostenolu	CL +	6	23,99	2,67	1,09
	CL -	6	21,93	3,15	1,29

CL + : ipsilaterálny roh maternice s korešpondujúcim aktívnym žltým telieskom

CL - : kontralaterálny roh maternice k aktívnemu žltému teliesku

II. Zmeny výšky epitelu žliaz endometria dojnic vo vzťahu k aktívnemu žltému teliesku (CL) po odznení účinku cloprostenolu — Changes in the thickness of the epithelium of the endometrium glands of cows in relation to active *corpus luteum* (CL) after the fading of the effect of cloprostenol

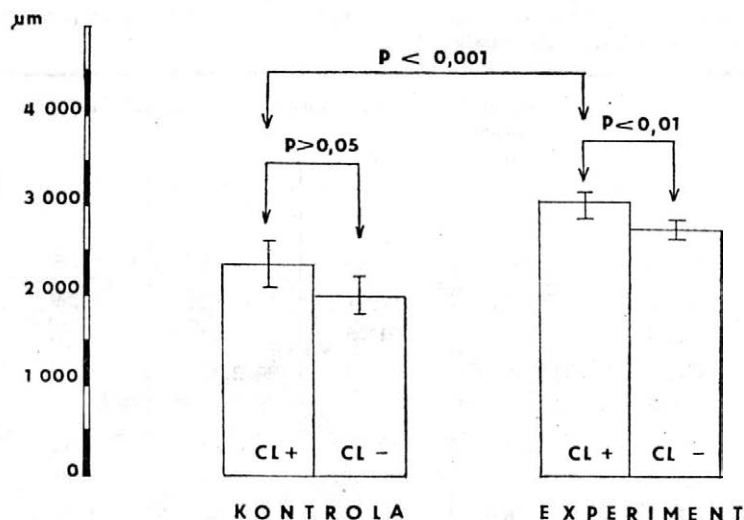
Skupina		Počet vzoriek <i>n</i>	Hodnoty v mikrometroch (μm)		
			$\bar{x}$	$\sigma n - 1$	$m_{\bar{x}}$
Žľazy pod povrchom					
Kontrola	CL +	4	26,28	0,77	0,38
	CL -	4	25,01	3,17	1,59
Po podaní cloprostenolu	CL +	6	21,76	1,92	0,78
	CL -	6	20,54	2,01	0,82
Žľazy v hĺbke					
Kontrola	CL +	4	15,56	0,79	0,50
	CL -	4	15,16	0,61	0,31
Po podaní cloprostenolu	CL +	6	14,29	0,95	0,39
	CL -	6	14,84	0,88	0,36



5. Povrchový epitel endometria s intraepiteliálnou „bledou bunkou“ (šípka). Hematoxylin-eozín. Zväčšenie: objektív 40X; okulár 5X — Surface epithelium of endometrium with an intraepithelial pale cell (arrow). Haematoxylin-eosine. Magnif.: objective 40X; eyepiece 5X

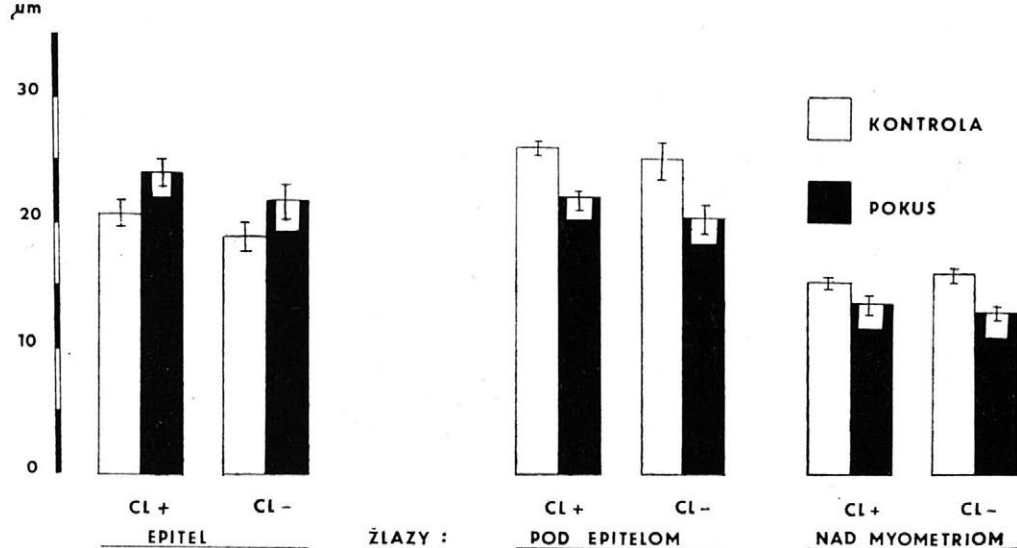
III. Intraepiteliálne lymfoidné bunky v povrchovom epiteli endometria dojníc po podaní cloprostenu — The intraepithelial lymphoid cells in the surface epithelium of the endometrium of cows after cloprosthenol administration

Skupina		Počet hodnotených polí n	Počet lymfoidných buniek		
			$\bar{x}$	$\sigma n - 1$	$m_{\bar{x}}$
Kontrola	CL +	40	9,22	4,07	0,64
	CL -	40	7,07	2,36	0,37
Po podaní cloprostenu	CL +	60	5,48	1,28	0,16
	CL -	60	6,53	2,15	0,28



CL + IPSILATERÁLNY, CL - KONTRALATERÁLNY ROH MATERNICE K AKTÍVNEMU ŽLTÉMU TELIESKU

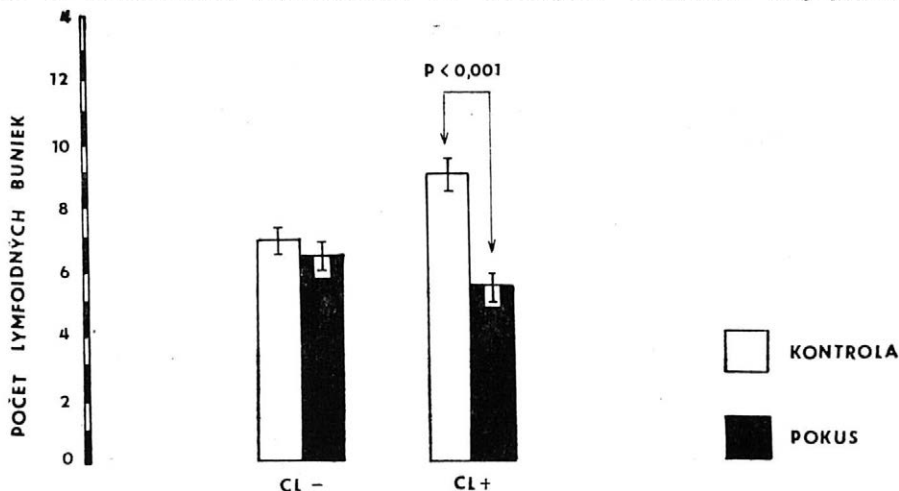
6. Hrúbka endometria dojníc po podaní cloprostenu — Endometrium thickness after the administration of cloprosthenol



7. Výška povrchového epitelu a buniek žliaz endometria dojnic po podaní cloprostenu — The thickness of surface epithelium and endometrium gland cells in cows after the administration of cloprostenol

DISKUSIA

Morfologickú štruktúru endometria a zmeny niektorých histochemických ukazovateľov v sliznici maternice hovädzieho dobytku 72 až 76 hodín od podania syntetického prostaglandínu cloprostenu v prípravku Estrumate (ICI) v dávke 0,5 mg opísali Schvarc a i. (1979). Zistili pritom, že u všetkých pokusných zvierat ošetrovaných cloprostenu, ale aj u tých, ktoré nejavili postovulačné zmeny na vaječníkoch, došlo k zhrubnutiu endometria vo všetkých vrstvách. Najvýraznejšie



CL + IPSILATERÁLNY, CL - KONTRALATERÁLNY ROH MATERNICE K AKTÍVNEMU ŽITÉMU TELIESKU

8. Počet intraepiteliálnych lymfoidných buniek v rohoch maternice dojnic po podaní cloprostenu — The number of intraepithelial lymphoid cells in the uterine horns of cows after the administration of cloprostenol

zhrubnutie pozorovali v subepiteliálnej vrstve v dôsledku silnej edematizácie bez narastania počtu trofických buniek. Opísali výrazné zväčšenie intracelulárneho priestoru so známkami hydratácie v tkanivách. Bunky povrchového epitelu boli o niečo vyššie ako za normálneho cyklu, ale ich nárast nebol taký markantný ako hrúbka subepiteliálnej strômy. Pri uvedených zmenách zistili pomerne silnú variabilitu hrúbky sliznice. Hrúbka sa pohybovala v rozmedzí od 2473,3 do 5435,5 μm .

Kvalitatívne histologické zmeny subepiteliálnych štruktúr a výsledky mikrometrických hodnotení hrúbky endometria a výšky povrchového epitelu sú v súlade s uvedenými zisteniami u kráv 72 až 76 hodín od podania prípravku (Schvarc a i., 1979). Naše pozorovania v ôsmom dni od aplikácie cloprostenolu v prípravku Oestrophon inj. Spofa sú však menej výrazné v dôsledku dlhšieho časového intervalu a uplatnenia reparačných procesov.

Okrúhle bunky s bledou cytoplazmou a výrazným jadrom bohatým na chromatín, ktoré prv boli opísané ako tzv. „bledé bunky“ (pale cells), sú v povrchovom epiteli endometria zmnožené pri chronických endometritídach (László a Gaál, 1969); novšie sú považované za intraepiteliálne lymfoidné bunky ako súčasť tzv. difúzneho lymfoidného tkaniva (Röpke a Everett, 1975; Hermon a Clermont, 1975).

Signifikantné zníženie výskytu intraepiteliálnych lymfoidných buniek po podaní cloprostenolu, ktoré je v súlade s ich zistením vo vajcovodoch tých istých zvierat (Maraček a i., 1984), je pravdepodobne výsledkom stimulovanej migrácie subepiteliálnych lymfoidných buniek (obr. 7), spôsobenej podaným prípravkom. Toto konštatovanie vyplýva aj z novších poznatkov o úlohe prostaglandínov vo vývoji zápalovej reakcie tkanív (Willoughby, 1978). Na bližšie objasnenie a zistenie úlohy lymfoidných buniek v subepiteliálnej vrstve a najmä v intraepiteliálnej lokalizácii bude potrebné vykonať špeciálne zamerané experimentálne štúdium z aspektu regulácie a lokálnej obranyschopnosti pohlavných orgánov (Bukovský a Presl, 1977).

Pri hodnotení dosiahnutých výsledkov je potrebné počítať so zmenami koncentrácie hypofyzárneho luteotropínu (LH), ovariálneho 17-beta estradiolu a progesterónu, ktorých hladina u tých istých zvierat pred odobratím vzoriek na histologické spracovanie bola stanovená v čase pred podaním a po podaní cloprostenolu (Choma a i., 1981). Podobne treba brať do úvahy výsledky dosiahnuté pri hodnotení folikulárneho systému vaječníkov (Maraček a i., 1983) a histologickej štruktúry epitelu vajcovodov (Maraček a i., 1984) u tých istých dojníc.

Dosiahnuté výsledky podporujú názor, že alterácie endometria v intervale 72 až 76 hodín sa v priebehu ďalšieho obdobia reparujú, ale k ôsmemu dňu od podania prípravku nedosahuje reparácia zmien po odznení účinku cloprostenolu takú úroveň, aká je u kontrolných zvierat v štvrtom až piatom dni pohlavného cyklu. Toto zistenie je v súlade s názorom Schvarc a i. (1979), sliznica maternice nedostatočne pripravená pre nidáciu vajčka však môže zapríčiniť nízkú graviditu po podaní prostaglandínov za účelom synchronizácie ruje, resp. podporuje názor, ktorý vyslovil Hansel (1982) o potrebe vylepšovať postupy synchronizácie estru a ovulácie používaním gestagénov v kombinácii s použitím prostaglandínov.

Literatúra

- BÍLEK, P. — KRÁL, J. — BORTELOVÁ, J. — ROUTA, V. — ŠEVČÍK, B.: Sledování účinku přípravku Oestrophan inj. (Spofa) a Estrumate (ICI) při řízení pohlavního cyklu jalovic. *Biol. a Chem. Veter.*, 17, 1981, s. 27-30.
- BUKOVSKÝ, A. — PRESL, J.: Ovarium a imunitní systém. *Českoslov. Gynec.*, 42, 1977, s. 748-766.
- CLOUD, J. G. — CASIDA, L. E.: Histological changes in the uterine horns during the estrous cycle in the ewe in relation to the proximity of the *corpus luteum*. *J. anim. Sci.*, 28, 1969, s. 492-495.
- ČERVENKA, J.: Základy statistiky. Martin, Osveta 1975, s. 67-99.
- HACKETT, A. — HAFS, H. D.: Biochemical and morphological changes in bovine tubular genitalia during the estrous cycle. *J. anim. Sci.*, 29, 1969, s. 35-38.
- HANSEL, W.: Advances in reproductive physiology related to beef reproduction. *Arkans. exp. Stat. spec. Rep.*, 105, 1982, s. 60-77.
- HERMO, L. — CLERMONT, Y.: Light cells within the limiting membrane of rat seminiferous tubules. *Amer. J. Anat.*, 145, 1976, s. 467-484.
- CHOMA, J.: Využitie synchronizácie a detekcie ruje pri riadení reprodukcie hovädzieho dobytku. [Kandidátska dizertácia.] Košice 1979, 154 s. — Ústav experimentálnej veterinárnej medicíny.
- CHOMA, J. — ELEČKO, J. — KAČMÁRIK, J. — KROKAVEC, M. — HAJURKA, J. — MARÁČEK, I. — HENDRICHOVSKÝ, V. — BEKEOVÁ, E.: Výsledky synchronizácie ruje a hormonálne hladiny po Oestrophane inj. (SPOFA). *Biol. a Chem. Veter.*, 17, 1981, s. 61-69.
- KRÁL, J. — DVOŘÁK, M. — ŠEVČÍK, B. — BÍLEK, P. — ROUTA, V. — BORTELOVÁ, J.: Sledování biologické účinnosti Oestrophanu (SPOFA) na jalovicích. *Biol. a Chem. Veter.*, 17, 1981a, s. 17-25.
- KRÁL, J. — ŠEVČÍK, B. — BORTELOVÁ, J. — BOROVÍČKA, A. — ROUTA, V. — DVOŘÁK, M. — BÍLEK, P.: Sledování účinnosti přípravku Oestrophan (SPOFA) a Estrumate (ICI) při řízení estrálního cyklu krav. *Biol. a Chem. Veter.*, 17, 1981b, s. 31-37.
- KUDLÁČ, E.: Vyvolání fertilní říje u anestrických krav syntetickým analogem PGF₂alpha Oestrophan inj. (SPOFA). *Biol. a Chem. Veter.*, 17, 1981, s. 51-60.
- KUDLÁČ, E. — NEDBÁLKOVÁ, J. — STUDENČÍK, B.: Synchronizace říje u jalovic syntetickým analogem PGF₂alpha — Oestrophan inj. (SPOFA). *Biol. a Chem. Veter.*, 17, 1981, s. 43-50.
- LÁSZLÓ, J. — GAÁL, M.: Gynecologic pathology. Budapest, Akadémiai Kiadó 1969, 757 s.
- MARÁČEK, I. — ELEČKO, J. — CHOMA, J. — BEKEOVÁ, E.: Folikulární systém vaječníků po synchronizácii ruje luteolytickým pôsobením cloprostenolu. *Veter. Med. (Praha)*, 28, 1983, s. 705-716.
- MARÁČEK, I. — ELEČKO, J. — HENDRICHOVSKÝ, V. — CHOMA, J. — KARPJAK, I.: Histológia epitelu vajcovodu dojnic po synchronizácii ruje cloprostenolom. *Veter. Med. (Praha)*, 29, 1984, s. 1-8.
- MARINOV, U. — LOVELL, J. E.: Cytology of the bovine uterine epithelium during the estrous cycle. *Amer. J. veter. Res.*, 29, 1968, s. 13-30.
- RÖPKE, C. — EVERETT, N. B.: Proliferative kinetics of large and small intra-epithelial lymphocytes in the small intestine of the mouse. *Amer. J. Anat.*, 145, 1975, s. 395-408.
- SCHVARC, F. — GAMČÍK, P. — MESÁROŠ, P. — PAUER, T.: Sledovanie niektorých ukazovateľov pôsobenia prostaglandínov na morfológickú štruktúru endometria hovädzieho dobytku a oviec. XV. vedecká konferencia VŠV „Aktuálne zdravotné a produkčné problémy hovädzieho dobytku v intenzívnych podmienkach chovu“. Košice, VŠV 1979, s. 49-51.
- UHRÍN, V.: Submikroskopické zmeny glandulárneho epitelu endometria kravy počas pohlavného cyklu. *Veter. Med. (Praha)*, 29, 1984, s. 79-87.
- WILLOUGHBY, D. A.: Inflammation. *Endeavour*, 2, 1978, s. 57-65.

Došlo dňa 2. 3. 1984

МАРАЧЕК, И. — ЭЛЕЧКО, Я. — ГАЮРКА, Я. — ХОМА, Я. — БЕКЕОВА, Е. — ЮШИКОВА, А. (Институт экспериментальной ветеринарии, Кошице): Микроморфология эндометрия коров после синхронизации течки клопростенолом. *Veter. Med. (Praha)*, 29, 1984 (11) : 679-688.

В работе описано исследование микроморфологического показателя эндометрии пяти коров чернопестрой породы после отзвучания синхронизационного действия клопростенола в препарате Эстрофан инъек. Спофа. Две коровы на четвертый и пятый день после течки были контрольными, а три коровы на шестой день полового цикла с ректально пальпированными желтыми тельцами ш.м. получили 0,5 мг клопростенол в 2 мл Эстрофана. На восьмой день после подачи препарата мы путем некроскопии получили образцы рогов матки и после их гистологической обработки экцизии мы 7 μ m сильно парафиновые среды окрасили гематоксилфинеозином реакцией ПАС. Мы наблюдали изменения в ипсилатеральных и контралатеральных рогах матки в отношении к активному желтому телцу. В субэпителиальном слое эндометрии мы описали положение после предыдущей эдематизации с богатой жидкой соединительной тканью и исчезновением клеточной инфильтрации после подачи препарата. Мы исследовали появление интраэпителиальных лимфоидных клеток в поверхностном эпителии эндометрия. На восьмой день после подачи клопростенола продолжалось достоверно утолщение эндометрия ($P < 0,001$). Повышение поверхностного эпителия ипсилатерально со соответствующим желтым телцем было на границе значимости ($P < 0,05$). Клетки непометриальных желез под поверхностью достоверно уменьшились после подачи препарата ипсилатерально к желтому телцу ($P < 0,01$) и контралатерально $P < 0,001$, также как у желез в глубине слизистой оболочки вплотную над миометрием ($P < 0,01$). После подачи клопростенола достоверно уменьшилось появление интраэпителиальных лимфоидных клеток.

эпителий; железы; гистология

MARÁČEK, I. — ELEČKO, J. — HAJURKA, J. — CHOMA, J. — BEKEOVÁ, E. — JUŠÍKOVÁ, A. (Institute of Experimental Veterinary Medicine, Košice): *The Micromorphology of Dairy Cow Endometrium after Heat Synchronization with Cloprostenol*. *Veter. Med.*, (Praha), 29, 1984 (11) : 679-688.

Trials were conducted to study and describe the micromorphological parameters of endometrium in five cows of the Black-Pied breed after the expiration of the synchronizing effect of cloprostenol in the Oestrophan inj. Spofa preparation. Two animals four to five days after oestrus were used as control and three cows on the sixth day of sexual cycle with rectally palpated *corpora lutea* were treated intramuscularly with 0.5 mg cloprostenol in 2 ml of Oestrophan. On the eighth day from the administration of the product, samples of uterine horns were obtained by necropsy and were subjected to histological preparation. Paraffin slices, 7 μ m thick, were stained with haematoxylin-eosine by the PAS reaction. Changes were observed in the ipsilateral and contralateral uterine horns in relation to active *corpus luteum*. A state resulting from previous oedematization, with ample thin connective tissue and fading cell infiltration after the administered preparation, was described in the subepithelial layer of endometrium. The occurrence of intraepithelial lymphoid cells was observed in the surface epithelium of endometrium. A significant increase in the thickness of endometrium ($P < 0.001$) was observed to persist on the eighth day after the administration of cloprostenol. An increase in the thickness of surface epithelium, ipsilateral with the corresponding *corpus luteum*, was on the level of significance ($P < 0.05$). The subsurface cells of endometrial glands shrunk significantly after the administration of the preparation, both ipsilaterally ($P < 0.001$) and contralaterally ($P < 0.001$) to the *corpus luteum*, like in the glands in the depth of the mucous membrane just above myometrium ($P < 0.01$). The occurrence of intraepithelial lymphoid cells decreased significantly after the administration of cloprostenol.

epithelium; glands; histology

Adresa autorov:

MVDr. Imrich Maraček, CSc., prof. MVDr. Ján Elečko, CSc., MVDr. Jarošlav Hajurka, MVDr. Ján Choma, CSc., MVDr. Eva Bekeová, CSc., MVDr. Anna Jušíková, Ústav experimentálnej veterinárnej medicíny, Dukelských hrdinov 1, 040 01 Košice

DISTRIBÚCIA DICHLÓRVOU V ORGANIZME KRÝS A VPLYV KLINOPTILOLITU NA INTOXIKÁCIU

F. Ništiar, J. Hrušovský, J. Mojžiš, P. Mižik

NIŠTIAR, F. — HRUŠOVSKÝ, J. — MOJŽIŠ, J. — MIŽIK, P. (Vojenský veterinárny doškoľovací a výskumný ústav, Košice): *Distribúcia dichlórvosu v organizme krýs a vplyv klinoptilolitu na intoxikáciu*. Veter. Med. (Praha), 29, 1984 (11) : 689-698.

V prvej sérii pokusov boli stanovené fyziologické hodnoty tkanivových cholinesteráz u samcov krýs kmeňa Wistar. V druhej sérii pokusov boli krysy intoxikované *per os* dichlórvosom dávkami 200,0; 128,0; 81,9; 65,5 a 52,4 mg/kg ž. h. Účelom bolo sledovať distribúciu dichlórvosu v organizme krýs na základe inhibície tkanivových cholinesteráz. Pri všetkých sledovaných dávkach dichlórvosu došlo k výraznému poklesu tkanivových cholinesteráz. V tretej sérii pokusov bol overený ochranný účinok sorbentu prírodného pôvodu, klinoptilolitu, aplikovaného *per os* v dávke 1,0 g/kg ž. h. tesne pred intoxikáciou dichlórvosom. Výsledky dokumentujú výrazný ochranný účinok klinoptilolitu pre väčšinu sledovaných tkanív.

cholinesterázy v tkanivách; sorbent prírodného pôvodu; terapia otráv organofosfátmi

Zvyšovanie poľnohospodárskej produkcie je jedným zo základných predpokladov zvyšovania životnej úrovne ľudí. Na znižovanie strát kultúrnych rastlín, zásob potravín a krmív sa v širokom rozsahu používajú rôzne chemické prostriedky — pesticídy. Zavedením a rozšírením aplikácie pesticídov však vzniklo veľa problémov (Bartík a i., 1974). Zvýšením, často až nekontrolovateľným používaním pesticídov v poľnohospodárstve a v lesnom hospodárstve došlo už k celému radu náhodných škôd na úrode, hospodárskych zvieratách a aj u voľne žijúcej zveri. Používanie pesticídov sa dnes už tak rozšírilo, že predstavuje vážne nebezpečenstvo pre človeka, hospodárske aj ostatné zvieratá, ktoré sú vystavené dlhodobej expozícii týmito látkami. Pre uvedené dôvody je potrebné venovať osobitnú pozornosť kontrole obsahu reziduí týchto látok v potravinách a v krmivách. Aj napriek tomu sa neustále zvyšuje ich obsah v organizme ľudí a zvierat s následnými stochastickými a nestochastickými účinkami na ich organizmus, resp. na celé populácie. Touto problematikou sa zaoberajú štúdie na celom svete.

V predloženej práci sme sa zamerali na štúdium distribúcie dichlórvosu v tkanivách krýs po perorálnej intoxikácii. Údaje týkajúce sa distribúcie dichlórvosu v organizme zvierat boli kusé, problém nebol komplexne študovaný (Jensen-Holm a i., 1959; Ward a Glicksberg, 1971; Page a i., 1972; Hughes a Lang, 1973; Vigny

a i., 1978; Schmidt a i., 1979; Grubič a i., 1981). Pri štúdiu sme vychádzali z poznatku, že z klinického hľadiska je sledovanie aktivity AChE (acetylcholinesteráza, E.C.3.1.1.7) a BuChE (butyrylcholinesteráza, E.C.3.1.1.8) rozhodujúcim diagnostickým testom pri intoxikácii organofosfátmi. Zníženie aktivity AChE a BuChE (inhibícia) koreluje s vážnosťou klinického stavu organizmu (Beneš a i., 1981). V poslednej etape štúdia sme overili preventívny účinok klinoptilolitu (zeolit A) pri intoxikácii dichlórvosom.

MATERIÁL A METÓDA

Vyšetrované tkanivá: celý mozog, pečeň, slezina, chrbtová svalovina, stehnová svalovina, bránica *pars muscularis*, myokard, pľúca, žalúdok, duodenum, kolón, obličky, erytrocyty a plazma.

Odobrané tkanivá sme prepláchli vo fyziologickom roztoku (0,89 % NaCl) a osušili sterilnou gásou. Riedili sme ich v 0,2 mol/l Tris-HCl pufrí pri pH 7,6 v pomere 1:10 a homogenizovali homogenizátorom Ultra-Turrax pri teplote 0 °C. Takto homogenizované tkanivo sme ďalej ošetrili 2% Tritonom X 100 v pomere 1:2 na lýzu buniek a nechali sme ho stáť 10 minút pri teplote 0 °C. Potom sme lyzáty odstredili pri 14 000 G/5 min tiež pri teplote 0 °C. V supernatante sme stanovili aktivitu cholinesteráz klasickou metódou podľa Tulacha (1958) s použitím fotokolorimetra Vitatron (Holandsko) pri 540 nm, v 1,0 cm OS planparalelných kyvetách. Erytrocyty a plazma boli spracované metódou, ktorú uviedli Beneš a i. (1981). Aktivita enzýmov je vyjadrená v μ móloch hydrolyzovaného substrátu (30 minút pri teplote 37 °C) na gram tkaniva, resp. na milimetr plazmy alebo hemolyzovaných erytrocytov.

Pokus 1. V prvej etape sme stanovili fyziologické hodnoty cholinesteráz v tkanivách a krvi u 124 samcov krýs kmeňa Wistar o priemernej hmotnosti 200 až 240 g.

Pokus 2. Intoxikovali sme krysy *per os* dichlórvosom (0,0-dimetyl-0-/2,2-dichlorvinyl)fosfát, výroby ZSSR, s účinnosťou 95,9 %; v každom pokuse bola dávka prepočítaná na 100% účinnosť, dávkami 200,0; 128,0; 81,9; 65,5; 52,4 mg/kg ž. h. Pri dávke 52,4 mg/kg boli krysy utratené po 60, 120 a 360 minútach a po 24 hodinách. Pre každú dávku a časovú etapu sme použili 12 krýs.

Pokus 3. Pri dávke 81,9 mg/kg ž. h. sme jednej skupine krýs (8 kusov) aplikovali tesne pred intoxikáciou *per os* 1,0 g klinoptilolitu v destilovanej vode na 1 kg ž. h. Aktivitu cholinesteráz sme stanovili 30 minút po intoxikácii.

Výsledky sme štatisticky vyhodnotili Studentovým t-testom.

VÝSLEDKY A DISKUSIA

Pokus 1. Získané výsledky uvádzame v tab. I, aktivita enzýmov je vyjadrená v μ móloch za 30 minút pri teplote 37 °C na 1 g tkaniva, resp. 1 ml hemolyzovaných erytrocytov, resp. plazmy.

Vo všetkých ostatných pokusoch sme považovali hodnoty uvedené v tab. I za 100% aktivitu.

Pokus 2. V tab. II uvádzame hodnoty cholinesteráz u krýs intoxikovaných *per os* dichlórvosom dávkou 200,0 mg/kg ž. h.

U intoxikovaných zvierat bola zaznamenaná 100% letalita v priebehu troch až 11 minút. Najvýraznejšia inhibícia sa prejavila v aktivite cholinesteráz plazmy, chrbtovej svaloviny, erytrocytov, srdca, duodéna, bránice, žalúdka a mozgu. Menšia inhibícia bola zistená v obličkách, pečeni a v slezine.

Tkanivo	AChE $\pm$ S. D.	BuChE $\pm$ S. D.	n
Mozog	309,24 $\pm$ 28,5	NT ⁺	124
Pečeň	NT	33,15 $\pm$ 4,2	124
Slezina	84,59 $\pm$ 11,2	NT	124
Chrbtová svalovina	NT	44,30 $\pm$ 6,3	120
Stehnová svalovina	NT	30,26 $\pm$ 6,6	112
Bránica	NT	38,51 $\pm$ 4,7	122
Srdce	101,73 $\pm$ 14,6	NT	124
Pľúca	NT	46,63 $\pm$ 3,6	124
Žalúdok	87,88 $\pm$ 9,9	NT	124
Duodénium	249,00 $\pm$ 18,1	NT	110
Kolón	118,50 $\pm$ 12,7	NT	92
Obličky	NT	6,20 $\pm$ 2,9	68
Erytrocyty	54,82 $\pm$ 3,6	NT	124
Plazma	NT	29,30 $\pm$ 7,2	96

⁺ nebolo testované

V tab. III uvádzame hodnoty cholinesteráz u krýs po intoxikácii dichlórvosom *per os* dávkou 128,0 mg/kg ž. h. U intoxikovaných zvierat bola zaznamenaná 100% letalita v priebehu šiestich až 32 minút.

Najvýraznejšia inhibícia bola zistená v plazme, žalúdku, kolóne, duodéne, erytrocytoch a v srdci. Menšia inhibícia bola zistená v slezine a v obličkách. Výraznejšiu inhibíciu v porovnaní s dávkou 200,0 mg v pečeni, slezine a pľúcach je možné vysvetliť tým, že pri tejto dávke zvieratá prežívali dlhšie, a tým bola väčšia možnosť distribúcie dichlórvosu do týchto tkanív.

V tab. IV uvádzame hodnoty cholinesteráz v tkanivách krýs po intoxikácii dichlórvosom *per os* dávkou 81,9 mg/kg ž. h. U intoxikovaných zvierat bola zaznamenaná 100% letalita v priebehu 10 až 50 minút. Najvýraznejšia inhibícia bola zistená v plazme, žalúdku, mozgu a erytrocytoch. Menšia inhibícia bola zistená v obličkách, kolóne, duodéne, bránici a v slezine. V porovnaní s výsledkami z tab. II a III bola evidentne vyššia aktivita cholinesteráz v nižších častiach gastrointestinálneho traktu a v krvi.

V tab. V uvádzame hodnoty cholinesteráz v tkanivách krýs po intoxikácii dichlórvosom *per os* dávkou 65,5 mg/kg ž. h. U intoxikovaných zvierat sa 100% letalita prejavila v priebehu 60 až 240 minút. Najvýraznejšia inhibícia bola zistená v žalúdku, srdci, duodéne, stehnovej svalovine a v pečeni. Slabšia inhibícia bola zistená v obličkách a mozgu.

Na základe porovnania údajov uvedených v tab. II až V je možné konštatovať, že aktivita, resp. inhibícia aktivity cholinesteráz v krvi je

II. Hodnoty cholinesteráz v tkanivách krýs po intoxikácii dichlórvosom *per os* dávkou 200,0 mg/kg ž. h. — Cholinesterase values in the tissues of rats after peroral intoxication with a dichlorvos dose of 200.0 mg per kg l. w.

Tkanivo	Cholinesteráza $\pm$ S. D. (μ mol/30 min/g, resp. ml)	Percento aktivity
Mozog	43,20 $\pm$ 2,8	14,0
Pečeň	18,27 $\pm$ 3,2	55,1
Slezina	36,24 $\pm$ 6,3	42,8
Chrbtová svalovina	1,98 $\pm$ 0,3	4,5
Stehnová svalovina	4,61 $\pm$ 0,9	15,2
Bránica	3,17 $\pm$ 0,8	8,2
Srdce	6,79 $\pm$ 1,1	6,7
Pľúca	16,63 $\pm$ 1,6	35,7
Žalúdok	8,11 $\pm$ 1,7	9,2
Duodenum	16,88 $\pm$ 1,7	6,8
Kolón	34,43 $\pm$ 2,1	29,1
Obličky	4,88 $\pm$ 1,9	78,7
Erytrocyty	3,27 $\pm$ 0,3	6,0
Plazma	0,85 $\pm$ 0,4	2,9

III. Hodnoty cholinesteráz v tkanivách krýs po intoxikácii dichlórvosom *per os* dávkou 128,0 mg/kg ž. h. — Cholinesterase values in the tissues of rats after peroral intoxication with a dichlorvos dose of 128.0 mg per kg l. w.

Tkanivo	Cholinesteráza $\pm$ S. D. (μ mol/30 min/g, resp. ml)	Percento aktivity
Mozog	48,07 $\pm$ 2,6	15,5
Pečeň	4,30 $\pm$ 1,0	13,0
Slezina	27,08 $\pm$ 5,4	32,0
Chrbtová svalovina	11,48 $\pm$ 0,7	25,9
Stehnová svalovina	8,20 $\pm$ 1,2	27,1
Bránica	5,09 $\pm$ 0,8	13,2
Srdce	12,13 $\pm$ 1,9	11,9
Pľúca	9,26 $\pm$ 1,2	19,9
Žalúdok	3,58 $\pm$ 0,6	4,1
Duodenum	14,78 $\pm$ 1,5	5,9
Kolón	6,38 $\pm$ 0,2	5,4
Obličky	1,97 $\pm$ 1,2	31,8
Erytrocyty	3,42 $\pm$ 0,3	6,2
Plazma	0,92 $\pm$ 0,3	3,1

IV. Hodnoty cholinesteráz v tkanivách krýs po intoxikácii dichlórvosom *per os* dávkou 81,9 mg/kg ž. h. — Cholinesterase values in the tissues of rats after peroral intoxication with a dichlorvos dose of 81.9 mg per kg l. w.

Tkanivo	Cholinesteráza $\pm$ S. D. (μ mol/30 min/g, resp. ml)	Percento aktivity
Mozog	20,88 $\pm$ 1,7	6,8
Pečeň	3,77 $\pm$ 0,4	11,4
Slezina	23,18 $\pm$ 1,2	27,4
Chrbtová svalovina	5,31 $\pm$ 0,7	12,0
Stehnová svalovina	3,40 $\pm$ 0,4	11,2
Bránica	10,70 $\pm$ 1,2	27,8
Srdce	14,47 $\pm$ 0,3	14,2
Pľúca	9,45 $\pm$ 0,7	20,3
Žalúdok	2,98 $\pm$ 0,2	3,4
Duodénium	69,89 $\pm$ 2,8	28,1
Kolón	44,11 $\pm$ 4,2	37,2
Obličky	4,11 $\pm$ 2,2	66,3
Erytrocyty	4,85 $\pm$ 0,4	8,9
Plazma	0,97 $\pm$ 0,3	3,3

V. Hodnoty cholinesteráz v tkanivách krýs po intoxikácii dichlórvosom *per os* dávkou 65,5 mg/kg ž. h. — Cholinesterase values in the tissues of rats after peroral intoxication with a dichlorvos dose of 65.5 mg per kg l. w.

Tkanivo	Cholinesteráza $\pm$ S. D. (μ mol/30 min/g, resp. ml)	Percento aktivity
Mozog	98,10 $\pm$ 7,2	31,7
Pečeň	1,79 $\pm$ 0,3	5,4
Slezina	15,02 $\pm$ 1,8	17,8
Chrbtová svalovina	6,20 $\pm$ 0,7	14,0
Stehnová svalovina	1,11 $\pm$ 0,6	3,7
Bránica	5,41 $\pm$ 1,5	14,1
Srdce	2,04 $\pm$ 0,3	2,0
Pľúca	7,22 $\pm$ 1,3	15,5
Žalúdok	1,25 $\pm$ 0,4	1,4
Duodénium	8,95 $\pm$ 1,1	3,6
Kolón	16,61 $\pm$ 3,2	14,0
Obličky	3,85 $\pm$ 2,4	62,1
Erytrocyty	8,23 $\pm$ 0,4	15,0
Plazma	3,75 $\pm$ 0,6	12,8

VI. Hodnoty cholinesteráz v tkanivách kryš po intoxikácii dichlórvosom *per os* dávkou 52,4 mg/kg ž. h. — The values of cholinesterases in rat tissues after peroral intoxication with a dichlorvos dose of 52.4 mg per kg live weight

Tkanivo	Cholinesteráza $\pm$ S. D. (% aktivity)							
	60 min		120 min		360 min		24 hodín	
Mozog	37,69 $\pm$ 1,8	(12,2)	56,99 $\pm$ 2,2	(18,4)	180,16 $\pm$ 12,3	(58,3)	276,40 $\pm$ 17,0	(89,4)
Pečeň	8,62 $\pm$ 0,6	(26,0)	11,06 $\pm$ 0,7	(33,4)	20,92 $\pm$ 1,0	(63,1)	31,80 $\pm$ 3,2	(63,1)
Slezina	31,21 $\pm$ 3,5	(36,9)	31,32 $\pm$ 2,6	(37,0)	28,52 $\pm$ 1,4	(33,7)	54,37 $\pm$ 1,5	(64,3)
Chrbtová svalovina	1,97 $\pm$ 0,5	(4,5)	11,50 $\pm$ 1,1	(26,0)	17,68 $\pm$ 0,8	(39,9)	33,58 $\pm$ 2,3	(75,8)
Stehnová svalovina	11,62 $\pm$ 1,7	(38,4)	8,54 $\pm$ 0,6	(28,2)	15,99 $\pm$ 0,6	(52,8)	21,35 $\pm$ 3,1	(70,6)
Bránica	8,12 $\pm$ 0,7	(21,1)	9,44 $\pm$ 0,5	(24,5)	10,95 $\pm$ 1,1	(28,4)	19,22 $\pm$ 0,9	(49,9)
Srdce	52,52 $\pm$ 1,3	(51,6)	34,94 $\pm$ 1,3	(34,4)	27,46 $\pm$ 1,3	(27,0)	39,23 $\pm$ 1,8	(38,6)
Plúca	15,70 $\pm$ 0,8	(33,7)	28,94 $\pm$ 2,2	(62,1)	24,60 $\pm$ 1,8	(52,8)	17,76 $\pm$ 2,2	(38,1)
Žalúdok	10,32 $\pm$ 0,6	(11,7)	9,55 $\pm$ 0,6	(10,9)	8,35 $\pm$ 0,6	(9,5)	33,41 $\pm$ 3,1	(38,0)
Duodénium	51,46 $\pm$ 4,2	(20,7)	62,82 $\pm$ 4,3	(25,2)	70,60 $\pm$ 3,2	(28,4)	141,53 $\pm$ 8,5	(56,8)
Kolón	65,36 $\pm$ 7,1	(55,2)	32,12 $\pm$ 2,0	(27,1)	49,91 $\pm$ 2,5	(42,1)	66,67 $\pm$ 4,1	(56,3)
Obličky	4,62 $\pm$ 2,6	(74,5)	4,87 $\pm$ 2,7	(78,6)	5,40 $\pm$ 3,0	(87,1)	5,96 $\pm$ 3,2	(96,1)
Erytrocyty	4,97 $\pm$ 0,2	(9,1)	12,53 $\pm$ 0,4	(22,9)	28,42 $\pm$ 0,3	(51,8)	33,12 $\pm$ 0,4	(60,4)
Plazma	1,13 $\pm$ 0,4	(3,9)	7,25 $\pm$ 0,4	(24,7)	13,23 $\pm$ 0,5	(45,5)	17,24 $\pm$ 0,7	(58,8)

VII. Vplyv klinoptilolitu (1,0 g/kg *per os*) na aktivitu tkanivových cholinesteráz krýs, intoxikovaných dichlórvosom *per os* dávkou 81,9 mg/kg ž. h. — The effect of clinoptilolite (1.0 g per kg *per os*) on the activity of the tissue cholinesterases of rats intoxicated perorally with dichlorvos at the dose of 81.9 mg per kg l. w.

Tkanivo	Cholinesteráza $\pm$ S. D. (% aktivita)			
	bez klinoptilolitu		s klinoptilolitom ^{*)}	
Mozog	20,88 $\pm$ 1,7	(6,8)	63,50 $\pm$ 2,5	(20,5)
Pečeň	3,77 $\pm$ 0,4	(11,4)	8,90 $\pm$ 0,6	(26,9)
Slezina	23,18 $\pm$ 1,2	(27,4)	40,00 $\pm$ 1,8	(47,3)
Chrbtová svalovina	5,31 $\pm$ 0,7	(12,0)	12,75 $\pm$ 0,7	(28,8)
Stehnová svalovina	3,40 $\pm$ 0,4	(11,2)	8,25 $\pm$ 0,5	(27,3)
Bránica	10,70 $\pm$ 1,2	(27,8)	17,76 $\pm$ 0,8	(46,1)
Srdce	14,47 $\pm$ 0,3	(14,2)	30,36 $\pm$ 1,3	(29,8)
Plúca	9,45 $\pm$ 0,7	(20,3)	23,00 $\pm$ 1,4	(49,3)
Žalúdok	2,98 $\pm$ 0,2	(3,4)	5,29 $\pm$ 0,7	(6,0)
Duodénium	69,89 $\pm$ 2,8	(28,1)	37,53 $\pm$ 0,8	(15,1)
Kolón	44,11 $\pm$ 4,2	(37,2)	36,30 $\pm$ 1,1	(22,2)
Obličky	4,11 $\pm$ 2,2	(66,3)	4,47 $\pm$ 2,0	(72,1)
Erytrocyty	4,85 $\pm$ 0,4	(8,9)	12,52 $\pm$ 0,2	(22,8)
Plazma	0,97 $\pm$ 0,3	(3,3)	2,48 $\pm$ 0,3	(8,5)

*) aktivitu enzýmu sme stanovili 30 minút po intoxikácii

priamoúmerná dávka organofosfátu. Pretože vo všetkých prípadoch ide o supraletálne dávky, je možné ďalej podotknúť, že v závislosti od dĺžky prežívania sa zvyšuje aj inhibícia cholinesteráz v pečeni, slezine, pľúcach, žalúdku a v duodéne.

V tab. VI uvádzame hodnoty cholinesteráz v tkanivách krýs po intoxikácii dichlórvosom *per os* dávkou 52,4 mg/kg ž. h. V iných pokusoch sme zistili, že LD_{50/24hod} pre dichlórvos je u krýs 52,4 mg/kg ž. h. pri perorálnej aplikácii. Aktivita cholinesteráz bola stanovená po 60, 120 a 360 minútach, resp. po 24 hodinách. V sledovanom časovom období dochádzalo k postupnej reaktivácii (zvyšovaniu aktivity) cholinesteráz v mozgu, pečeni, slezine, chrbtovej a stehnovej svalovine, bránici, duodéne, obličkách, erytrocytoch a v plazme. V srdci bol zistený pokles aktivity cholinesterázy od 60. po 360. minútu po intoxikácii, ktorá potom znovu mierne stúpala. V pľúcach začala aktivita enzýmu po 120. minúte klesať a najnižšia hodnota bola zistená po 24 hodinách. Tento pokles aktivity môže naznačovať možnosť čiastočnej eliminácie dichlórvosu z organizmu aj expiráciou. V žalúdku klesala aktivita enzýmov až po 360. minútu a potom začala postupne stúpať. V kolóne bola najnižšia aktivita medzi 120. a 360. minútou. Na základe týchto údajov je možné konštatovať, že dichlórvos je z organizmu eliminovaný najmä vo feces.

Pokus 3. V tab. VII uvádzame výsledky zistené pri podaní klinoptilolitu tesne pred intoxikáciou. V inom našom pokuse sme zistili, že

klinoptilolit podaný *per os* krysám v dávke 1,0 g/kg ž.h. tesne pred intoxikáciou (cca 10 minút) má čiastočne preventívny účinok a predlži prežívanie zvierat pri intoxikácii dichlórvosom *per os* dávkou 81,9 mg/kg ž.h. na 12 až 24 hodín oproti neošetreným zvieratám, ktoré obyčajne hynú do 60 minút. Tento ochranný účinok poskytuje dostatočnú časovú rezervu na prevedenie špecifickej terapie. Ako to vyplýva z výsledkov uvedených v tab. VII, klinoptilolit viaže značné množstvo organofosfátu a zabráni tým jeho prenikaniu do krvi a orgánov. Zvlášť výrazne sa to odzrkadľuje v aktivite cholinesterázy v mozgu, kde je index ochranného účinku 3,0; ostatné indexy: v plazme 2,58, erytrocytoch 2,56, stehnovej svalovine 2,44, chrbtovej svalovine 2,40, pľúcach 2,43, pečeni 2,36, srdci 2,10, žalúdku 1,76, slezine 1,73 a v bránici 1,66. Veľmi slabý bol ochranný účinok v obličkách (1,09). Na základe našich pokusov je však zjavné, že renálnou cestou sa vylučuje len malé množstvo dichlórvosu. Iná situácia bola v duodéne a kolóne, kde u zvierat ošetrených klinoptilolitom bola evidentne vyššia inhibícia enzýmu, čo potvrdzuje zvýšenú elimináciu dichlórvosu viazaného na klinoptilolit vo fečes. Tento poznatok zjavne potvrdzuje opodstatnenosť zaradenia sorbentov prírodného pôvodu do systému racionálnej terapie, resp. prevencie otráv organofosfátmi, najmä preto, že ich zásluhou preniká pomerne menej organofosfátu do organizmu zvierat, najmä do mäsa a orgánov.

Získané výsledky nám poskytli jasnejší obraz o osude organofosfátov v organizme monogastrických zvierat a potvrdili naše predpoklady o opodstatnenosti zaradenia sorbentov prírodného pôvodu do komplexu racionálnej terapie otráv organofosfátmi, najmä u jatočných zvierat, kde prvoradou úlohou je výroba zdravotne nezávadných surovín — mäsa. Z hľadiska skvalitnenia systému posudzovania mäsa zvierat intoxikovaných organofosfátmi sa ukazujú aj ďalšie perspektívy, najmä využitím progresívnych metód enzýmovej imunoanalýzy (Hunter a Lenz, 1982; Hinman a i., 1983; Nørgaard-Pedersen a i., 1983), ako aj biosenzorov (Baum a Ward, 1971; Yao, 1983), čo bude predmetom našich ďalších štúdií.

Literatúra

- BARTÍK, M. — PISKAČ, A. — MERTLÍK, J. — ŠIKULA, J.: Veterinární toxikologie. Praha, Stát. zeměd. nakl. 1974, s. 93-148.
- BAUM, G. — WARD, F. B.: General enzyme studies with a substrate-selective electrode. Characterization of cholinesterases. *Analyt. Biochem.*, 42, 1971, s. 487-493.
- BENEŠ, J. — MOJŽIŠ, J. — NIŠTIAR, F. — VRZGULA, L. — KOVÁČ, G.: Diagnostický význam stanovení enzymu cholinesterázy. *Veterinářství*, 31, 1981, s. 492-494.
- GRUBIČ, Z. — SKETELJ, J. — KLINAR, B. — BRZIN, M.: Recovery of acetylcholinesterase in the diaphragm, brain, and plasma of the rat after irreversible inhibition by soman: a study of cytochemical localization and molecular forms of the enzyme in the motor end plate. *J. Neurochem.*, 37, 1981, s. 909-916.
- HINMAN, C. L. — HUDSON, R. A. — BUREK, C. L. — GOODLOW, G. — RAUCH, H. C.: An enzyme-linked immunosorbent assay for antibody against acetylcholine receptor. *J. Neurosci. Meth.*, 9, 1983, s. 141-155.
- HUGHES, H. C. — LANG, C. M.: Effect of orally administered dichlorvos on demodectic mange in the dog. *J. Amer. veter. med. Assoc.*, 163, 1973, s. 142.
- HUNTER, K. W. jr. — LENZ, D. E.: Detection and quantification of the organo-

phosphatase insecticide paraoxon by competitive inhibition enzyme immunoassay. Life Sci., 30, 1982, s. 355-361.

JENSEN-HOLM, J. — LAUSEN, H. H. — MILTHERS, K. — MØLLER, K. O.: Determination of the cholinesterase activity in blood and organs by automatic titration with some observations on serious errors of the methods and remarks of the photometric determination. Acta Pharmacol. Toxicol., 15, 1959, s. 384-394.

NØRGAARD-PEDERSEN, B. — HANGAARD, J. — BJERRUN, O. J.: Quantitative enzyme antigen immunoassay of acetylcholinesterase in amniotic fluid. Clin. Chem., 29, 1983, s. 1061-1072.

PAGE, A. C. — LOEFFLER, J. E. — HENDRICKSON, H. R. — HUSTON, C. K. — de VRIES, D. M.: Metabolic fate of dichlorvos in swine. Arch. Toxicol., 30, 1972, s. 19-27.

SCHMIDT, G. — SCHMIDT, M. — NENNER, M. — VETTERLEIN, F.: Effects of dichlorvos (DDVP) inhalation on the activity of acetylcholinesterase in the bronchial tissue of rats. Arch. Toxicol., 42, 1979, s. 191-198.

TULACH, J.: Kolorimetrické stanovení cholinesterázy v lidské krvi. Voj. zdrav. Listy, 27, 1958, s. 513-515.

VIGNY, M. — GISIGER, V. — MASSOULIE, J.: "Non-specific" cholinesterase and acetylcholinesterase in rat tissues: molecular forms, structural and catalytic proteins, and significances of the two enzyme systems. Proc. nat. Acad. U. S. A., 75, 1978, s. 2588-2592.

WARD, E. P. — GLICKSBERG, C. L.: Effect of dichlorvos on blood cholinesterase activity in dogs. J. Amer. veter. med. Assoc., 158, 1971, s. 457-461.

YAO, T.: Flow injection analysis for cholinesterase in blood serum by use of a cholin-sensitive electrode as an amperometric detector. Analyt. chim. Acta, 153, 1983, s. 169-181.

Došlo dňa 26. 6. 1984

НИШТИАР, Ф. — ГРУШОВСКИ, Й. — МОЙЖИШ, Я. — МИЖИК, П. (Военный ветеринарный научно-исследовательский институт по повышению знаний, Кошице): Распределение дихлорвоса в организме крыс и влияние клинотилолита на отравление. Veter. Med. (Praha), 29, 1984 (11) : 689-698.

В первой серии исследований мы установили физиологические величины холинстераза в ткани самцов крыс рода Вистар. Во второй серии исследований крысы были отравлены через рот дихлорвосом дозой 200,0; 128,0; 81,9; 65,5 и 52,4 мг. кг⁻¹ живого веса. Целью было исследовать распределение дихлорвоса в организме крыс на основе ингибирования тканевых холинстераз. При всех исследуемых дозах дихлорвоса наблюдалось значительное понижение тканевых холинстераз. В третьей серии исследований мы обследовали защитное действие сорбента природного характера, клинотилолита, подаваемого через рот в дозе 1,0 г кг⁻¹ живого веса, непосредственно перед отравлением дихлорфосом. Результаты показывают значительное охранное действие клинотилолита для большинства исследуемых тканей.

холинстеразы в тканях; сорбент природного характера; терапия отравлений органофосфатами

NIŠTIAR, F. — HRUŠOVSKÝ, J. — MOJŽIŠ, J. — MIŽIK, P. (Military Veterinary Institute for Post-Gradual Studies and Research, Košice): The Distribution of Dichlorvos in the Bodies of Rats and the Effect of Clinoptilolite on Intoxication. Veter. Med. (Praha), 29, 1974 (11) : 689-698.

In the first series of trials, the physiological values of tissue cholinesterases were determined in the male rats of the Wistar strain. In the second series of trials the rats were perorally intoxicated with dichlorvos at the doses of 200.0, 128.0, 81.9, 65.5 and 52.4 mg per kg live weight. The objective of the trials was to examine the distribution of dichlorvos in the body of a rat on the basis of tissue cholinesterase inhibition. A marked decrease in the level of tissue cholinesterases was recorded at all the dichlorvos doses. In the third series of trials the protective effect of

clinoptilolite was verified; clinoptilolite as a sorbent of natural origin has been administered *per os* at the dose of 1.0 g per kg live weight just before the intoxication with dichlorvos. The results document a marked protective effect of clinoptilolite on most of the tissues studied.

tissue cholinesterases; sorbent of natural origin; organophosphate intoxication therapy

Adresa autorov:

MVDr. František Ništiar, CSc., prof. MVDr. Josef Hrušovský, DrSc., MVDr. Ján Mojžíš, ing. Peter Mižik, Vojenský veterinárny doškoľovací a výskumný ústav, pošt. schr. B-35, 041 51 Košice

VPLYV NIEKTORÝCH PESTICÍDOV NA PRVOKA *TETRAHYMENA PYRIFORMIS*

F. Ništiar, J. Hrušovský, J. Mojžiš

NIŠTIAR, F. — HRUŠOVSKÝ, J. — MOJŽIŠ, J. (Vojenský veterinárny doškolovací a výskumný ústav, Košice): *Vplyv niektorých pesticídov na prvoka Tetrahymena pyriformis*. Veter. Med. (Praha), 29, 1984 (12) : 699-704.

Overili sme toxický účinok vybraných pesticídov: metatiónu v dávkach od 1,49 μg do 100,0 $\text{g} \cdot \text{l}^{-1}$ média; phenmediphamu v dávkach od 24,42 μg do 400,0 $\text{mg} \cdot \text{l}^{-1}$ média; gama-hexachlórkyklohexánu v dávkach od 122,07 μg do 250,0 $\text{mg} \cdot \text{l}^{-1}$ média a chlórmequat v dávkach od 305,16 μg do 20,0 $\text{g} \cdot \text{l}^{-1}$ média na testovací objekt, ktorým bol prvok *Tetrahymena pyriformis*. LD₅₀ pre metatión bola stanovená na 8,94 $\mu\text{g} \cdot \text{l}^{-1}$, LD₁₀₀ v rozmedzí od 23,84 do 47,68 $\mu\text{g} \cdot \text{l}^{-1}$; LD₅₀ pre phenmedipham v rozmedzí od 12,5 do 25,0 $\text{mg} \cdot \text{l}^{-1}$ a LD₁₀₀ je vyššia ako 400,0 $\text{mg} \cdot \text{l}^{-1}$; LD₅₀ pre gama-hexachlórkyklohexán 976,56 $\mu\text{g} \cdot \text{l}^{-1}$ a LD₁₀₀ okolo 7,81 $\text{mg} \cdot \text{l}^{-1}$; LD₅₀ pre chlórmequat v rozmedzí od 312,5 do 625,0 $\text{mg} \cdot \text{l}^{-1}$ a LD₁₀₀ okolo 20,0 $\text{g} \cdot \text{l}^{-1}$ média.

metatión; phenmedipham; gama-hexachlórkyklohexán; chlórmequat; toxicita; organofosfáty; karbamáty; chlórované uhľovodíky; pesticídy

V súčasnom období sa určovanie pesticídnych látok v požívatinách dostáva výrazne do popredia záujmu toxikologických laboratórií. V analýze sa prednostne využívajú metódy fyzikálno-chemické, biochemické a biologické. Fyzikálno-chemické metódy sú založené najmä na princípe chromatografie (papierová chromatografia, chromatografia na tenkej vrstve, plynová chromatografia a vysokotlaková kvapalinová chromatografia) a spektrometrie (hmotová spektrometria, polarografia). Biochemické metódy sú založené na stanovení inhibície špecifických enzýmov, napr. cholinesteráz (acetylcholinesteráza, E.C.3.1.1.7. a butyrylcholinesteráza, E.C.1.1.8.) organofosfátmi a karbamátmi, hexokinázy (E.C.2.7.1.1.) a glukózo-6-fosfát dehydrogenázy (E.C.1.1.1.49.) chlórovanými pesticídmi a pod. Biologické metódy sú veľmi užitočné a vhodné pre screeningové analýzy a na stanovenie biologickej účinnosti študovanej látky. Na testovanie je možné použiť hmyz (*Drosophila melanogaster*, *Musca domestica*, *Aedes aegypti*), kôrovce (*Daphnia magna*, *Daphnia pulex*), ryby (*Lebistes reticulatus*, *Carassius auratus*), pre herbicídy najrôznejšie testovacie rastliny (mrkva, horčica, fazuľa a pod.) — (Zweig, 1963; Davídek a i., 1981).

V poslednom období sa rozšírili práce o využití prvkov, najmä *Tetrahymena pyriformis*, na testovanie pesticídnych látok v biologických materiáloch a v biologickom prostredí (Levy, 1973; Geike a Parasher, 1976; Moravcová, 1976; Dive a Leclerc, 1978; Geike, 1978; Ignatev a Šabliij, 1978; Gaborit a Dive,

1979; Rogerson a Berger, 1981), zvlášť na testovanie chlórovaných insekticídov ako gama-HCH a mirex (Cooley a i., 1972), polychlórované bifenyly (Cooley a i., 1973), 2,4,5-trichlórphenoxyoctová kyselina (Silberstein, 1973). Na našom pracovisku sme testovali z organofosfátov trichlórfon a dichlórvos a modelový karbamát eserín (Ništiar a i., 1981).

V tejto práci sme naše doterajšie pokusy doplnili o stanovenie toxicity ďalších pesticídnych látok na prvoka *Tetrahymena pyriformis*, a to zo skupiny chlórovaných uhľovodíkov gama-HCH a chlórmequat, z organofosfátov metatión a z karbamátov phenmedipham.

MATERIÁL A METÓDY

Prvok *Tetrahymena pyriformis*, kmeň W, bol pre toxicitné testy použitý v technickom prevedení, ako sme už o tom referovali (Ništiar a i., 1981).

Metatión (0,0-dimetyl-0-/3-metyl-4-nitrofenyl/thiofosfát), výroba CHZJD Bratislava, s účinnosťou 98 %, bol aplikovaný v dávkach 1,49; 2,98; 5,96; 11,92; 23,84; 47,68; 95,37; 190,74; 381,48; 762,95 $\mu\text{g} \cdot \text{l}^{-1}$; 1,53; 3,05; 6,10; 12,21; 24,41; 48,83; 97,66; 195,31; 390,63; 781,25 $\text{mg} \cdot \text{l}^{-1}$; 1,56; 3,13; 6,25; 12,50; 25,00; 50,00 a 100,00 $\text{g} \cdot \text{l}^{-1}$ média. Z každej dávky boli spracované štyri paralelné vzorky.

Phenmedipham (3-metoxycarbanylamino fenyl-N/3-metyl fenyl/karbamát), výroba Synthesia Pardubice, s účinnosťou 95 %, bol aplikovaný v dávkach 24,42; 48,83; 97,66; 195,00; 391,00; 781,00 $\mu\text{g} \cdot \text{l}^{-1}$; 1,56; 3,13; 6,25; 12,50; 25,00; 50,00; 100,00; 200,00 a 400,00 $\text{mg} \cdot \text{l}^{-1}$ média. Z každej dávky boli spracované štyri paralelné vzorky.

Gama-HCH (gama-hexachlórčyklohexán, Skabacid Spofa) bol aplikovaný v dávkach 122,07; 244,14; 488,28; 976,56 $\mu\text{g} \cdot \text{l}^{-1}$; 1,95; 3,91; 7,81; 15,63; 31,25; 62,50; 125,00 a 250,00 $\text{mg} \cdot \text{l}^{-1}$ média. Z každej dávky boli spracované štyri paralelné vzorky.

Chlórmequat, výroba Synthesia Kolín, s účinnosťou 99,9 %, bol aplikovaný v dávkach 305,16; 610,31 $\mu\text{g} \cdot \text{l}^{-1}$; 1,22; 2,44; 4,88; 9,77; 19,53; 39,06; 78,13; 156,25; 312,50; 625,00 $\text{mg} \cdot \text{l}^{-1}$; 1,25; 2,50; 5,00; 10,00 a 20,00 $\text{g} \cdot \text{l}^{-1}$ média. Z každej dávky boli spracované štyri paralelné vzorky.

VÝSLEDKY A DISKUSIA

Pri stanovení toxicity metatiónu boli najvýraznejšie morfológické zmeny reprezentované zaguľacovaním buniek, vakuolárnou degeneráciou, hypomotilitou až amotilitou; pri vyšších koncentráciách organofosfátovej noxy dochádzalo k narušeniu cytoplazmatickej membrány a k lýze buniek.

Výsledky nepriameho testu sú uvedené v tab. I. Na základe zistených údajov možno hodnotu LD₅₀ stanoviť na 8,94 $\mu\text{g} \cdot \text{l}^{-1}$, hodnotu LD₁₀₀ v rozmedzí 23,84 až 47,68 $\mu\text{g} \cdot \text{l}^{-1}$.

Pri porovnaní toxicity nami študovaných organofosfátov trichlórfon, dichlórvos (Ništiar a i., 1981) a metatión môžeme konštatovať, že pre testovací organizmus, prvoka *Tetrahymena pyriformis*, bol najtoxickejší metatión, zatiaľ čo toxicita trichlórfonu a dichlórvosu bola skoro rovnaká.

Pri stanovení toxicity phenmediphamu boli morfológické zmeny málo výrazné, reprezentované najmä hypomotilitou až amotilitou a lýzou buniek.

Výsledky nepriameho testu sú uvedené v tab. II. Na základe zistených údajov možno hodnotu LD₅₀ stanoviť v rozmedzí 12,5 až 25,0 $\text{mg} \cdot \text{l}^{-1}$, LD₁₀₀ je vyššia ako 400,0 $\text{mg} \cdot \text{l}^{-1}$ média.

I. Vplyv metatiónu na prvoka *Tetrahymena pyriformis*, kmeň W — The effect of metathion on the protozoan *Tetrahymena pyriformis*, strain W

Dávka noxy na liter	Počet buniek na mililiter	Percento
Kontrola	126 563 (121 875 — 131 250)	100,0 (96,8 — 102,9)
1,49 µg	117 188 (112 500 — 121 875)	93,3 (88,8 — 96,3)
2,98 µg	92 188 (75 000 — 103 125)	72,8 (59,2 — 81,5)
5,96 µg	68 750 (56 250 — 81 250)	54,3 (44,4 — 64,2)
11,92 µg	57 813 (50 000 — 68 750)	45,7 (39,5 — 54,3)
23,84 µg	10 938 (6 250 — 15 625)	8,6 (4,9 — 12,3)
47,68 µg	0	0
95,37 µg	0	0
190,74 µg	0	0
381,48 µg	0	0
762,95 µg	0	0
1,53 mg	0	0
3,05 mg	0	0
6,10 mg	0	0
12,21 mg	0	0

II. Vplyv phenmediphamu na prvoka *Tetrahymena pyriformis*, kmeň W — The effect of phenmedipham on the protozoan *Tetrahymena pyriformis*, strain W

Dávka noxy na liter	Počet buniek na mililiter	Percento
Kontrola	323 438 (318 750 — 328 125)	100,0 (98,6 — 101,4)
24,42 µg	323 438 (318 750 — 325 000)	100,0 (98,6 — 100,5)
48,83 µg	318 750 (312 500 — 325 000)	98,6 (96,6 — 100,5)
97,66 µg	295 313 (281 250 — 306 250)	91,3 (87,0 — 94,7)
195,00 µg	268 750 (253 125 — 281 250)	83,1 (78,3 — 87,0)
391,00 µg	243 750 (237 500 — 253 125)	75,4 (73,4 — 78,3)
781,00 µg	239 063 (218 750 — 276 000)	73,9 (67,6 — 85,0)
1,56 mg	229 688 (218 750 — 250 000)	71,0 (67,6 — 77,3)
3,13 mg	225 000 (212 500 — 243 750)	69,6 (65,7 — 75,4)
6,25 mg	203 125 (187 500 — 212 500)	62,8 (58,0 — 65,7)
12,50 mg	178 125 (171 875 — 181 240)	55,1 (53,1 — 56,0)
25,00 mg	123 438 (112 500 — 134 375)	38,2 (34,8 — 41,5)
50,00 mg	123 438 (87 500 — 134 375)	38,2 (27,1 — 41,5)
100,00 mg	123 438 (112 500 — 137 500)	38,2 (34,8 — 42,5)
200,00 mg	104 688 (93 750 — 112 500)	32,4 (29,0 — 34,8)
400,00 mg	81 250 (40 625 — 104 688)	25,1 (12,6 — 32,4)

III. Vplyv gama-HCH na prvoka *Tetrahymena pyriformis*, kmeň W — The effect of gamma-HCH on the protozoan *Tetrahymena pyriformis*, strain W

Dávka noxy na liter	Počet buniek na mililiter	Percento
Kontrola	131 250 (121 875 — 140 625)	100,0 (92,9 — 107,1)
122,07 µg	121 875 (115 625 — 128 125)	92,9 (88,1 — 97,6)
244,14 µg	104 688 (84 375 — 115 625)	79,8 (64,3 — 88,1)
488,28 µg	89 063 (78 125 — 100 000)	67,9 (59,5 — 76,2)
976,56 µg	62 500 (56 250 — 68 750)	47,6 (42,9 — 52,4)
1,95 mg	26 563 (15 625 — 37 500)	20,2 (11,9 — 28,6)
3,91 mg	14 063 (3 125 — 21 875)	10,7 (2,4 — 16,7)
7,81 mg	4 061 (0 — 6 250)	3,1 (0,0 — 4,8)
15,63 mg	0	0
31,25 mg	0	0
62,50 mg	0	0
125,00 mg	0	0
250,00 mg	0	0

IV. Vplyv chlórmequatu na prvoka *Tetrahymena pyriformis*, kmeň W — The effect of chlormequat on the protozoan *Tetrahymena pyriformis*, strain W

Dávka noxy na liter	Počet buniek na mililiter	Percento
Kontrola	156 250	100,0
305,16 µg	148 438 (146 875 — 153 125)	95,0 (94,0 — 98,0)
610,31 µg	146 875	94,0
1,22 mg	146 875 (146 875 — 150 000)	94,0 (94,0 — 96,0)
2,44 mg	146 875 (146 875 — 150 000)	94,0 (94,0 — 96,0)
4,88 mg	146 875	94,0
9,77 mg	146 875 (146 875 — 150 000)	94,0 (94,0 — 96,0)
19,53 mg	139 063 (137 500 — 140 625)	89,0 (88,0 — 90,0)
39,06 mg	135 938 (131 240 — 137 500)	87,0 (84,0 — 88,0)
78,13 mg	132 813 (131 240 — 134 375)	85,0 (84,0 — 86,0)
156,25 mg	129 688 (125 000 — 131 240)	83,0 (80,0 — 84,0)
312,50 mg	75 000 (71 875 — 78 125)	48,0 (46,0 — 50,0)
625,00 mg	75 000 (71 875 — 78 125)	48,0 (46,0 — 50,0)
1,25 g	70 313 (65 625 — 75 000)	45,0 (42,0 — 48,0)
2,50 g	67 188 (65 625 — 68 750)	43,0 (42,0 — 44,0)
5,00 g	62 500	40,0
10,00 g	29 688 (28 125 — 31 250)	19,0 (18,0 — 20,0)
20,00 g	0	0

Pri porovnaní toxicity modelového karbamátu — eserínu [Ništiar a i., 1981] a phenmediphamu môžeme konštatovať, že ich toxicita pre prvoka *Tetrahymena pyriformis* je skoro rovnaká.

Pri stanovení toxicity gama-hexachlór-cyklohexánu boli morfológické zmeny reprezentované zaguľacovaním buniek, vakuolárnou degeneráciou, hypomotilitou až amotilitou a lýzou buniek.

Výsledky nepriameho testu sú uvedené v tab. III. Na základe zistených údajov možno hodnotu LD₅₀ stanoviť na 976,56 $\mu\text{g} \cdot \text{l}^{-1}$, hodnotu LD₁₀₀ okolo 7,81 $\text{mg} \cdot \text{l}^{-1}$ média.

Pri stanovení toxicity chlórmequat u boli morfológické zmeny málo výrazné, reprezentované hypomotilitou až amotilitou. V ojedinelých prípadoch došlo k rozpadu jadra buniek s následnou lýzou celej bunky.

Výsledky nepriameho testu sú uvedené v tab. IV. Na základe zistených údajov možno hodnotu LD₅₀ stanoviť v rozmedzí 312,5 až 625,0 $\text{mg} \cdot \text{l}^{-1}$, hodnotu LD₁₀₀ okolo 20,0 $\text{g} \cdot \text{l}^{-1}$ média.

Pri porovnaní toxicity sledovaných chlórovaných uhľovodíkov môžeme konštatovať, že gama-hexachlór-cyklohexán bol pre prvoka *Tetrahymena pyriformis* výrazne toxickejší.

Po celkovom zhodnotení sledovaných pesticídnych látok môžeme konštatovať, že najvyššia toxicita bola zistená u metatiónu a gama-hexachlór-cyklohexánu, zatiaľ čo najnižšia bola u chlórmequat.

Po doplnení týchto štúdií sledovaním vplyvu uvedených pesticídov na vybrané enzýmy, ako sú acetylcholinesteráza, hexokináza a glukózo-6-fosfát dehydrogenáza, bude možné screening týchto látok pri využití testovacieho organizmu — prvoka *Tetrahymena pyriformis* — ďalej skvalitniť.

Literatúra

- COOLEY, N. R. — KELTNER, J. M. jr. — FORESTER, J.: Mirex and Aroclor 1254: effect on and accumulation by *Tetrahymena pyriformis* strain W. J. Protozool., 18, 1972, s. 636-638.
- COOLEY, N. R. — KELTNER, J. M. jr. — FORESTER, J.: Polychlorinated biphenyls, Aroclors 1248 and 1260: effect on and accumulation by *Tetrahymena pyriformis*. J. Protozool., 20, 1973, s. 443-445.
- DAVÍDEK, J. — HRDLÍČKA, J. — KARVÁNEK, M. — POKORNÝ, J. — SEIFERT, J. — VELÍŠEK, J.: Laboratorní příručka analýzy potravin. Praha, SNTL 1981, s. 545-610.
- DIVE, D. G. — LECLERC, H.: A variability test for bioassay of toxicants with protozoa. J. Protozool., 25, 1978, s. 51A.
- GABORIT, J. M. — DIVE, D. G.: Synchronous *Tetrahymena* as a toxicological tool. A preliminary report. J. Protozool., 26, 1979, s. 60A-61A.
- GEIKE, F.: Effects of hexachlorobenzene (HCB) (environmental contaminant) on the activity of some enzymes from *Tetrahymena pyriformis*. Bull. envir. Contam. Toxicol., 20, 1978, s. 640-646.
- GEIKE, F. — PARASHER, C. D.: Effect of hexachlorobenzene (HCB) on growth of *Tetrahymena pyriformis*. Exp. Contam. Toxicol., 16, 1976, s. 347-353.
- IGNATEV, A. D. — ŠABLIJ, V. Y.: Ispol'zovanie infuzorii *Tetrachimeny piriformis* kak test-objekta pri biologičeskikh issledovanijach v sel'skom chozjajstve. Moskva, VASCHNIL 1978, s. 1-52.
- LEVY, M. R.: Effects of some environmental factors on the biochemistry, physiology, and metabolism of *Tetrahymena*. In: ELLIOT, A. M. (ed.): Biology of *Tetrahymena*. Stroudsburg, Dowden, Hutchinson, and Ross 1973, s. 227-257.
- MORAVCOVÁ, V.: Axenic culture of *Tetrahymena pyriformis* as toxicological tool. Acta hydrochim. hydrobiol., 4, 1976, s. 83-94.

NIŠTIAR, F. — HRUŠOVSKÝ, J. — BENEŠ, J.: Využitie prvoka *Tetrahymena pyriformis* pre testovanie kontaminácie biologických materiálov organofosfátmi a karbamátmi. Veter. Med. (Praha), 26, 1981, s. 695-700.

ROGERSON, A. — BERGER, J.: The toxicity of the dispersant Corexit 9527 and oil-dispersant mixtures to ciliate protozoa. Chemosphere, 10, 1981, s. 33-40.

SILBERSTEIN, G. B.: Effects of the herbicide 2,4,5-trichlorophenoxyacetic acid on the protozoan *Tetrahymena* strain ST. Diss. Abstrs. int. (B), 34, 1973, s. 1889-1890.

ZWEIG, G. (ed.): Analytical methods for pesticides. New York — London, Academic Press 1963.

Došlo dňa 26. 6. 1984

НИШТИАР, Ф. — ГРУШОВСКИ, Й. — МОЙЖИШ, Я. (Военный ветеринарный научно-исследовательский институт по повышению знаний, Кошице): Влияние некоторых пестицидных веществ на *Tetrahymena pyriformis* Veter. Med. (Praha), 29, 1984 (12) : 699-704.

Мы исследовали токсическое действие выбранных пестицидных веществ: метатиона в дозах от 1,49 мкг до 100,0 г. л⁻¹ среды; фенмедифама в дозах от 24,42 мкг до 400,0 мг. л⁻¹ среды; гамма-гексахлорциклогексана в дозах от 122,07 мкг до 250,0 мг. л⁻¹ среды и хлормеката в дозах от 305,16 мкг до 20,0 г. л⁻¹ среды на объект тестирования — протисты *Tetrahymena pyriformis*. LD₅₀ для метатиона было определено на 8,94 мкг. л⁻¹ и LD₁₀₀ в диапазоне 23,84—47,68 мкг. ч⁻¹; LD₅₀ для фенмедифама в диапазоне 12,5—25,0 мг. л⁻¹ и LD₁₀₀ более, чем 400,0 мг. л⁻¹; LD₅₀ для гамма-гексахлорциклогексана 976,56 мкг. л⁻¹ и LD₁₀₀ приблизительно 7,81 мг. л⁻¹; LD₅₀ для хлормеката в диапазоне 312,5—625,0 мг. л⁻¹ и LD₁₀₀ приблизительно 20,0 г. л⁻¹ среды.

метатион; фенмедифам; гамма-гексахлорциклогексан; хлормекат; токсичность; органофосфаты; карбаматы; хлорированные углеводороды; пестициды

NIŠTIAR, F. — HRUŠOVSKÝ, J. — MOJŽIŠ, J. (Military Veterinary Institute for Post-Gradual Studies and Research, Košice): The Effect of some Pesticidal Substances on *Tetrahymena pyriformis*. Veter. Med. (Praha), 29, 1984 (12) : 699-704.

The toxic effect of the following pesticides was examined: metathion (doses from 1.49 µg to 100.0 g per litre of medium), phenmedipham (doses from 24.42 µg to 400.0 mg per litre of medium), gamma-hexachlorocyclohexane (doses from 122.07 µg to 250.0 mg per litre of medium), and chlormequat (doses from 305.16 µg to 20.0 g per litre of medium). The tests were performed on the protozoan *Tetrahymena pyriformis*. The LD₅₀ of metathion was found to be 8.94 µg per litre and the LD₁₀₀ ranged from 23.84 to 47.68 µg per litre. In phenmedipham the LD₅₀ ranged from 12.5 to 25.0 mg per litre and its LD₁₀₀ was above 400.0 mg per litre. The LD₅₀ of gamma-hexachlorocyclohexane is 976.56 µg per litre and LD₁₀₀ about 7.91 mg per litre. The LD₅₀ of chlormequat ranged from 312.5 to 625.0 mg per litre and LD₁₀₀ was about 20.0 g per litre of medium.

metathion; phenmedipham; gamma-hexachlorocyclohexane; chlormequat; toxicity; organophosphates; carbamates; chlorinated carbohydrates; pesticides

Adresa autorov:

MVDr. František Ništiar, CSc., prof. MVDr. Jozef Hrušovský, DrSc., MVDr. Ján Mojžiš, Vojenský veterinárny doškoľovací a výskumný ústav, Kukučínova 2, 041 15 Košice

OBSAH

Hrušovský J.: Životní jubileum akademika Otto Jaroslava Vrtiaka	641
Svrček Š., Ondrejka R., Mlynarčíková K., Švec J.: Besnota chrčkov rolných (<i>Cricetus cricetus</i>) na Slovensku	643
Matouch O., Jaroš J., Pohl P.: Vylučování viru vztekliny u lišek po experimentální infekci	653
Konrád J., Cupák M., Hrušovský J., Husák S.: Vliv dlouhodobé fyzické a psychické výcvikové zátěže na červený krevní obraz psa	659
Elečko J., Maraček I., Choma J., Hajurka J., Hendrichovský V., Lázár L., Krajničáková M.: Cervikálny hlien maternice jalovic v čase ruje a inseminácie po skrmovaní syntetického beta-karoténu	669
Maraček I., Elečko J., Hajurka J., Choma J., Bekeová E., Jušíková A.: Mikromorfológia endometria dojnic po synchronizácii ruje cloprostamolom	679
Ništiar F., Hrušovský J., Mojžiš J., Mižik P.: Distribúcia dichlórvosu v organizme kryš a vplyv klinoptilolitu na intoxikáciu	689
Ništiar F., Hrušovský J., Mojžiš J.: Vplyv niektorých pesticídov na prvoka <i>Tetrahymena pyriformis</i>	699

СОДЕРЖАНИЕ

Шврчек Ш., Ондрейка Р., Млинарчикова К., Шве́ц Я.: Бешенство хомячков полевых (<i>Cricetus cricetus</i>) в Словакии	643
Матух О., Ярош Я., Погл П.: Выделение вируса бешенства у лисы после экспериментальной инфекции	653
Конрад Я., Цупак М., Грушовски Й., Гусак С.: Влияние долго продолжающейся физической и психической нагрузки на красную картину крови при дрессировке собак	659
Элечко Я., Марачек И., Хома Я., Гаюрка Я., Гендриховски В., Лазар Л., Крайничакова М.: Шеечная слизь матки нетелей в период течки и искусственное осеменение после скормливания синтетического бета-каротина	669
Марачек И., Элечко Я., Гаюрка Я., Хома Я., Бекеова Е., Юшикова А.: Микроморфология эндометрия коров после синхронизации течки хлоппростенолом	679
Ништиар Ф., Грушовски Й., Мойжиш Я., Мижик П.: Распределение дихлорвоса в организме крыс и влияние клиноптилолита на отравление	689
Ништиар Ф., Грушовски Й., Мойжиш Я.: Влияние некоторых пестицидных веществ на <i>Tetrahymena pyriformis</i>	699

CONTENTS

Svrček Š., Ondrejka R., Mlynarčíková K., Švec J.: Rabies in Common Hamster (<i>Cricetus cricetus</i>) in Slovakia	643
Matouch O., Jaroš J., Pohl P.: The Excretion of the Rabies Virus by Foxes after Experimental Infection	653
Konrád J., Cupák M., Hrušovský J., Husák S.: The Effect of Long-Continued Physical and Psychical Load of Training on the Red Blood Picture in the Dog	659
Elečko J., Maraček I., Choma J., Hajurka J., Hendrichovský V., Lázár L., Krajničáková M.: The Cervical Mucus of Heifer Uterus during Heat and Insemination after the Administration of Synthetic Beta-Carotene	669
Maraček I., Elečko J., Hajurka J., Choma J., Bekeová E., Jušíková A.: The Micromorphology of Dairy Cow Endometrium after Heat Synchronization with Cloprostenol	679
Ništiar F., Hrušovský J., Mojžiš J., Mižik P.: The Distribution of Dichlorvos in the Bodies of Rats and the Effect of Clinoptilolite on Intoxication	689
Ništiar F., Hrušovský J., Mojžiš J.: The Effect of some Pesticidal Substances on <i>Tetrahymena pyriformis</i>	699

Rukopisy odevzdány k tisku 3. 8. 1984 — Podepsáno k tisku 1. 10. 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 MfR, novinářské závody, n. p., závod 6, tř. Lidových milicí 22, 120 00 Praha 2.