

VĚDECKÝ ČASOPIS



VETERINÁRNÍ MEDICÍNA

2

ROČNÍK 31 (LIX)
PRAHA
ÚNOR 1986
CENA 10 Kčs
CS ISSN 0590-5214

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 1986

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

■
Научный журнал VETERINÁRNÍ MEDICÍNA публикует обзоры, анализы и научные статьи о решенных заданиях 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.

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

VLIV PŘÍJMU MLÉČNÉ KRMNÉ SMĚSI A PLNOTUČNÉHO MLÉKA NA VÝVOJ VYBRANÝCH UKAZATELŮ V KREVNI PLAZMĚ TELAT

P. Jagoš, J. Bouda, M. Skřivánek

JAGOŠ, P. — BOUDA, J. — SKŘIVÁNEK, M. (Vysoká škola veterinární, Brno): *Vliv příjmu mléčné krmné směsi a plnotučného mléka na vývoj vybraných ukazatelů v krevní plazmě telat*. Veter. Med. (Praha), 31, 1986 (2) : 65-73. Sledovali jsme vliv dvou různých způsobů mléčné výživy na zdraví a vývoj telat. Pokusná skupina ($n = 10$) byla po ukončení mlezivové výživy krmena plnotučným mlékem, kontrolní skupina ($n = 10$) mléčnou krmnou směsí Lak-tosan. Krev pro biochemické vyšetření byla telatům odebírána do tří měsíců věku v týdenních intervalech, později jednou měsíčně. Obsah močoviny, stanovený v krevní plazmě telat pokusné skupiny, byl ve čtvrtém až sedmém týdnu věku významně nižší. Plazmatické hladiny dusíku, draslíku, vápníku a hořčíku se u pokusné a kontrolní skupiny významně nelišily a byly v mezích referenčních hodnot. Ve věku šest až devět týdnů byl obsah anorganického fosforu v plazmě pokusných zvířat statisticky významně vyšší. Koncentrace vitamínu A v krevní plazmě obou skupin zvířat se významně nelišily. Obsah vitamínu E v krevní plazmě telat pokusné skupiny byl ve čtvrtém až osmém týdnu věku statisticky významně vyšší. Plazmatické aktivity aspartátamino-transferázy (AST) a gamaglutamyltransferázy (GMT) nevykazovaly mezi oběma skupinami významné rozdíly. Aktivity alkalické fosfatázy (ALP) byly ve třetím až pátém týdnu života významně vyšší u skupiny pokusných zvířat. Průměrné denní přírůstky hmotnosti byly od pátého do 18. týdne věku významně vyšší u telat krmených plnotučným mlékem.

výživa; zdravotní stav; sodík; draslík; vápník; hořčík; anorganický fosfor; močovina; enzymy AST, GMT, ALP; vitamín A; vitamín E

Základem úspěšného rozvoje chovu skotu je produkce dostatečného počtu zdravých zvířat. Vysoké ztráty při jejich odchovu vyvolávají nezbytnost využívat pro obměnu stáda i biologicky méněcenná zvířata, jejichž zařazení do chovu snižuje konečný efekt realizace plemenářské práce (Š r á m e k, 1983). Nejvýznamnější podmínkou pro snížení ztrát, zvláště pak v podmínkách velkovýrobních technologií, je plné respektování fyziologických potřeb zvířat (J a g o š a B o u d a, 1981a).

I když je zdravotní stav telat ovlivňován již péčí o vysokobřezí plemence, kritické období jejich odchovu představuje především raně postnatální perioda mlezivové a mléčné výživy a přechod na výživu rostlinnou. Zabezpečení kvalitní výživy je vedle dobré úrovně ošetrovatelské práce a správné zoohygieny hlavním předpokladem k tomu, aby výsledky v chovu telat byly úspěšné.

Klasická výživa telat byla ve velkokapacitních teletnicích v plném rozsahu nahrazena průmyslově vyráběnými mléčnými krmnými směsmi (P i n ě k, 1982). Jejich nevýhodou je vysoká výrobní energetická spotřeba. Známý jsou i některé biologické nedostatky mléčných krmných směsí, jako jsou snížené hladiny tuku a s tím související nízké

koncentrace vitamínů A, D a E a také snížená stravitelnost bílkovinné složky, způsobené denaturací při sušení mléka.

Uvedené důvody, společně s dosahovaným vzestupem mléčné užitkovosti dojníc a současnou orientací na uplatňování výstavby faremních teletníků určených k odchovu telat do tří měsíců věku, vedou k možnosti znovu posoudit využití plnotučného mléka pro výživu telat.

Cílem práce bylo ověřit vliv dvou různých způsobů mléčné výživy na celkový zdravotní stav a vývoj telat. Z biochemických ukazatelů byla zvýšená pozornost zaměřena na hladiny močoviny, makroelementů, vitamínů a aktivity enzymů v krevní plazmě.

MATERIÁL A METODY

Do pokusu byly zařazeny dvě skupiny telat (ČESTR × ČN plemene), každá o deseti kusech. Všechna zvířata byla společně ustájena v samostatné sekci pavilónu mléčné výživy velkokapacitního teletníku. Pokusné skupině bylo po ukončení mlezivového období podáváno plnotučné mléko o tučnosti 3,9 až 4,1 %, kontrolní skupině mléčná krmná směs Laktosan s obsahem 18 % tuku, při napájení ředěná v poměru 1 : 9. Mléčná výživa byla ukončena k 54. dni průměrného věku zvířat

I. Mléčná výživa pokusných a kontrolních zvířat — Milk feeding in the test and control animals

Věk telat (dny)	Pokusná skupina - mléko litrů/tele/den	Kontrolní skupina - Laktosan litrů/tele/den
8–14	4,9	6,0
15–21	6,4	7,0
22–35	6,4	8,0
36–42	7,5	8,0
43–51	6,5	6,0
52–54	odstav	odstav

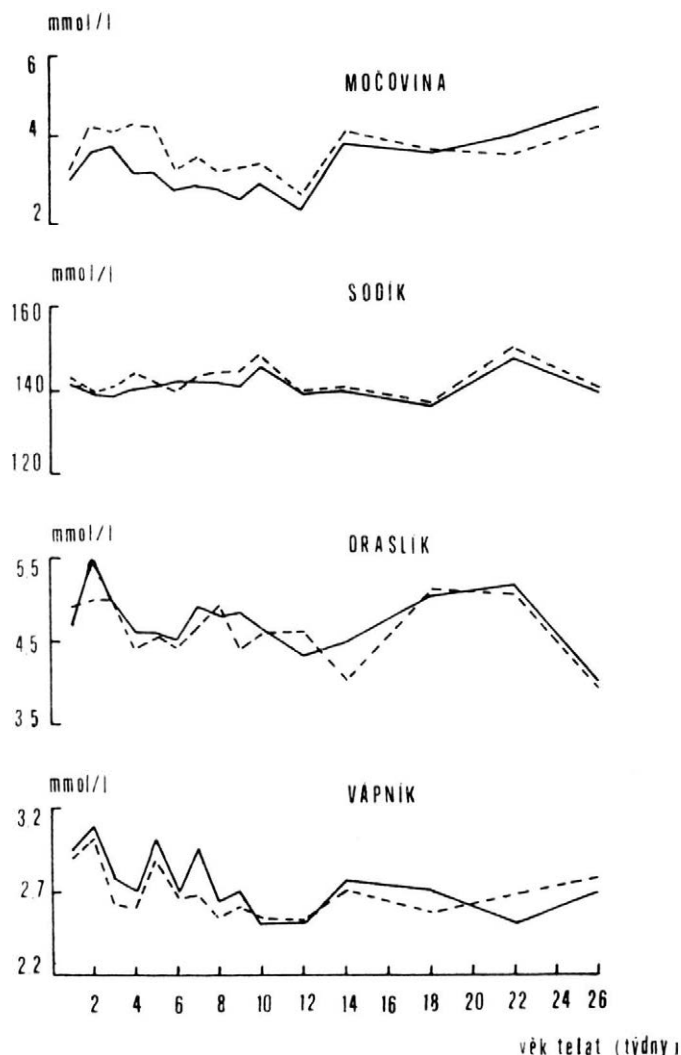
(tab. I). Celková spotřeba plnotučného mléka na jedno tele pokusné skupiny činila 290 litrů, u mléčné krmné směsi Laktosan to bylo 313 litrů. Od 14. dne věku byla telatům obou skupin předkládána ve stejném množství jadrná krmná směs TG, kvalitní vojtěškové seno a voda. Zvířata byla pravidelně vážena, byl hodnocen jejich zdravotní stav a vývoj. Krev k biochemickému vyšetření byla odebírána do tří měsíců věku v týdenních intervalech, později jednou měsíčně, a to z *vena jugularis* vždy tři hodiny po ranním nakrmení. Byla sledována zvířata do šesti měsíců věku.

Plazmatické hladiny sodíku, draslíku, vápníku a hořčíku byly stanoveny atomovou absorpční spektrofotometrií, hladiny anorganického fosforu, močoviny a aktivity aspartátaminotransferázy (AST), gamaglutamyltransferázy (GMT) a alkalické fosfatázy (ALP) v plazmě byly určeny fotometricky pomocí Bio-testů Lachema. Vitamíny A a E v krevní plazmě byly stanoveny spektrální fluorometrií (Bouda aj., 1980). Při testování významnosti dvou výběrových průměrů bylo použito Studentova t-testu.

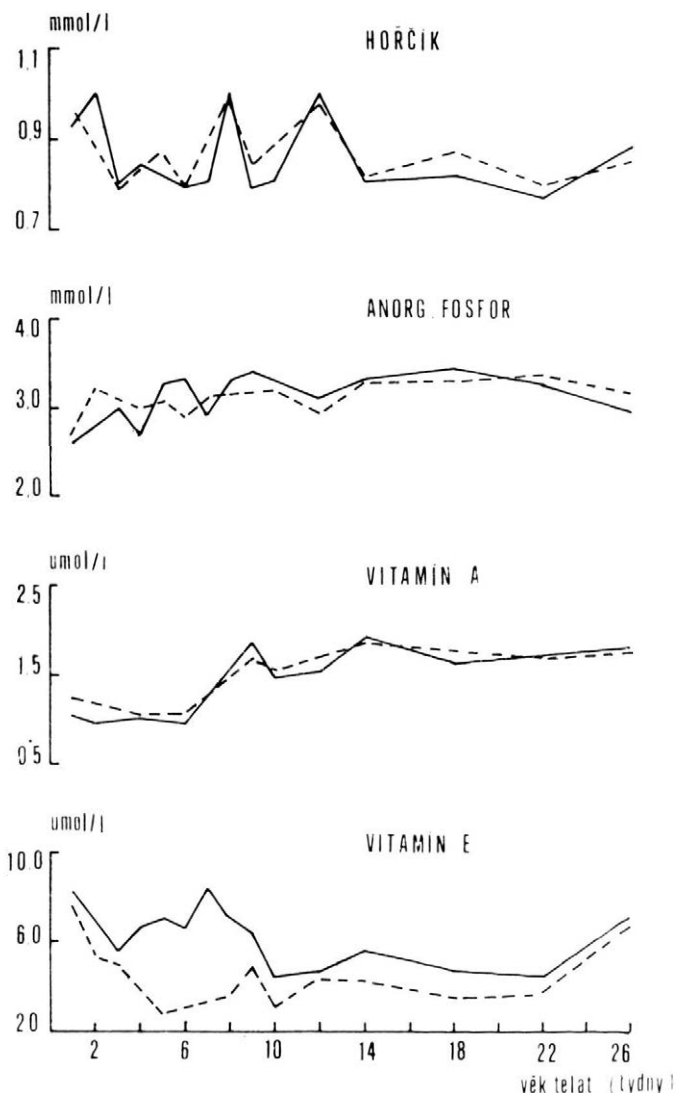
VÝSLEDKY

Výsledky, kterých bylo dosaženo v průběhu experimentu, jsou znázorněny na obr. 1 až 3. Plazmatické hladiny močoviny, sodíku, draslí-

1. Vývoj průměrných hladin močoviny, sodíku, draslíku a vápníku v krevní plazmě telat napájených plnotučným mlékem (plná čára) a Laktosanem (přerušovaná čára) — The average levels of urea, sodium, potassium and calcium in the blood plasma of the calves given whole milk (solid line) and Laktosan (broken line)



ku, vápníku a hořčíku se v průběhu celého sledování u obou skupin zvířat pohybovaly v mezích referenčních hodnot (Jagoš aj., 1980; Jagoš a Bouda, 1981b). Koncentrace močoviny v plazmě byla významně vyšší ($P < 0,01$) u zvířat kontrolní skupiny ve čtvrtém až sedmém týdnu života. Hladiny sodíku v krevní plazmě se u obou skupin telat lišily jen nepatrně. Koncentrace draslíku v krevní plazmě byly ve dvou týdnech věku významně vyšší ($P < 0,05$) u telat krmených plnotučným mlékem. V pěti a sedmi týdnech věku byly hladiny vápníku v krevní plazmě telat krmených plnotučným mlékem rovněž významně vyšší ($P < 0,05$) (obr. 1). U obou skupin zvířat byly zaznamenány pouze malé rozdíly v obsahu hořčíku v plazmě. V šesti a devíti týdnech věku byly u pokusných telat zjištěny významně vyšší hladiny anorganického fosforu v krevní plazmě ($P < 0,05$) (obr. 2). Z dynamiky plazmatických hladin vitamínu A je patrný vzestup u obou skupin v období rost-



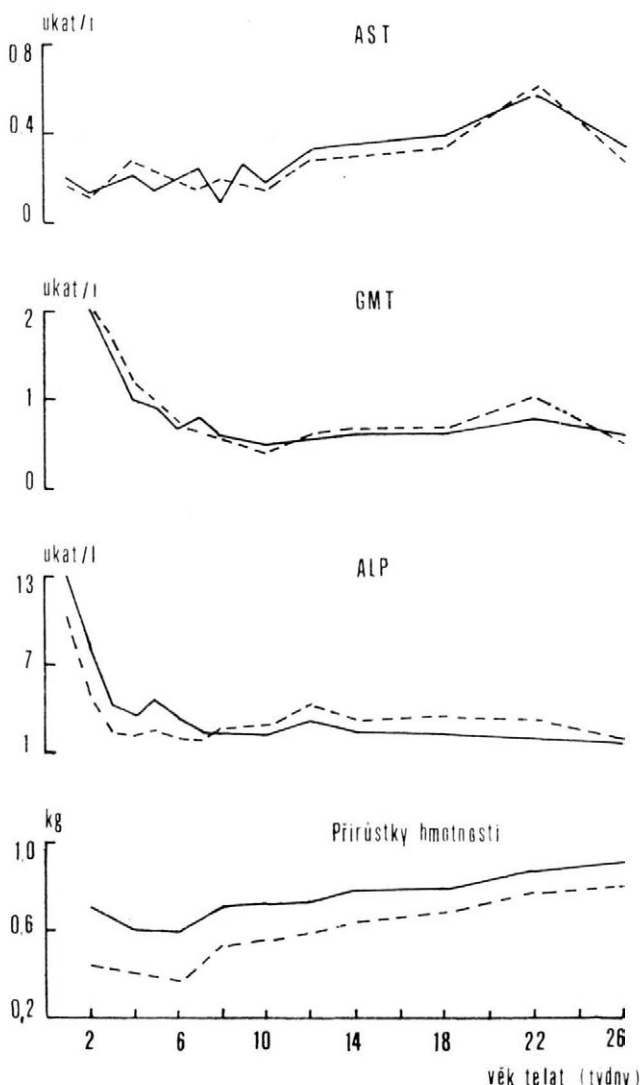
2. Vývoj průměrných hladin hořčíku, anorganického fosforu, vitamínu A a E v krevní plazmě telat napájených plnotučným mlékem (plná čára) a Laktosanem (přerušovaná čára) — The average levels of magnesium, inorganic phosphorus, vitamins A and E in the blood plasma of the calves given whole milk (solid line) and Laktosan (broken line)

linné výživy, přičemž po celou dobu sledování nebyly mezi skupinami významné rozdíly. Koncentrace vitamínu E v krevní plazmě zvířat pokusné a kontrolní skupiny se významně lišily. Ve čtyřech až osmi týdnech věku, tedy ve druhé polovině období mléčné výživy, byly zjištěny statisticky významně vyšší hladiny vitamínu E v krevní plazmě telat krmených plnotučným mlékem ($P < 0,01$) (obr. 2).

Aktivity AST a GMT v krevní plazmě nebyly mezi skupinami významně rozdílné. U aktivit ALP v krevní plazmě zvířat pokusné a kontrolní skupiny byly nalezeny významné rozdíly. Ve třetím až pátém týdnu života byly významně vyšší ($P < 0,05$) u telat krmených plnotučným mlékem (obr. 3).

Průměrná hmotnost a průměrné denní přírůstky hmotnosti byly od pátého do 18. týdne věku významně vyšší ($P < 0,05$) u pokusné skupiny telat. Rozdíl v úrovni průměrných hmotností mezi oběma skupinami či-

3. Průměrné plazmatické aktivity aspartátamino-transferázy (AST), gamma-glutamyltransferázy (GMT) a alkalické fosfatázy (ALP) a přírůstky hmotnosti telat krmených plnotučným mlékem (plná čára) a Laktosanem (přerušovaná čára) — The average plasmatic activities of aspartate aminotransferase (AST), gamma-glutamyl transferase (GMT) and alkaline phosphatase (ALP) and the weight gains of calves given whole milk (solid line) and Laktosan (broken line)



nil 10,0 kg po ukončení mléčné výživy, 13,4 kg při přechodu do pavi-lónu rostlinné výživy a 16,8 kg v šesti měsících věku ve prospěch telat krmených plnotučným mlékem (obr. 3).

DISKUSE

Hladiny močoviny v krevní plazmě byly v období mléčné výživy vyšší u telat, která byla krmena mléčnou krmnou směsí. Zvýšení bylo zřejmě způsobeno nižší stravitelností tohoto krmiva ve srovnání s nativním mlékem. To se projevilo u kontrolních zvířat relativním hladověním a zvýšenou úrovní katabolických procesů, jež vedly ke vzestupu obsahu močoviny v krevní plazmě. Podle Roye (1980) dochází při sušení mléka k denaturaci nekaseinové bílkoviny, a tím k poklesu stra-

vitelnosti, jež může být příčinou vzniku průjmů. Demigné a Ré-mésy (1979) uvádějí, že zvýšení urémie krevní plazmy je jednou z nejčastějších změn při průjmu telat.

Plazmatické koncentrace sodíku obou skupin zvířat svědčily o dostatečném zásobení organismu a odpovídaly hodnotám, které uvádějí Vagher aj. (1973), Slanina a Beseda (1979), Bouda a Jagoš (1984).

Obvyklá výživa telat, u nichž se průjmy nevyskytly, zabezpečuje dostatečný příjem draslíku (Roy, 1980). To se prokázalo i v našem sledování u obou hodnocených skupin zvířat, především pak u telat krmených plnotučným mlékem, u kterých jsou zjištěny hodnoty vyšší, než udávají Reece a Wahlstrom (1972) a Lumsden aj. (1980), nebo ve stejném rozmezí, jak stanovili Ruppanner aj. (1978).

Hlavním zdrojem vápníku pro organismus telat je mléko, jež obsahuje v jednom kilogramu celkem 1,24 g vápníku. Resorpce vápníku je u telat ve čtyřech týdnech věku vyšší z plnotučného mléka než z mléčných krmných směsí (Roy, 1980). Krmná dávka námi sledovaných zvířat dobře zabezpečovala jejich fyziologické a nutriční požadavky na vápník. Jeho zjištěné hladiny v krevní plazmě telat jsou vyšší, než udávají Kitchenham aj. (1975) a Kursá (1982). U telat, jež byla krmena plnotučným mlékem, byly plazmatické koncentrace vápníku po celé období mléčné výživy vyšší.

Hladiny hořčíku v krevní plazmě u obou skupin telat v našem pokusu se navzájem významně nelišily a byly při srovnání s údaji podle Slaniny a Besedy (1979), Jagoše aj. (1982) a Surynka aj. (1980) na spodní úrovni rozmezí referenčních hodnot. Podle Roye (1980) nezabezpečuje mléčná výživa zcela dostatečně potřeby hořčíku pro organismus telat. Nebezpečí hypomagneziémie je zvláště výrazné u telat s vysokou spotřebou mléka a velkými přírůstky hmotnosti.

Plazmatické hladiny anorganického fosforu byly u celého souboru zvířat vyšší, než udávají Ruppanner aj. (1978) a Lumsden aj. (1980). Krevní plazma telat pokusné skupiny opakovaně obsahovala jeho významně vyšší hladiny. Kitchenham aj. (1975) udávají, že vyšší hodnoty anorganického fosforu bývají zjišťovány u telat s vyššími přírůstky hmotnosti, což potvrzují námi zjištěné výsledky. Podle těchto autorů jsou vztahy mezi vysokými přírůstky hmotnosti a vyšším obsahem anorganického fosforu v krevní plazmě telat závislé na dostatečné nabídce fosforu v krmné dávce. Ta byla v našem případě zjištěna podáváním plnotučného mléka a časným návykem na jadrnou krmnou směs.

Mírně snížené koncentrace vitamínu A byly zjištěny u telat pokusné skupiny. To je možné vysvětlit negativním vlivem ročního období. Pokus probíhal v jarních měsících, kdy je přísun karotenu krmivem pro dojnice nižší, stejně jako jeho obsah v krevní plazmě krav (Bouda aj., 1980). Kvalitní mléčné krmné směsi mají obsah vitamínu A zajištěn přidáváním vitamínu syntetického. Jagoš a Bouda (1981) doporučují podávat telatům vitamíny A, D a E okamžitě po porodu a tuto aplikaci opakovat ve čtyřech a osmi týdnech věku.

Pro organismus má velký význam vitamín E. Rostoucí zvířata jej potřebují pro činnost endokrinních žláz a svalstva. Vitamín E chrání

vitamín A před oxidací v trávicím traktu a zvyšuje jeho absorpci. Zásahuje také do tvorby protilátek (Bouda aj., 1979). Vrzgula aj. (1979) udávají i funkci detoxikační a antitrombotickou. Nejčastějším symptomem deficiencie vitamínu E u mladých přežvýkavců je nutriční svalová dystrofie (Kursa, 1969). Ve výsledcích našeho pozorování je proto nutné poukázat na vysokou úroveň nabídky vitamínu E v krmné dávce telat s příjmem plnotučného mléka, jež se projevila vysokými hladinami tohoto vitamínu v krevní plazmě zvířat pokusné skupiny.

Závažnost enzymové diagnostiky u skotu je spatřována především v diagnostice, diferenciaci diagnostice a prognostickém hodnocení poškození jater a kosterního svalstva (Bouda aj., 1977; Bouda, 1979). Námi zjištěné aktivity AST a GMT odpovídají referenčním hodnotám (Jagoš a Bouda, 1981b). Statisticky významně zvýšené aktivity ALP u telat byly pravděpodobně způsobeny rychlejší kalcifikací skeletu. Osteoblastická aktivita se velmi výrazně podílí na uvolňování ALP do krevní plazmy, protože specializované buňky vylučují tento enzym do extracelulárního prostoru. Existuje vzájemný vztah mezi průměrnými denními přírůstky hmotnosti, spojenými s intenzivním růstem a vyšší aktivitou ALP (Searcy, 1969). To se projevilo i v našem experimentu. Na základě snížené aktivity ALP lze usuzovat na horší výživu daného jedince, eventuálně lze předpokládat i nižší přírůstky hmotnosti Healy a McInnes, 1975). Statisticky významné rozdíly v aktivitě ALP mezi oběma skupinami telat našeho sledování svědčí o kvalitnější výživě telat, umožňující dosáhnout vyšších přírůstků hmotnosti při použití plnotučného mléka.

Dosažené vyšší průměrné denní přírůstky hmotnosti a především výborný zdravotní stav a kondici telat krmených plnotučným mlékem je třeba hodnotit jako významný předpoklad pro další odchov kvalitního plemenného materiálu.

Literatura

- BOUDA, J.: Význam biochemických ukazatelů pro diagnostiku onemocnění telat a studium metabolických vztahů mezi matkou a mládětem. [Habilitační práce.] Brno 1979. 143 s. — Vysoká škola veterinární.
- BOUDA, J. — JAGOŠ, P.: Biochemical and hematological reference values in calves and their significance for health control. *Acta veter.* (Brno), 53, 1984, s. 137-142.
- BOUDA, J. — JAGOŠ, P. — DVOŘÁK, V.: Fluorometrické určení vitamínů A, E v krevní plazmě, kolostru a játrech skotu. *Českoslov. Fyziol.*, 29, 1980, s. 351.
- BOUDA, J. — JAGOŠ, P. — DVOŘÁK, V. — HAMŠÍK, V.: Vitamin A and caroten metabolism in cows and their calves fed from buckets. *Acta veter.* (Brno), 49, 1979, s. 45-52.
- BOUDA, J. — JAGOŠ, P. — DVOŘÁK, R. — PISKAC, A. — ONDROVÁ, J. — ZAPLETAL, O.: Změny v aktivitě enzymů při experimentální aflatoxikóze dojníc. *Veter. Med.* (Praha), 22, 1977, s. 137-142.
- DEMIGNÉ, C. — RÉMÉSY, C.: Fetal and postnatal metabolism in the calf. *Ann. Biol. anim. Biochim. Biophys.*, 19 (1B), 1979, s. 159-165.
- HEALY, P. J. — McINNES, P.: Serum alkaline phosphatase activity in relation to live weight of lambs. *Res. veter. Sci.*, 18, 1975, s. 157-160.
- JAGOŠ, P. — BOUDA, J.: Zásady prevence ztrát telat. 1. vyd. Pardubice, odd. veter. osvěty SVS MZVŽ ČSR 1981a. 32 s.
- JAGOŠ, P. — BOUDA, J.: Základní biochemické a hematologické hodnoty u domácích zvířat a nové způsoby vyjadřování výsledků laboratorních vyšetření. 1. vyd. Pardubice, odd. veter. osvěty SVS MZVŽ ČSR 1981b. 36 s.
- JAGOŠ, P. — BOUDA, J. — DVOŘÁK, V.: Vývoj zdravotního stavu telat v pod-

mínkách velkovýrobních technologií. [Výzkumná zpráva.] Brno, Vysoká škola veterinární 1980. 63 s.

JAGOŠ, P. — BOUDA, J. — DVOŘÁK, V. — ILLEK, J. — HOFÍREK, B.: Metody aktivní kontroly zdraví a včasné diagnostiky zdravotních poruch u telat. Veterinářství, 32, 1982, s. 250-252.

KITCHENHAM, B. A. — ROWLANDS, G. J. — MANSTON, R. — DEW, S. M.: The blood composition of dairy calves reared under conventional and rapid-growth system. Brit. veter. J., 131, 1975, s. 436-445.

KURSA, J.: Nutriční svalová degenerace u mladého skotu v distriktu Šumavy. Veter. Med. (Praha), 14, 1969, s. 549-559.

KURSA, J.: Nutriční svalová degenerace u mladého skotu. [Doktorská disertace.] Praha 1982. 265 s. — Vysoká škola zemědělská. Provozně ekonomická fakulta České Budějovice.

LUMSDEN, J. H. — MULLEN, K. — ROWE, R.: Hematology and biochemistry reference values for female holstein cattle. Can. J. comp. Med., 44, 1980, s. 24-31.

PINDÁK, J.: Výživa a technika krmení telat do 3 měsíců věku. In: Sbor. Ref. odbor. Instr. „Technologie odchovu telat“. Bruntál 1982, s. 55-67.

REECE, W. S. — WAHLSTROM, J. D.: Variations in plasma composition of calves. Relationship of electrolyte, glucose, and urea nitrogen concentration to calf age, ration, and feeding time. Amer. J. veter. Res., 33, 1972, s. 2175-2178.

ROY, J. H. B.: The calf. 4th. ed. London — Boston, Butterworth 1980. 443 s.

RUPPANNER, R. — NORMAN, B. B. — ADAMS, C. J. — ADDIS, D. G. — LOFGREEN, G. P. — CLARK, J. G. — DUNBAR, J. R.: Metabolic and cellular profile testing in calves under feedlot conditions: Minerals, electrolytes and biochemical components — Reference values. Amer. J. veter. Res., 39, 1978, s. 841-844.

SEARCY, R. L.: Diagnostic biochemistry. 1st edit. New York, McGraw-Hill Book Co. 1969. 350 s.

SLANINA, L. — BESEDA, I.: Metabolický profil hovädzieho dobytku vo vzťahu k zdraviu a úžitkovosti. 1. vyd. Košice, Ústav veterinárnej osvetu ŠVS MPVŽ SSR 1979. 150 s.

SURYNEK, J. — KUČERA, A. — ŠKOLLOVÁ, Z.: Studium homeostázy v postnatálnom období telat. [Výzkumná zpráva.] Brno, Vysoká škola veterinární 1980. 138 s.

ŠRÁMEK, J.: Problémy a perspektiva odchovu zdravých telat. Věstník Českoslov. Akad. Věd, 30, 1983, s. 527-533.

VAGHER, J. P. — PEARSON, B. — BLATT, S. — DAYE, M.: Biochemical and hematological values in male holstein-friesian calves. Amer. J. veter. Res., 34, 1973, s. 273-276.

VRZGULA, L. — KOVÁČ, G. — PROSBOVÁ, M.: Veková a sezónna dynamika vitamínu E v krvnom sére mladého hovädzieho dobytku od narodenia do veku 22 mesiacov. Veter. Med. (Praha), 24, 1979, s. 129-135.

Došlo dne 23. 5. 1985

ЯГОШ, П. — БОУДА, Я. — СКРЖИВАНЕК, М. (Институт ветеринарии, Брно): Влияние усвоения молочного комбикорма и цельного молока на кривую некоторых показателей кровяной плазмы у телят. Veter. Med. (Praha), 31, 1986 (2) : 65-73.

Изучали влияние двух разных способов молочного питания на здоровье и развитие телят. Подопытную группу ($n = 10$) после прекращения молозивного питания кормили цельным молоком, а контрольную ($n = 10$) — молочным комбикормом Лактосан. Кровь отбирали для биохимического исследования в возрасте до 3 мес. в недельные интервалы, позднее — раз в месяц. Содержание мочевины в кровяной плазме подопытных телят в возрасте 4—7 недель было гораздо меньше, тогда как плазменный уровень азота, калия, кальция и магния между группами заметно не различался и находился в пределах референтных значений. В возрасте 6—9 недель содержание неорганического фосфора в плазме подопытной группы статистически значимо выше. Концентрация витамина А в плазме обеих групп заметно не различалась, тогда как витамин Е у подопытной в 4—8-недельном возрасте значимо выше. Плазменная активность аспартатаминотрансферазы (AST) и гаммаглутамилтрансферазы (GMT) значимых различий между группами не показывала. Активность щелочной фосфатазы (ALP) на 3—5-й неделе жизни гораздо выше у подопытных телят. Среднесуточные привесы с 5—18-й недель значимо больше у телят на цельном молоке.

питание; состояние здоровья; натрий; калий; кальций; магний; неорганический фосфор; мочевина; ферменты AST, GMT, ALP; витамин А; витамин Е

JAGOŠ, P. — BOUDA, J. — SKŘIVÁNEK, M. (University of Veterinary Medicine, Brno): *The Effect of the Intake of Milk Replacer and Whole Milk on the Development of Selected Parameters in the Blood Plasma of Calves*. Veter. Med. (Praha), 31, 1986 (2) : 65-73.

Two milk feeding systems were investigated as influencing the health and development of calves. After the termination of colostrum feeding, the ten animals of the experimental group were given whole milk whereas the control group (also ten calves) was given the Laktosan milk replacer. By the age of three months, blood was collected from the calves for biochemical examination in weekly intervals, later once a month. The content of urea, determined in the blood plasma of the calves of the experimental group was significantly lower in the fourth to seventh week. The plasma levels of nitrogen, potassium, calcium and magnesium were about the same in the experimental and control groups, being within the limits of the reference values. At the age of six to nine weeks, the content of inorganic phosphorus in the blood plasma of the tested animals was statistically significantly higher. Vitamin A concentration in the blood plasma was about the same in both groups. The content of vitamin E in the blood plasma of the calves of the experimental group was statistically significantly higher in the fourth to eighth week of age. No significant differences between the two groups were observed in the plasmatic activities of aspartate aminotransferase (AST) and gamma-glutamyl transferase (GMT). The activities of alkaline phosphatase (ALP) were significantly higher in the third to fifth week of life. From the fifth to eighteenth week of age, the average daily weight gains were significantly higher in the calves given whole milk.

nutrition; health condition; sodium; potassium; calcium; magnesium; inorganic phosphorus; urea; AST, GMT, ALP enzymes; vitamin A; vitamin E

JAGOŠ, P. — BOUDA, J. — SKŘIVÁNEK, M. (Veterinärmedizinische Hochschule, Brno): *Einwirkung der Aufnahme von Milchaustauschern und Vollmilch auf die Entwicklung ausgewählter Kennwerte im Blutplasma von Kälbern*. Veter. Med. (Praha), 31, 1986 (2) : 65-73.

Wir untersuchten den Einfluß zweier verschiedener Methoden der Milchernährung auf den Gesundheitszustand und auf die Entwicklung von Kälbern. Die Versuchsgruppe ($n = 10$) wurde nach Beendigung der Kolostralmilchperiode mit Vollmilch gefüttert, während der Kontrollgruppe ($n = 10$) der Milchaustauscher Laktosan verabreicht wurde. Das Blut für biochemische Untersuchungen wurde den Kälbern bis zum Alter von drei Monaten in wöchentlichen Intervallen, später dann einmal im Monat entnommen. Der im Blutplasma der Kälber der Versuchsgruppe ermittelte Harnstoffgehalt war in der vierten bis siebenten Lebenswoche wesentlich niedriger. Die Plasmaniveaus des Stickstoffes, Kaliums, Kalziums und Magnesiums in der Versuchs- sowie Kontrollgruppe wiesen keinen bemerkenswerten Unterschied auf und befanden sich im Bereich der Referenzwerte. Im Alter von sechs bis neun Wochen war der Gehalt des anorganischen Phosphors im Plasma der Versuchstiere statistisch wesentlich höher. Die Konzentration des A-Vitamins im Blutplasma der beiden Tiergruppen wies nur unbedeutende Unterschiede auf. Der Vitamin-E-Gehalt im Blutplasma der Kälber der Versuchsgruppe war in der vierten bis achten Lebenswoche statistisch wesentlich höher. Die plasmatischen Aktivitäten der Aspartat-aminotransferase (AST) und der Gamma-glutamyltransferase (GMT) der beiden Gruppen wiesen kaum Unterschiede auf. Die Aktivitäten der Alkaliphosphatase (ALP) lagen in der dritten bis fünften Lebenswoche bei den Versuchstieren weit höher. Die mittleren täglichen Lebendmassezunahmen waren von der fünften bis 18. Lebenswoche bei den mit Vollmilch gefütterten Kälbern statistisch wesentlich höher.

Ernährung; Gesundheitszustand; Natrium; Kalium; Kalzium; Magnesium; anorganischer Phosphor; Harnstoff; Enzyme AST, GMT, ALP; Vitamin A; Vitamin E

Adresa autorů:

Prof. MVDr. Přemysl Jagoš, CSc., doc. MVDr. Jan Bouda, CSc., MVDr. Miloslav Skřivánek, Vysoká škola veterinární, Palackého 1—3, 612 42 Brno

Výběr z přírůstků

Ústřední zemědělské a lesnické knihovny ÚVTIZ

z úseku veterinární medicína

Uvedené publikace je možné si půjčit osobně nebo písemně v ÚZLK, výpůjční oddělení, Slezská 7, 120 56 Praha 2. Půjčovní doba: pondělí, úterý a čtvrtek od 9.00 do 16.00 hod., středa od 9.00 do 18.00 hod., pátek od 9.00 do 15.30 hod. U každé žádané publikace uveďte signaturu.

D 75.174

TIMOŠKO, M. A. — CHOLMECKAJA, V. G. — BURSUK, I. F.

Bakteriocenoz piščevariteľnogo traktu porosjat.

Kišinev, Stiinca 1983. 55 s., 7 obr., 13 tab., res. rus. (Selata — trávníci — ústrojí — mikroflóra — nemoci bakteriální)

YONGER, M.-O. E.

D 38.168/1983/19

Le rouget aviaire sa présence en France.

Toulouse, École nationale vétérinaire 1983. 56 s., 4 tab., 1 mp. École nationale vétérinaire. Thèse no. 19. (Drůbež — nemoci bakteriální — červinka — *Erysipelothrix rhusiopathiae* — diagnóza a léčení — výzkum — Francie — disertace)

KLASEN, A.

E 32.333/1151

Untersuchungen über die Kultivierung von Hühner-Blutmonozyten und über Eigenschaften der *in vitro* ausgereiften unvorbehandelten oder aktivierten Makrophagen. Inaug.-Diss. der Freien Universität Berlin.

Berlin, Fr. Universität 1983. 152 s., obr., tab. (Kuřata — krev — monoocyty — kultivace — metody — výzkum — NSR / Makrofágy — identifikace a charakteristika — kuřata — krev — výzkum — NSR — disertace)

Vitamin E deficiency in poultry.

C 28.543

Basel, ROCHE 1983. Nestr., obr. (Nemoci z nedostatku výživy — vitamín E — drůbež)

KURAŠVILI, T. B.

E 43.911

Vlijanije antgel'mintnyh preparatov na ultrastrukturu i citologičeskije osobennosti kletok i tkanej nematody *Syngamus trachea*.

Tbilisi, Mecnijereba 1983. 60 s., 25 obr., res. rus. (Kuřata — cizopasníci — Srostlice trvalá — anthelmintika — vliv — výzkum — SSSR)

VZTAH MEZI KVALITOU EMBRYÍ SKOTU PO ROZMRAZENÍ A ZABŘEZÁVÁNÍ PO JEJICH PŘENOSU

P. Liehman, J. Fulka

LIEHMAN, P. — FULKA, J. (Ústav fyziologie a genetiky hospodářských zvířat, oddělení genetiky, Liběchov): *Vztah mezi kvalitou embryí skotu po rozmrazení a zabřezávání po jejich přenosu*. Veter. Med. (Praha), 31, 1986 (2) : 75-82.

Sedmidenní embrya skotu byla po zmrazení a rozmrazení rozdělena podle kvality do čtyř skupin: I — plně expandované blastocysty, II — mírně kontrahovaná embrya s malým podílem odumřelých buněk, III — kontrahovaná embrya s několika odumřelými buňkami, IV — degenerovaná embrya s těžkým poškozením oblasti *zona pellucida*, popřípadě po její úplné ztrátě. Po chirurgickém přenosu zabřezlo ze 37 příjemců, kterým byla přenesena embrya I. skupiny, 16 kusů (43,2 %). Z 53 embryí II. skupiny vzniklo 20 březostí (37,7 %) a z 28 příjemců s přeneseným embryem III. skupiny jich zabřezlo 10 (35,7 %). Z přenosu bylo vyřazeno 24 embryí z celkového počtu 142 embryí (17 %). K hodnocení embryí byla použita morfologická kritéria, která jsou pro provozní podmínky dostačující a dovolují postihnout změny neslučitelné s dalším vývojem embrya.

zmrazování embryí; hodnocení po rozmrazení; březost

Konečným cílem přenosu embryí skotu vždy bude získat co největší počet telat požadovaných vlastností. Zařazení metody hlubokého zmrazování do tohoto procesu vnáší četné výhody. Nelze však přehlédnout ani skutečnost, že se během zmrazování či rozmrazování mohou některá embrya poškodit, což má za následek snížené přežívání, a tím i zabřezávání po jejich přenosu. Po rozmrazení je proto nutné posoudit vhodnost embryí a vyloučit ta, u nichž vznikají pochybnosti o jejich životaschopnosti. Selektce by měla být taková, aby podíl úspěšných přenosů byl co nejvyšší, ale aby počet narozených telat výrazněji neklesal. Morfologické posouzení stavu embrya a jeho srovnání se stavem před zmrazováním je dosud nejrychlejším, ale také zcela subjektivním zhodnocením rozsahu jeho poškození během zmrazování, rozmrazování a vymývání kryoprotektiva. Pro přenos se u skotu nejčastěji používají embrya ve stadiu moruly a blastocysty, u kterých není možné posoudit poškození jednotlivých buněk, takže hlavními kritérii jsou kontrakce či expanze blastocoelu, degenerované buňky vyloučené na periferii embrya, popřípadě porušení integrity embrya a degenerace většiny jeho buněk. Výsledky přenosů však ukazují, že ani kontrakce blastocoelu během zmrazování, rozmrazování či vymývání kryoprotektiva, ani poškození a odumření několika buněk nevylučují možnost dalšího vývoje embrya (Lehn — Jensen, 1981; Bon Durant aj., 1982).

Toto počáteční posouzení embryí poskytuje informace o rozsahu hrubých morfologických změn ihned po rozmrazení. Nevýhodou je neschopnost postihnout degenerativní změny na subcelulární úrovni (Whittingham a Anderson, 1976). Výsledky kultivace *in vitro* však přesto v zásadě potvrzují správnost morfologického hodnocení (Willadsen aj., 1976; Whittingham, 1978), i když se v jednotlivých případech mohou projevit odchylky (Bouysson a Chupin, 1982). Snahy nalézt přesnější a přitom dostatečně jednoduchý a levný systém hodnocení embryí dosud nebyly úspěšné.

Krátkodobé umístění embryí do vhodného prostředí *in vitro* teoreticky umožňuje vyřadit degenerovaná či vážně poškozená embrya a pro přenos použít jen ta, která se dále vyvíjela. Dosud se však nepodařilo přesně definovat specifické požadavky ani pro vývoj čerstvých embryí většiny biologických druhů *in vitro* a delší pobyt v kultivačním médiu má negativní vliv na schopnost jejich dalšího vývoje po přenosu (Bowman a McLaren, 1970; Mauer a Haseman, 1976; Whittingham, 1976; Polge, 1978; Shea, 1981). Navíc jsou zmrazená embrya k nedokonalým podmínkám kultivace *in vitro* mnohem citlivější než embrya čerstvá (Tervit aj., 1981). Někteří autoři (Willadsen aj., 1976; Lehn — Jensen, 1981; Lehn — Jensen a Greve, 1981; Tervit a Elsdon, 1981) proto doporučují vynechat kultivaci a přimlouvají se za bezprostřední přenos po pečlivém výběru embryí a recipientů.

Další způsob hodnocení životaschopnosti embryí, tzv. vitální barvení, využívá rozdílných vlastností membrán, cytoplazmy a jader živých a mrtvých buněk (Mohr a Trounson, 1980). I když bylo dosaženo některých nadějných výsledků (Schilling aj., 1979; Mohr a Trounson, 1980; Church a Paines, 1980; Niemann aj., 1982), účinnost těchto metodik zůstává sporná. Uvedená barvení nejsou vždy absolutně specifická a enzymatické aktivity mohou přetrvávat i v poškozených buňkách (Frim aj., 1978; Renard aj., 1982; Majerčiak aj., 1984).

Ani pokusy nalézt vztah mezi životaschopností embryí a změnami hladin různých enzymů či metabolitů v médiu nepřinesly jednoznačné výsledky. Tato stanovení jsou navíc spojena s dlouhodobými kultivacemi, většinou velmi pokročilých stadií, která jsou méně vhodná pro přenos (Renard aj., 1980, 1982).

Zjištění, že embrya některých druhů se po několik dní normálně vyvíjejí ve vejcovodu králíka, umožnilo použít samic tohoto druhu jako dočasných recipientů pro testování životaschopnosti embryí (Lawson aj., 1972). I když je tento způsob poněkud pracný, umožňuje díky objektivnější selekci embryí získat stejný, nebo dokonce vyšší počet mláďat při nižším počtu přenosů (Fulka aj., 1983).

MATERIÁL A METODA

Dárci embryí i příjemci byli vybíráni a připravováni obvyklým způsobem. Také postup přípravy médií, získávání embryí a manipulace s nimi se nelišil od užívaného postupu, popsaného dříve (Liehman a Fulka, 1984).

Po ukončení izolace byla embrya selektována na základě posouzení jejich morfologie. Při hodnocení se přihlíželo ke stadiu vývoje, k pravidelnosti v uspořádání embryonálních buněk a ke stavu zony pellucidy.

Do experimentu byly zařazeny jen pozdní moruly a blastocysty, popřípadě s jednou až dvěma degenerovanými buňkami. Všechna embrya, která neodpovídala svou kvalitou požadavkům, byla vyřazena. Vybraná embrya byla zmrazena i rozmrazena podle dříve popsané metodiky (Liehman a Fulka, 1984). Po ukončení stupňovitého vymývání kryoprotektiva byl znovu posouzen morfolologický stav embryí a porovnán se situací před zmrazováním. Na základě tohoto hodnocení byla embrya zařazena do čtyř skupin:

I. Bez strukturálních změn, s plně vyvinutým blastocoelem a dobře formovaným embryoblastem.

II. Lehce kontrahované blastocysty s dosud definovatelným embryoblastem nebo lehce svraštělé moruly, popřípadě s jednou až dvěma odumřelými buňkami.

III. Svraštělé blastocysty nebo moruly s několika degenerovanými buňkami.

IV. Embrya obsahující tmavé nekrotické buňky, embrya po úplné ztrátě zony pellucidy nebo po jejím poškození v rozsahu, který umožňoval samovolné vypadnutí embrya.

Embrya ze skupin I až III byla během dvou hodin po rozmrazení chirurgicky přenesena do synchronizovaných recipientů, embrya z kategorie IV byla z přenosu vyloučena.

VÝSLEDKY A DISKUSE

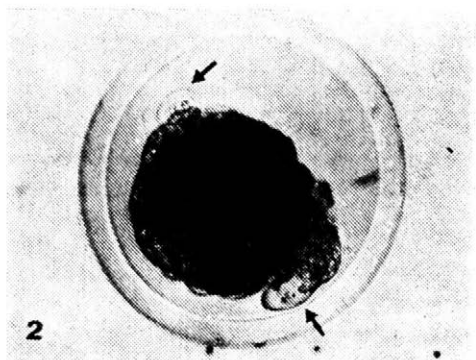
Celkem bylo zmrazeno 142 embryí. Po rozmrazení bylo 37 embryí zařazeno do první skupiny, 53 do druhé, 28 do třetí a 24 do čtvrté. Všech 118 (83,0 %) embryí z první až třetí skupiny bylo přeneseno, zabřezlo 46 příjemkyň (38,9 %).

Zabřezávání bylo ovlivněno kvalitou přenášených embryí. Nejlepších výsledků bylo dosaženo při přenosu embryí zařazených do skupiny I (16/37, 42,3 %), výsledky přenosů embryí ze skupin II a III byly nižší (20/53, 37,7 % a 10/28, 35,7 %). Tyto výsledky jsou přehledně shrnuty v tab. I. I když rozdíly mezi jednotlivými kategoriemi nejsou příliš výrazné, zdá se, že největší naděje na další vývoj až do narození zdravého mláděte mají embrya, u nichž po rozmrazení a vymytí kryoprotektiva nedojde ke kontrakci a která vyplňují celý prostor vymezený zónou pellucidou. Tento stav totiž ukazuje, že nedošlo k poškození desmosomů, propustných spojů a tonofilamentů mezi jednotlivými buňkami trofoblastu či k jejich degeneraci a že embryo bude schopno vytvořit tlak nutný pro opuštění zony pellucidy (Willadsen aj., 1978a; Massip a Mulnard, 1980).

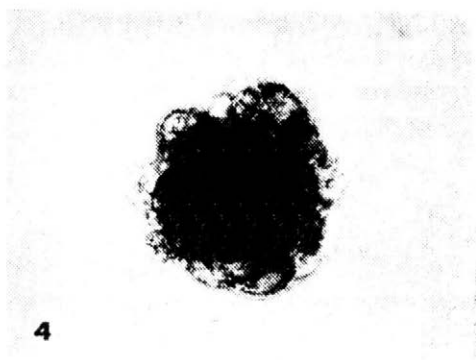
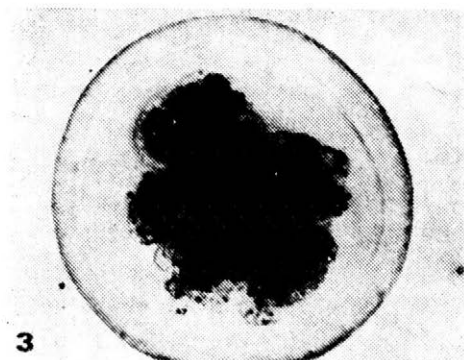
Kontrakce blastocelu (částečná či úplná) však nemusí být známkou poškození embrya (Massip a Mulnard, 1980; Bouysson

I. Hodnocení embryí skotu po rozmrazení a zabřezávání po jejich přenosu — Evaluation of bovine embryos after thawing and pregnancy rate after their transfer

	Skupiny podle kvality				
	I	II	III	IV	celkem
Počet embryí	37	53	28	24	142
Přeneseno	37	53	28	—	118
Zabřezlých příjemců	16	20	10	—	46
Procento	43,2	37,7	35,7	—	38,9



1672



1. Blastocysta, u které se po rozmrazení a vymytí kryoprotektiva neobjevují známky poškození, vyplňuje celou oblast *zona pellucida*. Po morfologickém posouzení byla zařazena do skupiny I (X 250) — A blastocyst exhibiting no signs of damage after thawing and stepwise dilution of the cryoprotectant fills the whole space of *zona pellucida*. Included in class I after morphological evaluation (magnif. X 250)

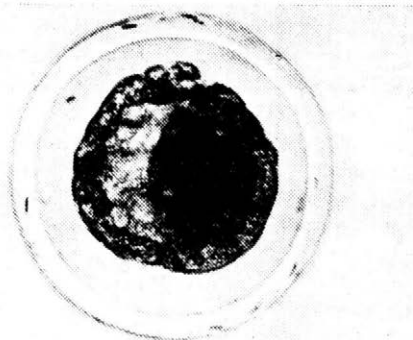
2. Blastocysta, u které během zmrazování došlo ke kontrakci; embryoblast není možné odlišit; v perivitellinním prostoru mrtvé buňky (šipky). Byla zařazena do skupiny III (X 250) — A blastocyst which underwent contraction during freezing; embryoblast cannot be distinguished; degenerated cells in the perivitelline space (arrows). Included in class III (X 250)

3. Embryo, které bylo během zmrazování a rozmrazování zcela zničeno. Obsahuje tmavé nekrotické buňky, byla porušena jeho celistvost. Bylo zařazeno do skupiny IV a vyloučeno z přenosu (X 250) — An embryo entirely damaged during freezing and thawing. It contains dark necrotic cells, its integrity is impaired. Included in class IV and excluded from transfer (X 250)

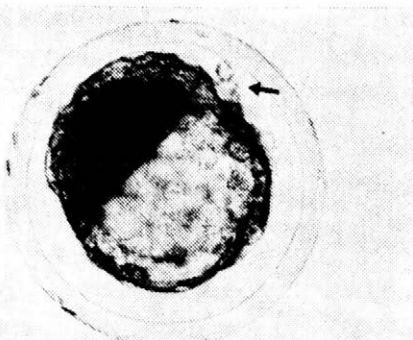
4. Embryo, u něhož došlo ke ztrátě *zona pellucida*. Toto embryo bylo rovněž zařazeno do skupiny IV (X 250) — An embryo in which the *zona pellucida* has been lost. Included also in class IV (X 250)

a Chupin, 1982). Může však zhoršit možnost rozeznat jiná poškození embrya, neboť vzniká poměrně kompaktní, málo transparentní útvar. I tato skutečnost je pravděpodobně jedním z faktorů, který se podílí na horších výsledcích zabřezávání po přenosu embryí II. a III. kategorie.

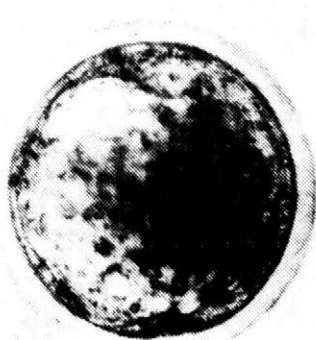
Během zmrazování a rozmrazování se u určitého podílu embryí v různém rozsahu poškozuje *zona pellucida* (Willadsen aj., 1978b; Renard aj., 1981). Podle některých autorů nemá toto poškození u skotu vliv na zabřezávání recipientů (Massip aj., 1979; Lehn —



5



6



7



8

5. Blastocysta bezprostředně po rozmrazení (v médiu s $1,37 \text{ mol.l}^{-1}$ glycerolu). Během zmrazování a rozmrazování došlo k částečné kontrakci ($\times 250$) — A blastocyst immediately after thawing (in a medium with $1,37 \text{ mol.l}^{-1}$ glycerol). Partial contraction during freezing and thawing ($\times 250$)

6. Stav po vymytí kryoprotektiva, embryo částečně kontrahované, embryoblast a trofoblast dosud dobře rozlišitelné, v perivitellinním prostoru jednotlivé mrtvé buňky (šipka). Tato blastocysta byla zařazena do skupiny II ($\times 250$) — After stepwise dilution of cryoprotectant, partial contraction of embryo occurred, embryoblast and trophoblast can be easily distinguished, individual degenerated cells are in the perivitelline space (arrow). This blastocyst is included in class II ($\times 250$)

7. Reexpanze blastocysty po čtyřhodinové kultivaci v TC 199 ($\times 250$) — Re-expansion of the blastocyst after four-hour cultivation in TC 199 ($\times 250$)

8. Po 21 hodinách kultivace opouští embryo oblast *zona pellucida* ($\times 250$) — After 21 hours of cultivation the embryo leaves the *zona pellucida* ($\times 250$)

Jensen, 1981), pokud nesouvisí s poškozením embrya samého (Ter-vit a Elsdén, 1981).

V počátečních fázích experimentu jsme embrya s lehkým poškozením zony pellucidy sledovali odděleně. Po předběžném vyhodnocení výsledků zabřezávání se potvrdilo, že toto poškození nemá vliv na výsledky zabřezávání. Uvedené kritérium jsme nadále nesledovali a embrya jsme zařazovali do kvalitativních skupin bez ohledu na drobné poškození zony pellucidy (obr. 1—8).

Kvalita embryí po rozmrazení byla záměrně posuzována subjektivní metodou morfologického hodnocení, která má mnoho výhod — rychlost, neškodnost pro embrya a snadnou dostupnost, vyplývající z nená-

ročnosti na technickém vybavení. K tomuto rozhodnutí nás vedla také skutečnost, že výsledky naší práce budou podkladem pro vypracování metodiky použitelné v praxi přenosu embryí skotu ve špičkových odchovech ČSSR (Liehman a Fulka, 1984). Až se získají určité zkušenosti, může být morfologické hodnocení dostačujícím kritériem pro posouzení kvality embryí. Dosažené výsledky naznačují, že tento postup umožňuje z přenosu vyloučit většinu vážně poškozených embryí, aniž by byla ve velkém rozsahu zbytečně vyřazována embrya životaschopná.

Literatura

- BON DURANT, R. H. — ANDERSON, G. B. — BOLAND, M. — CUPPS, P. T. — HUGHES, M. A.: Preliminary studies on bovine embryo survival following short term storage at 4 °C. *Theriogenology*, 17, 1982, s. 223-230.
- BOUYSSOU, B. — CHUPIN, D.: Two step freezing of cattle blastocysts with dimethylsulfoxide (DMSO) or glycerol. *Theriogenology*, 17, 1982, s. 159-166.
- BOWMAN, P. — McLAREN, A.: Viability and growth of mouse embryos after *in vitro* culture and fusion. *J. Embryol. exp. Morphol.*, 23, 1970, s. 693-704.
- FRIM, J. — SNYDER, R. A. — McGANN, L. E. — KRUUV, J.: Growth kinetics of cells following freezing in liquid nitrogen. *Cryobiology*, 15, 1978, s. 502-516.
- FULKA, J. — PAVLOK, A. — MOTLÍK, J. — PIVKO, J.: Přenos embryí skotu izolovaných z odporazených dárců a kultivovaných v králícih vejcovodech. *Živoč. Vyr.*, 28, 1983, s. 133-138.
- CHURCH, R. B. — RAINES, K.: Biological assay of embryos utilizing fluorescein diacetate. *Theriogenology*, 13, 1980, s. 91. Abstr.
- LAWSON, R. A. S. — ROWSON, L. E. A. — ADAMS, C. E.: The development of cow eggs in the rabbit oviduct and their viability after re-transfer to heifers. *J. Reprod. Fertil.*, 28, 1972, s. 313-315.
- LEHN-JENSEN, H.: Deep-freezing of cow embryos — a review. *Nord. Veter.-Med.*, 33, 1981, s. 476-483.
- LEHN-JENSEN, H. — GREVE, T.: Survival of cow blastocysts utilizing short freezing curves. *Nord. Veter.-Med.*, 33, 1981, s. 523-529.
- LIEHMAN, P. — FULKA, J.: Využití nízkých teplot při dlouhodobé konzervaci embryí skotu. [Závěrečná zpráva SPZV.] Liběchov 1984.
- MAJERČIAK, P. — PIVKO, J. — TOMÁNEK, M. — KOPEČNÝ, V. — BABUŠÍK, P.: Informácia o súčasnom stave problematiky prenosu embryí hospodárskych zvierat. Předneseno na III. celostátním sympoziu biologie reprodukce, Brno 1984.
- MASSIP, A. — MULNARD, J.: Time lapse cinematographic analysis of hatching of normal and frozen-thawed cow blastocysts. *J. Reprod. Fertil.*, 58, 1980, s. 475-478.
- MASSIP, A. — VAN DER ZWALMEN, P. — ECTORS, F. — DE COSTER, R. — D'ETEREN, G. — HANZEN, C.: Deep freezing of cattle embryos in glass ampules or french straws. *Theriogenology*, 12, 1979, s. 79-84.
- MAUER, R. R. — HASEMAN, J. K.: Freezing morula stage rabbit embryos. *Biol. Reprod.*, 14, 1976, s. 256-263.
- MOHR, L. R. — TROUNSON, A. O.: The use of fluorescein diacetate to assess embryo viability in the mouse. *J. Reprod. Fertil.*, 58, 1980, s. 189-196.
- NIEMANN, H. — SCHILLING, E. — SACHER, B. — SMIDT, D.: Embryo transfer in cattle — current scientific problems. *Anim. Res. Develop.*, 16, 1982, s. 116-125.
- POLGE, C.: Embryo transfer and embryo preservation. *Symp. zool. Soc., London*, 43, 1978, s. 303-316.
- RENARD, J. P. — MENEZO, Y. — HEYMAN, Y.: Alternative tests to assess viability of bovine embryos. *Theriogenology*, 17, 1982, s. 106. Abstr.
- RENARD, J. P. — OZIL, J. P. — HEYMAN, Y.: Cervical transfer of deep frozen cattle embryos. *Theriogenology*, 15, 1981, s. 311-320.
- RENARD, J. P. — PHILIPPON, A. — MENEZO, Y.: *In-vitro* uptake of glucose by bovine blastocysts. *J. Reprod. Fertil.*, 58, 1980, s. 161-164.
- SCHILLING, E. — SMIDT, D. — SACHER, B. — PETAC, D. — EL KASCHAB, S.: Diagnosis of the viability of early bovine embryos by fluorescence microscopy. *Ann. Biol. anim. Biochim. Biophys.*, 19, 1979, s. 1625-1629.

SHEA, B. F.: Evaluating the bovine embryo. *Theriogenology*, 15, 1981, s. 31-42.

TERVIT, H. R. — ELSDEN, R. P.: Development and viability of frozen-thawed cattle embryos. *Theriogenology*, 15, 1981, s. 395-403.

TERVIT, H. R. — ELSDEN, R. P. — FARRAND, G. D.: Deep freezing 7- to 8- and 11-day-old cattle embryos. *Theriogenology*, 15, 1981, s. 114. Abstr.

WHITTINGHAM, D. G.: General aspects of egg culture and preservation. In: L. E. A. Rowson (Ed.) *Egg transfer in cattle*. Luxembourg, Commission of the European Communities 1976, s. 101-106.

WHITTINGHAM, D. G.: Viability assays for mammalian ova. *Cryobiology*, 15, 1978, s. 245-248.

WHITTINGHAM, D. G. — ANDERSON, E.: Ultrastructural studies of frozen-thawed 8-cell mouse embryos. *J. Reprod. Fertil.*, 48, 1976, s. 137-140.

WILLADSEN, S. M. — POLGE, C. — ROWSON, L. E. A.: *In vitro* storage of cattle embryos. In: J. M. Sreenan (Ed.) *Control of reproduction in the cow*. Luxembourg, Commission of the European Communities 1978a, s. 424-436.

WILLADSEN, S. M. — POLGE, C. — ROWSON, L. E. A.: The viability of deep-frozen cow embryos. *J. Reprod. Fertil.*, 52, 1978b, s. 391-393.

WILLADSEN, S. M. — TROUNSON, A. O. — POLGE, C. — ROWSON, L. E. A. — NEWCOMB, R.: Low temperature preservation of cow eggs. In: L. E. A. Rowson (Ed.) *Egg transfer in cattle*. Luxembourg, Commission of the European Communities 1976, s. 117-124.

Došlo dne 22. 4. 1985

ЛИМАН, П. — ФУЛКА, Й. (Институт физиологии и генетики с/х животных, отдел генетики, Либехов): **Отношение между качеством эмбрионов крупного рогатого скота после размораживания и процентом зачатий после их пересадки.** *Veter. Med. (Praha)*, 31, 1986 (2) : 75-82.

7-дневные эмбрионы скота распределяли после размораживания и замораживания на основе качества на 4 группы: I — полностью экспандированные бластоцисты; II — слабо контрагированные эмбрионы с небольшой долей отмерших клеток; III — контрагированные эмбрионы с несколькими отмершими клетками; IV — дегенерированные эмбрионы с тяжелым повреждением *zona pellucida* или же с полной ее потерей. В результате хирургической пересадки зачали 16 реципиентов (43,2%) из 37 реципиентов, которым пересаживали эмбрионы I гр. Из 53 эмбрионов II гр. возникли 20 зачатий (37,7%), а из общего количества 142 эмбриона (17%) для их оценки служили морфологические критерии, которые достаточны для производственных условий и позволяют уловить изменения, которые не допустимы для дальнейшего развития замораживание эмбрионов; оценка после размораживания; стельность

LIEHMAN, P. — FULKA, J. (Institute of Animal Physiology and Genetics, Department of Genetics, Liběchov): **A Relation between the Quality of Frozen-Thawed Bovine Embryos and the Pregnancy Rate after their Transfer.** *Veter. Med. (Praha)*, 31, 1986 (2) : 75-82.

One hundred and forty-two deep-frozen seven days old bovine embryos were, after thawing and stepwise dilution of cryoprotectant, morphologically evaluated under the stereomicroscope. According to the morphology the embryos were divided into four categories as follows: I — fully expanded blastocysts, II — slightly contracted embryos with a minute part of degenerated cells, III — contracted embryos with some degenerated cells, IV — degenerated embryos and those with heavy-damaged *zona pellucida*, or its complete loss. After surgical transfer of 37 embryos of class I, 16 (43.2%) recipients were pregnant. Transfer of 53 embryos of class II established 20 (37.7%) pregnancies. After transfer of 28 embryos of class III, 10 (35.7%) recipients were pregnant. Twenty four (17%) embryos included in class IV were excluded from transfer. These results indicate that simple morphological evaluation of embryo after freezing and thawing secures relatively objective selection in field conditions. At least this method enables to reveal morphological changes which are not compatible with further development.

cattle; embryo freezing; after thawing evaluation; pregnancy rate

LIEHMAN, P. — FULKA, J. (Institut für Physiologie u. Genetik landwirtschaftlicher Nutztiere, Abt. für Genetik, Liběchov): *Beziehung zwischen der Qualität von Rinderembryonen nach dem Auftauen und der Trächtigkeitsrate nach deren Transfer*. Veter. Med. (Praha), 31, 1986 (2) : 75-82.

Siebtägige Rinderembryonen wurden nach Einfrieren und Auftauen der Qualität nach in vier Gruppen eingeteilt: I — voll expandierte Blastozysten; II — mäßig kontrahierte Embryonen mit geringem Anteil abgestorbener Zellen; III — kontrahierte Embryonen mit mehreren abgestorbenen Zellen; IV — degenerierte Embryonen mit schweren Schädigungen im Bereich der *Zona pellucida*, bzw. nach deren gänzlichem Verlust. Nach einer chirurgischen Übertragung wurden von den insgesamt 37 Empfängerinnen, denen Embryonen der I. Gruppe übertragen wurden, 16 Empfängerinnen (43,2 %) trächtig. Aus 53 Embryonen der II. Gruppe ergaben sich 20 Trächtigkeiten (37,7 %) und von 28 Empfängerinnen mit einem übertragenen Embryo der III. Gruppe wurden 10 Tiere (35,7 %) trächtig. Aus dem Transfer wurden 24 von der Gesamtzahl der 142 Embryonen (17 %) ausgeschaltet. Zur Bewertung der Embryonen wurden morphologische Kriterien angewandt, die für Betriebsbedingungen ausreichend erscheinen und die die mit einer Weiterentwicklung des Embryos unvereinbaren Veränderungen zu erfassen ermöglichen.

Einfrierung von Embryonen; Bewertung nach dem Auftauen; Trächtigkeit

Adresa autorů:

P. Liehman, ing. Josef Fulka, CSc., Ústav fyziologie a genetiky hospodářských zvířat, oddělení genetiky, 277 21 Liběchov

VYVOLANIE BIOLOGICKEJ CHRÁNENOSTI OŠÍPANÝCH PROTI INFEKCIÍ VÍRUSOM AUJESZKÉHO CHOROBY OČKOVANÍM VEĽKÝMI DÁVKAMI ŽIVEJ ALEBO INAKTIVOVANEJ VAKCÍNY

A. Žuffa

ŽUFFA, A. (Výskumné a vývojové pracovisko Biovety, n. p., Nitra): *Vyvolanie biologickej chránenosti ošípaných proti infekcii vírusom Aujeszkeho choroby očkovaním veľkými dávkamilivej alebo inaktivovanej vakcíny*. Veter. Med. (Praha), 31, 1986 (2) : 83-94.

Ošípané očkované proti Aujeszkeho chorobe živou vakcínou v dávke 10^6 TKID₅₀ dvojrázovo v intervale štyroch týždňov, s titrami neutralizačných protilátok (NP) 1 : 16 až 1 : 128 v krvnom sére, ktoré boli za dva týždne nato vystavené kontaktnej infekcii, vykazovali primárne množenie vírusu na sliznici nosa a orofaryngu; vírus bol dokázaný na sliznici nosa počas jedného až piatich dní, s maximálnymi hodnotami infekčných titrov $10^{1,3}$ TKID₅₀ a v orofaryngu počas siedmich dní, s titrami do $10^{3,5}$ TKID₅₀. U ošípaných očkovaných rovnakou dávkou atenuovaného vírusu, ale revakcinovaných dávkou $10^{8,5}$ TKID₅₀, s titrami NP 1 : 256 až 1 : 1024 v krvnom sére, nebol po kontaktnej infekcii vírus na sliznici nosa dokázaný a len stopové množstvá boli zistené v orofaryngu počas jedného až piatich dní. Zo šiestich prasiat očkovaných rovnakým spôsobom, ale infikovaných *i. nas.*, sme infekčný vírus na sliznici nosa dokázali len u jedného, ale stopové množstvá vírusu sme zistili v orofaryngu u všetkých prasiat v období od tretieho do deviateho dňa *p. i.* Sliznica nosa aj orofarynx kontrolných neočkovaných prasiat infikovaných *i. nas.* boli infikované až do ich uhynutia a kontaktom infikovaných prasiat až do 14. dňa. Pri *i. nas.* infekcii prasiat očkovaných dvojrázovo živou alebo inaktivovanou vakcínou, odporázaných prvý až 14. deň po *i. nas.* infekcii, sa vírus replikoval len na mieste primárneho množenia, neprenikol však do CNS ani do vnútorných orgánov. *I. nas.* infekcia vnímavých kontrolných prasiat viedla k disseminovaniu infekcie neurogénou aj lymfohematogénou cestou.

kontaktná infekcia; imunizácia; rezistencia

Stupeň klinickej a biologickej ochrany ošípaných proti experimentálnej infekcii virulentným vírusom Aujeszkeho choroby (Au. ch.), očkovaných živou alebo inaktivovanou vakcínou, je závislý od stupňa imunity vyvolanej očkovaním; dvojrázovo očkované ošípané, s vyššími titrami sérových protilátok, sú chránené lepšie ako ošípané očkované jednorázovo s nízkymi titrami protilátok (Pensaert a Vandepute, 1980; Žuffa a i., 1982, 1984). Pri definovanej úrovni postvakcinačnej imunity je klinický prejav a distribúcia vírusu v organizme v priamom vzťahu k veľkosti infekčnej dávky; pri malej infekčnej dávke sa vírus nereplikoval ani na miestach primárneho množenia (Wittmann a i., 1982), kým pri použití veľkej infekčnej dávky neboli preukazné rozdiely v rozseve infekcie u vakcinovaných a kontrolných vnímavých oší-

paných (Wittmann a i., 1980). Úplnú ochranu slizníc horných ciest dýchacích proti masívnej experimentálnej infekcii vyvolá len prekonanie infekcie virulentným vírusom (Sabó a Blaškovič, 1970).

Cieľom našich pokusov bolo charakterizovať stupeň rezistencie slizníc horných ciest dýchacích u ošipovaných s vysokým obsahom sérových protilátok vyvolaných inokuláciou veľkej dávky živého atenuovaného vírusu a definovať intenzitu rozsevu infekčného vírusu v organizme prasiat očkovaných živou alebo inaktivovanou vakcínou.

MATERIÁL A METÓDY

VAKCÍNY

Živá vakcína SUIVAK z kmeňa Buk-TK/650 (Žuffa, 1981) a inaktivovaná olejová vakcína INAVAK (Salaj a i., 1984) sú komerčné výrobky Biovety, n. p., Nitra.

BUNKOVÉ KULTÚRY

Skúmavkové kultúry kuracích embryonálnych buniek (KEB) na titráciu vírusu a protilátok sme pripravili spôsobom bežne zaužívaným v našom laboratóriu. Očkovali sme ich po 24-hodinovej inkubácii pri teplote 37 °C bez výmeny média a výsledok sme odčítali podľa CPE piaty deň po očkovaní.

TITRÁCIA PROTILÁTK

Séra odoberané v rozličnom čase po očkovaní a infekcii sme inaktivovali pri teplote 56 °C a až do vyšetrenia sme ich skladovali pri teplote -20 °C. Obsah neutralizačných protilátok (NP) sme zisťovali už opísaným spôsobom (Žuffa a i., 1982).

POKUSNÉ ZVIERATÁ

Behúne vo veku troch mesiacov, v dobrom zdravotnom stave, pochádzali z chovov prostých protilátok proti Aujeszkeho vírusu (AV).

INFEKCIA POKUSNÝCH PRASIAT

Na infekciu sme použili virulentné kmene Rača-5 a OLD-5 v šiestej, resp. deviatej pasáži na kultúrach KEB. Prasatám sme aplikovali *i. nas.* po 4 ml vírusovej suspenzie predstavujúcej zmes rovnakým dielom zmiešaných infekčných tkanivových tekutín oboch kmeňov s obsahom $10^{6.5}$ TKID₅₀/ml pri kmeni Rača-5 a $10^{6.8}$ TKID₅₀/ml pri kmeni OLD-5, po 2 ml do každého nosného otvoru. Prasatá vystavené kontaktnej infekcii boli ustajnené v jednom koterci s *i. nas.* infikovanými kontrolami.

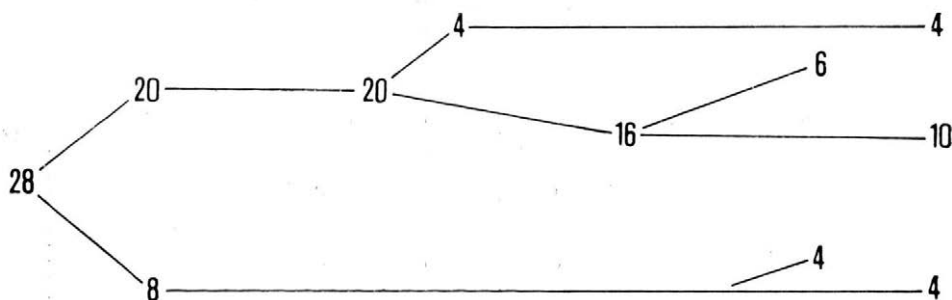
KLINICKÉ POZOROVANIE

Klinická kontrola pokusných ošipovaných zahrnovala denné meranie telesnej teploty, kontrolu spotreby krmiva a celkového zdravotného stavu.

USPORIADANIE POKUSOV

V prvom pokuse sme použili 28 prasiat. Z nich boli štyri očkované a za 28 dní revakcinované lyofilizovanou vakcínou SUIVAK v dávke 2 ml s obsahom 2×10^6 TKID₅₀ vírusu (1. skupina). Šestnásť prasiat bolo očkovaných rovnakou lyofilizovanou vakcínou, ale za 28 dní boli revakcinované 2 ml neriedenej infekčnej tka-

Celkový počet prasiat	Počet prasiat - vacc. - kontrol	Spôsob očkovania		Spôsob inf.	
		Lyofil. vacc.	Konc. tekut. vírus	I. nas.	Kontakt
		Vacc. Revacc.	Revacc.		



1. Schéma pokusu — Scheme of the trial

nivovej tekutiny kmeňa Buk-TK/650 (2. skupina). Osem prasiat ostalo neošetrených ako kontroly (3. skupina). Za ďalšie dva týždne boli vakcinované aj kontrolné ošipané infikované takto: šesť prasiat z druhej skupiny, očkované lyofilizovaným a revakcinované tekutým vírusom, a štyri prasatá z kontrolnej skupiny boli infikované *i. nas.*; prasatá prvej skupiny a štyri prasatá tretej kontrolnej skupiny boli vystavené kontaktnej infekcii. Schéma pokusu je na obr. 1.

Krv na stanovenie obsahu NP sme odoberali pred očkovaním a potom v jednotýždňových intervaloch až do revakcinácie, pred revakinciou a za jeden a dva týždne po revakcinácii, pred infekciou a za jeden a dva týždne *p. i.*

Na zistenie prítomnosti vírusu v nosných sekrétoch a na zistenie trvania jeho exkrécie sme robili pomocou vatových tampónov stery sliznice nosa a orofaryngu pred a za 1, 3, 5, 7, 9 a 14 dní *p. i.* a obsah vírusu vo výluhoch vatových tampónov sme zisťovali titráciou na skúmavkových kultúrach KEB.

V druhom pokuse sme použili 30 behúňov. Z nich bolo desať očkovaných živou vakcínou SUIVAK v dávke 2 ml s obsahom $2 \times 10^{6.3}$ TKID₅₀ s. c. a po šiestich týždňoch sme ich revakcinovali 2 ml tekutého vírusu s obsahom $2 \times 10^{8.0}$ TKID₅₀ (1. skupina). Desať behúňov bolo očkovaných inaktivovanou vakcínou INAVAK v dávke 2 ml *i. m.* s revakinciou rovnakou vakcínou v dávke 5 ml *i. m.* (2. skupina). Desať prasiat ostalo neošetrených ako kontrola (3. skupina). Za dva týždne po revakcinácii boli pokusné aj kontrolné ošipané podrobené *i. nas.* vyvolávajúcej infekcii. Z obidvoch pokusných skupín sme v prvom a 14. dni *p. i.* zabili po jednom prasati a v 3., 5., 7. a 10. dni po dvoch prasatách. Z kontrolnej skupiny sme vyberali k odporazeniu prasatá podľa aktuálneho zdravotného stavu tak, aby sa predišlo úhynom; napriek tomu však uhynulo po jednom prasati v treťom, štvrtom a piatom dni.

K vyšetrovaniu na obsah vírusu sme odoberali tieto orgány: sliznicu nosa, sliznicu priedušnice, mandle, apikálne laloky pľúc, lymfatické uzliny submandibulárne, predkolenné a mezenterálne, slezinu, nadobličky, kôru mozgovú, kmeň mozgový, krčnú miechu a krv.

Z jednotlivých orgánov sme pripravili v Earlovom médiu s obsahom širokospektrálnych antibiotík 10% suspenzie, ktoré sme po odstredení pri nízkych obrátkach vyšetrovali na obsah vírusu titráciami na skúmavkových kultúrach.

Krvné vzorky na zistenie obsahu NP sme odoberali pred očkovaním a potom v jednotýždňových intervaloch, pred revakinciou a za 7 a 14 dní po revakcinácii a pri porážke jednotlivých zvierat.

VÝSLEDKY

POKUS 1

Klinika: Očkovanie neovplyvnilo celkový zdravotný stav zvierat. Po infekcii ostali klinicky celkom zdravé ošipané prvej a druhej

I. Obsah Aujeszkeho vírusu v nosných sekrétoch ošipaných s rozdielnou úrovňou humorálnej imunity vyvolanej očkovaním vírusom Buk-TK/650 po *i. nas.* a kontaktnej infekcii — The content of the Aujeszky's disease virus in the nasal secretions of pigs with different humoral immunity induced by inoculation with the Buk-TK/650 virus after *i. nas.* and contact infection

Spôsob očkovania	Spôsob infekcie	Číslo prasiat	Titer v NP v sére pri infekcii	Obsah vírusu v nosných sekrétoch za dní p. i.						
				0	1	3	5	7	9	14
SUIVAK lyofilizovaný 2 ×	kontakt	1	16	— ¹	—	0,6 ²	1,3	0,5	—	—
		2	128	—	—	—	0,5	0,5	—	—
		3	64	—	—	0,1	1,0	0,2	—	—
		4	128	—	—	—	0,6	—	—	—
SUIVAK lyofilizovaný 1 × tekutý 1 ×	<i>i. nas.</i>	5	256	—	—	—	—	—	—	—
		6	256	—	—	—	—	—	—	—
		7	1024	—	—	—	—	—	—	—
		8	512	—	—	—	—	—	—	—
		9	512	—	—	1,0	1,5	—	—	—
		10	1024	—	—	—	—	—	—	—
	kontakt	11	1024	—	—	—	—	—	—	—
		12	256	—	—	—	—	—	—	—
		13	128	—	—	—	—	—	—	—
		14	512	—	—	—	—	—	—	—
		15	512	—	—	—	—	—	—	—
		16	256	—	—	—	—	—	—	—
		17	1024	—	—	—	—	—	—	—
		18	256	—	—	—	—	—	—	—
		19	512	—	—	—	—	—	—	—
		20	1024	—	—	—	—	—	—	—
Kontroly	<i>i. nas.</i>	21	—	—	1,5	3,6	+			
		22	—	—	1,0	4,6	+			
		23	—	—	1,6	3,0	+			
		24	—	—	1,0	3,5	3,6	+		
	kontakt	25	—	—	—	2,5	2,0	1,3	—	—
		26	—	—	0,5	2,0	2,3	1,0	0,6	0,3
		27	—	—	—	1,6	1,3	3,0	+	
		28	—	—	0,5	1,6	2,5	1,0	—	—

skupiny, t. j. očkované dvojrázovo lyofilizovaným, resp. lyofilizovaným a tekutým vírusom, vystavené kontaktnej infekcii. Zvieratá druhej skupiny, infikované *i. nas.*, vykazovali miernu inapetenciu piaty deň po infekcii. Kontrolné ošipané infikované *i. nas.* vykazovali už druhý deň mierne respiračné príznaky s následným ťažkým ochorením a do plate-

II. Obsah Aujeszkeho vírusu v orofaryngeálnych výteroch ošipaných s rozdielnou úrovňou humorálnej imunity vyvolanej očkovaním vírusom Buk-TK/650 po *i. nas.* a kontaktnej infekcii — The content of the Aujeszky's disease virus in the oropharyngeal smears of pigs with different humoral immunity induced by inoculation with the Buk-TK/650 virus after *i. nas.* and contact infection

Spôsob očkovania	Spôsob infekcie	Číslo prasiat	Titer NP v krvnom sére pri infekcii	Obsah vírusu v orofaryngeálnych výteroch za dní p. i.						
				0	1	3	5	7	9	14
SUIVAK lyofilizovaný 2 ×	kontakt	1	16	—	—	1,0	1,6	1,5	0,2	—
		2	128	—	—	0,5	0,6	1,5	0,1	—
		3	64	—	—	0,2	0,5	2,0	0,6	—
		4	128	—	—	0,1	2,5	3,5	2,0	—
SUIVAK lyofilizovaný 1 × tekutý 1 ×	<i>i. nas.</i>	5	256	—	—	0,2	—	1,3	1,3	—
		6	256	—	—	—	—	—	—	—
		7	1024	—	—	0,3	—	—	—	—
		8	512	—	—	—	—	0,5	—	—
		9	512	—	—	0,5	—	—	0,3	—
		10	1024	—	—	—	0,6	1,0	—	—
SUIVAK lyofilizovaný 1 × tekutý 1 ×	kontakt	11	1024	—	—	—	—	—	0,5	—
		12	256	—	—	—	1,5	—	0,5	—
		13	128	—	—	—	—	1,0	—	—
		14	512	—	—	—	—	—	0,5	—
		15	512	—	—	—	—	0,5	—	—
		16	256	—	—	—	—	—	—	—
		17	1024	—	—	—	—	—	—	—
		18	256	—	—	—	—	—	—	—
		19	512	—	—	0,6	—	—	—	—
		20	1024	—	—	—	—	—	—	—
Kontroly	<i>i. nas.</i>	21	—	—	0,6	3,6	+	—	—	—
		22	—	—	1,5	2,5	+	—	—	—
		23	—	—	1,6	3,0	+	—	—	—
		24	—	—	2,0	2,6	3,0	+	—	—
	kontakt	25	—	—	—	0,5	1,0	2,0	0,6	1,6
		26	—	—	—	0,5	1,3	3,0	1,3	0,6
		27	—	—	—	2,0	2,5	1,5	+	—
		28	—	—	—	1,5	2,0	2,5	0,5	—

ho dňa všetky uhynuli; z kontrolných prasiat vystavených kontaktnej infekcii uhynulo jedno ôsmy deň po infekcii a ostatné vykazovali charakteristické príznaky Au. ch., trvajúce do druhého až 11. dňa.

Protilátky: Očkovanie lyofilizovaným vírusom vyvolalo tvorbu NP v nízkych titroch a revakcinácia vzostup protilátok do titrov 1:32 až 1:128, ale revakcinácia tekutým vírusom vyvolala vzostup NP do titrov 1:256 až 1:2048. *I. nas.* aj kontaktná infekcia stimulovala ďalší vzostup protilátok, ktorý bol najvýraznejší u prasiat prvej skupiny. Kontrolné prasatá ostali až do infekcie sérologicky negatívne, a tie, ktoré kontaktnú infekciu prežili, vytvorili za dva týždne protilátky v titroch 1:16 až 1:64.

Vylučovanie vírusu: Po kontaktnej infekcii bol dokázaný vírus na sliznici nosa u všetkých prasiat prvej skupiny očkovaných a revakcinovaných lyofilizovaným vírusom, ale všetky prasatá očkované lyofilizovaným a revakcinované tekutým vírusom, s vysokým stupňom humorálnej imunity, boli po celé sledované obdobie bez vírusu. Zo šiestich prasiat očkovaných lyofilizovaným a revakcinovaných tekutým vírusom, infikovaných *i. nas.*, malo stery nosnej sliznice infekčné len jedno počas dvoch dní (tab. I).

Rozdielne výsledky sme zaznamenali v jednotlivých pokusných skupinách pri vyšetrovaní orofaryngeálnych výterov. Prasatá prvej pokusnej skupiny, očkované dvojrázovo lyofilizovaným vírusom, vylučovali po vystavení kontaktnej infekcii malé množstvo vírusu od tretieho do de-

III. Distribúcia Aujeszského vírusu po *i. nas.* infekcii prasiat imunizovaných živou vakcínou proti Aujeszského chorobe — The distribution of the Aujeszky's disease virus after *i. nas.* infection of piglets immunized with the live vaccine against the Aujeszky's disease

Odpora- zené za dni p. i.	Titer NP		Obsah vírusu v orgánoch											
	pri infekcii	pri porážke	sliznica nosa	mandle	sliznica priedušnice	pľúca	lymfatické uzliny			slezina	nadobličky	kôra mozgová	kmeň mozgový	miecha krčná
							abdomi- nálne	predkolo- strálne	mezen- teriálne					
1	1024	512	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
3	512	512	0,5	1,6 ¹	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	256	1024	0,6	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
5	256	1024	1,0	2,3	0,3	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	512	4096	0,5	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
7	128	256	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	512	256	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
10	1024	512	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	512	512	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
14	1024	1024	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—

IV. Distribúcia Aujeszkeho vírusu po *i. nas.* infekcii prasiat imunizovaných inaktivovanou vakcínou proti Aujeszkeho chorobe — The distribution of the Aujeszky's disease virus after *i. nas.* infection of piglets immunized with the inactivated vaccine against the Aujeszky's disease

Odporažené za dni p. i.	Titer NP		Obsah vírusu v orgánoch											
	pri infekcii	pri porážke	sliznica nosa	mandle	sliznica priedušnice	pľúca	lymfatické uzliny			slezina	nadobličky	kôra mozgová	kmeň mozgový	miecha krčná
							abdomi- nálne	predkolo- strálne	mezen- teriálne					
1	256	256	0,3	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
3	128	256	1,3	2,0	0,3	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	256	512	—	1,5	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
5	128	2048	0,6	2,0	0,5	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	512	2048	0,6	1,3	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
7	512	4096	0,3	0,5	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	128	4096	—	1,0	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
10	256	4096	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	128	4096	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
14	512	2048	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—

viateho dňa. V druhej pokusnej skupine, infikovanej kontaktom, obsahovali orofaryngeálne výtery stopové množstvá vírusu u jedného prasata v piatom, u dvoch prasiat v siedmom a u štyroch prasiat v deviatom dni. Orofaryngeálne výtery *i. nas.* infikovaných prasiat druhej pokusnej skupiny boli nepravidelne infekčné od tretieho do deviateho dňa, s obsahom stopových množstiev vírusu. Kontrolné prasatá infikované *i. nas.* boli infekčné počnúc prvým dňom až do úhynu a prasatá vystavené kontaktnej infekcii boli infekčné až do 14. dňa (tab. II).

POKUS 2

Klinika: Očkovanie prasiat živou ani inaktivovanou vakcínou nevyvolalo zistiteľné miestne ani celkové reakcie. Po infekcii vykazovali prasatá prvej pokusnej skupiny očkované živou vakcínou miernu inapetenciu na tretí až štvrtý deň, bez zjavných porúch celkového zdravotného stavu. U prasiat očkovaných vakcínou INAVAK pretrvávala inapetencia od tretieho do šiesteho dňa, pričom v období od tretieho do piateho dňa bola odprevádzaná miernou apatiou; respiratórne ani nervové príznaky sme nepozorovali. Kontrolné prasatá vykazovali vážne poruchy celkového zdravotného stavu už počnúc druhým dňom. Tieto poruchy boli charakterizované inapetenciou, somnolenciou, apatiou a u dvoch prasiat zvracaním; tieto poruchy sa stupňovali do úplnej anorexie, prejavov ataxie až ochrnutia. Aj keď sme na porážku vyberali

V. Distribúcia Aujeszského vírusu po *i. nas.* infekcii kontrolných vnímavých prasiat
— The distribution of the Aujeszky's disease virus after *i. nas.* infection of susceptible control piglets

Odpora- zené za dní p. i.	Titer NP		Obsah vírusu v orgánoch											
	pri infekcii	pri porážke	sliznica nosa	mandle	sliznica priedušnice	pľúca	lymfatické uzliny			slezina	nadobličky	kôra mozgová	kmeň mozgový	miecha krčná
							abdo- minálne	predkolo- strálne	mezen- teriálne					
1	0	0	2,6 ¹	3,5	2,0	—	—	—	—	—	—	—	—	—
3	0	0	4,5	5,6	1,6	1,5	0,6	0,5	—	—	2,0	—	—	—
	0	0	5,5	5,0	2,3	3,3	—	—	—	1,5	2,6	—	—	—
4	0	0	4,0	3,5	2,6	1,5	0,5	N	N	—	2,5	1,5	1,5	—
5	0	0	4,0	3,6	1,5	2,0	1,0	2,3	0,5	1,0	1,5	2,3	2,6	0,5
	0	0	3,5	3,0	2,5	1,5	1,5	1,0	1,0	1,3	2,3	0,5	1,6	1,0
6	0	0	5,0	6,3	3,5	2,6	1,5	0,5	0,3	2,0	1,0	0,5	1,0	1,3
7	0	2	2,6	2,3	1,3	1,0	—	0,5	1,0	1,0	2,0	0,5	1,3	—
10	0	32	—	2,5	1,5	—	—	—	—	—	—	—	—	—
14	0	64	—	1,3	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—

¹ = titry vírusu v log₁₀ na g tkaniva
— = < 10 TKID₅₀ na 0,1 g tkaniva

zvieratá s najpokročilejším klinickým prejavom, tri z nich uhynuli, a to po jednom kuse tretí, štvrtý a piaty deň *p. i.*

Klinickému prejavu odpovedal aj priebeh telesných teplôt. U prasiat očkovaných živou vakcínou sme zaznamenali termické stavy len tretí deň, v skupine očkovanej inaktivovanou vakcínou druhý až piaty deň po očkovaní, kým kontrolné prasatá mali horúčku až do odpora-zenia, resp. do úhynu.

Protílátky: Merateľné množstvo protilátok vytvorili prasatá obidvoch pokusných skupín už za sedem dní *p. v.* s pokračujúcim vzostu-pom titrov až do šiesteho týždňa *p. v.*, pričom titry zaznamenané v tom čase boli vyššie v skupine očkovanej inaktivovanou vakcínou než v sku-pine očkovanej živou vakcínou. Revakcinácia vyvolala v obidvoch prípa-doch včasný vzostup protilátok do vysokých titrov a infekcia vyvolala ďalší signifikantný vzostup protilátok.

Dôkaz vírusu v orgánoch: Výsledky izolačných pokusov z orgánov prasiat jednotlivých pokusných skupín sú uvedené v tab. III až V. Po infekcii bol vírus dokázaný u prasiat očkovaných živou vakcí-nou SUIVAK od tretieho do piateho dňa a u prasiat očkovaných inakti-vovanou vakcínou INAVAK od prvého do siedmeho dňa v nízkych titroch len na miestach primárneho množenia, kým v CNS ani vo všetkých

vnútorných orgánoch sme infekčný vírus nezistili (tab. III, IV). U kontrolných neočkovaných prasiat došlo k primárnemu množeniu vírusu na sliznici nosofaryngu a priedušnice, odkiaľ pokračoval rozsev do cieľových orgánov neurogennou aj lymfohematogennou cestou (tab. V).

DISKUSIA

Očkovanie ošipaných živou alebo inaktivovanou vakcínou vyvolá imunitu, ktorá je v závislosti od imunogenity vakcíny a počtu aplikovaných dávok spojená s čiastočnou alebo úplnou ochranou proti klinickému ochoreniu (Pensaert a Vandepute, 1980; Žuffa a i., 1982, 1984), avšak ani vysoký stupeň imunity nezabráni kolonizácii sliznice horných ciest dýchacích pri kontakte očkovaných zvierat s virulentným vírusom (McFerran a Dow, 1975; Žuffa a i., 1982). Intenzita množenia vírusu na sliznici horných ciest dýchacích, ako aj množstvo a trvanie jeho exkrécie do vonkajšieho prostredia, sú v nepriamej korelácii k stupňu imunity vyvolanej očkovaním; bez ohľadu na typ použitej vakcíny vylučujú dvojrázovo očkované ošipané s vyšším stupňom humorálnej imunity menej vírusu a po kratší čas ako ošipané očkované jednorázovo, s nízkymi titrami sérových protilátok (Pensaert a Vandepute, 1980; Žuffa a i., 1984). V súlade s týmito zisteniami sme v našich pokusoch dokázali po kontaktnej infekcii vírusu u všetkých prasiat s titrami sérových protilátok 1:16 až 1:128 (očkovaných dvojrázovo lyofilizovanou vakcínou). Všetky stery sliznice nosa u prasiat s titrami protilátok 1:256 až 1:1024, očkovaných lyofilizovaným a tekutým vírusom, boli bez vírusu. Vysoký stupeň biologickej chránenosti prasiat s vysokou úrovňou humorálnej imunity sa potvrdil aj pri ich podrobení *i. nas.* infekcii, keď u piatich zo šiestich infikovaných zvierat boli nosné sekréty prosté infekčného vírusu po celé sledované obdobie. Absencia infekčného vírusu na sliznici nosa a stopové množstvo vírusu v orofaryngu prasiat očkovaných lyofilizovaným a tekutým vírusom, vystavených *i. nas.* infekcii, dokazuje, že vysoká úroveň humorálnej imunity je spojená s vysokým stupňom rezistencie sliznice respiračného traktu proti infekcii.

Imunita vyvolaná očkovaním živou aj inaktivovanou vakcínou limitovala množenie čelenžného vírusu na orgány primárneho množenia a zabránila jeho rozsevu do CNS a vnútorných orgánov. V uvedených experimentálnych podmienkach, osobitne so zreteľom na veľkosť použitej infekčnej dávky, odpovedajú naše zistenia nálezom, ktoré uvádzajú Wittmann a i., (1980). V pokusoch citovaných autorov bola veľkosť infekčnej dávky použitej k čelenži vakcinovaných ošipaných rozhodujúcim činiteľom pri navodení replikácie vírusu v miestach primárneho množenia a jeho distribúcií do jednotlivých orgánov.

Nezaznamenali sme významnejšie rozdiely v replikovaní čelenžného vírusu na miestach primárneho množenia ani v jeho distribúcií do vnútorných orgánov u ošipaných očkovaných živou alebo inaktivovanou vakcínou.

Z epizootologického hľadiska je dôležité, do akej miery ovplyvňuje imunita vyvolaná očkovaním množenie vírusu v rámci organizmu, kolobeh vírusu v populácii ošipaných zamorených chovov a vznik latencie. Limitovaním replikácie infekčného vírusu na miestach primárneho mno-

ženia, znížením množstva a skrátením obdobia jeho exkrécie do vonkajšieho prostredia a navodením rezistencie sliznice horných ciest dýchacích pri infekcii zvierat vakcinovaných malými dávkami vírusu, interferuje očkovaním navodená imunita s cirkulovaním virulentného vírusu v zamorenom chove. Tieto okolnosti priaznivo prispievajú k obmedzeniu infekcie a môžu viesť, za spolupôsobenia odpovedajúcich veterinárno-zdravotných opatrení, k jej eliminácii zo zamoreného chovu. Na druhej strane aj imunizované zvieratá môžu replikovať a vylučovať infekčný vírus, ktorý vyvolá u vnímavých ošípaných infekciu v biologickom aj klinickom prejave. Takéto zvieratá sú zdrojom infekcie nielen pre vnímavé, ale aj pre imunizované zvieratá. Za účelom udržania infekcie pod kontrolou a za účelom jej postupnej eliminácie z chovu treba udržiavať v stave vysokej imunity pokiaľ možno všetky zvieratá a zabezpečiť odsun alebo izoláciu tých, ktoré nemôžu byť z akýchkoľvek dôvodov imunizované. Takýmto postupom sa podarilo ozdraviť chovy s akútnym aj pretrvávajúcim inaperentným priebehom infekcie [Žuffa a i., 1975] a eliminovať infekciu z celých zamorených oblastí [Achtzehn a i., 1978; Gasparin a Lüpcke, 1978; Kretschmar, 1973].

Literatúra

- ACHTZEHN, W. — BREYMAN, H. O. — KRETSCHMAR, C.: Erfahrungen bei der Sanierung der Schweinebestände eines Kreises von Aujeszky'scher Krankheit. Mh. Veter.-Med., 33, 1978, s. 775-777.
- McFERRAN, J. B. — DOW, C.: Studies on immunization of pigs with the Bratha strain of Aujeszky's disease virus. Res. Veter. Sci., 19, 1975, s. 17-22.
- GASPARIN, J. — LÜPCKE, W.: Erfahrungen beim Einsatz von Aujeszky-Lebendimpfstoff „Dessau“. Mh. Veter.-Med., 33, 1978, s. 548-550.
- KRETSCHMAR, C.: Zum Wert der aktiven Immunisierung mit Lebendimpfstoff bei der Sanierung der Bestände von Aujeszky'scher Krankheit. Mh. Veter.-Med., 28, 1973, s. 927-932.
- OIRSCHOT VAN, J. T.: *In vitro* stimulation of pig lymphocytes after infection and vaccination with Aujeszky's disease virus. Veter. Microbiol., 3, 1979, s. 255-268.
- PENSAERT, M. B. — VANDEPUTE, J.: Weight losses in vaccinated fattening swine upon oronasal challenge with Aujeszky's disease virus. IPVS 1980 Congress, Copenhagen, Denmark, s. 118.
- SABÓ, A. — BLÁŠKOVIČ, D.: Resistance of pig tonsillary and throat mucosa to reinfection with a homologous pseudorabies virus strain. Acta virol. (Praha), 14, 1970, s. 17-24.
- SALAJ, J. — ŽUFFA, A. — BRÁNYIK, A. — ŽUFFOVÁ, J.: Inaktivovaná olejová vakcína proti Aujeszkého chorobe a spôsob jej výroby. Autorské osvedčenie č. 231514, 1984.
- WITTMANN, G. — JAKUBÍK, J. — AHL, R.: Multiplication and distribution of Aujeszky's disease (*Pseudorabies*) virus in vaccinated and non-vaccinated pigs after intranasal infection. Arch. Virol., 66, 1980, s. 227-240.
- WITTMANN, G. — OHLINGER, V. — HÖHN, U.: Die Vermehrung von Aujeszky-virus (AV) in vakzinieren Schweinen nach experimenteller Infektion mit hohen und niedrigen Virusmengen. Zbl. Veter.-Med., R. B, 29, 1982, s. 24-30.
- ŽUFFA, A.: Kmeň vírusu Aujeszkého choroby avirulentný pre ošípané a spôsob jeho šľachtenia. Autorské osvedčenie č. 211190, 1981.
- ŽUFFA, A. — GRUNERT, Z. — MICHALOVIČ, M.: Sanierung einiger Zuchtschweinbestände von der Aujeszky'schen Krankheit. Zbl. Veter.-Med., R. B, 22, 1975, s. 89-97.
- ŽUFFA, A. — SALAJ, J. — ČERNÍK, K.: Immunity in pigs vaccinated by live or inactivated Aujeszky vaccines against experimental infection. Zbl. Veter.-Med., R. B, 29, 1982, s. 663-675.
- ŽUFFA, A. — SALAJ, J. — ŽUFFA, T. — PYTLÍK, F. — ZAJAC, J.: Studium der immunisierenden Eigenschaften von 3 Vakzinen gegen die Aujeszky'sche Krankheit. Arch. exp. Veter.-Med., 38, 1984, s. 258-267.

Došlo dňa 13. 6. 1985

ЖУФФА, А. (Научно-исследовательский и экспериментальный рабочий объект БИОВЕТА, Нитра): Прививка биологической защищенности свиней от вируса болезни Ауески с помощью крупных доз живой или инактивированной вакцины. *Veter. Med. (Praha)*, 31, 1986 (2) : 83-94.

У свиней, вакцинированных против болезни Ауески живой вакциной дозой 10^6 TKID₅₀ два раза в интервале 4 недель, с титрами нейтрализующих антител (NP) 1:16 до 1:128 в кровяной сыворотке, которых через 2 недели подвергали контактной инфекции, отмечено первичное размножение вируса на слизистой носа и орофаринксе; вирус доказывали на этой слизистой в течение 1—5 дней с макс. значениями инфекционных титров $10^{1.3}$ TKID₅₀ и в орофаринксе в течение 7 дней с титрами до $10^{3.5}$ TKID₅₀. У свиней, вакцинированных такой же дозой стенированного вируса или же снова вакцинированных дозой $10^{8.5}$ TKID₅₀ с титрами NP 1:256 до 1:1024 в сыворотке крови, вирус на слизистой носа после контактного заражения не доказан, лишь микродозы отмечены в орофаринксе в течение 1—5 дней. Из 6 свиней, вакцинированных таким же способом, но через нос, этот вирус установлен лишь у одного животного, а микродозы — у всех, начиная с 3-го и до 9-го дней после инъекции. Как слизистая, так и орофаринкс невакцинированных свиней через нос были инфекционными вплоть до забоя, а у контактно зараженных свиней — до 14-го дня. У зараженных через нос два раза свиней той или иной вакциной и забитых на 1—14-й дни после инъекции, вирус отмечен лишь в месте первичного размножения, но не проник ни в CNS, ни во внутр. органы. Заражение через нос восприимчивых свиней вело к рассеянию инфекции нейрогенным и лимфогемогенным путем.

контактное заражение; иммунизация; устойчивость

ZUFFA, A. (Research and Development Centre, Bioveta National Corporation, Nitra): *Inoculation of Large Doses of Live or Inactivated Vaccine to Induce the Biological Immunity of Pigs to Infection with the Aujeszky's Disease Virus*. *Veter. Med. (Praha)*, 31, 1986 (2) : 83-94.

Pigs were inoculated against the Aujeszky's disease twice in a four-week interval. The dose of the live vaccine was 10^6 TKID₅₀ and the titres of neutralizing antibodies were 1:16 to 1:128 in blood serum. Two weeks later the pigs were exposed to contact infection. Primary multiplication of the virus was observed on the mucous membranes of the nose and oropharynx and the virus was detected on the nasal mucous membrane within one to five days, the maximum infection titre values being $10^{1.3}$ TKID₅₀, and on the oropharyngeal mucous membrane within seven days, the maximum titres being up to $10^{3.5}$ TKID₅₀. In another group the pigs were inoculated with the same dose of attenuated virus or re-vaccinated with a dose of $10^{8.5}$ TKID₅₀, with neutralizing antibody titres of 1:256 to 1:1024 in blood serum. No viruses were detected on the nasal mucous membrane after contact infection and only trace amounts of the virus were found in the oropharynx within one to five days. Six piglets were inoculated in the same way but the infection was intranasal. The infective virus was detected on the nasal mucous membrane of only one piglet; however, trace amounts of the virus were found in the oropharynx of all the six piglets within three to nine days after infection. The nasal mucous membrane and oropharynx of the noninoculated control piglets exposed to intranasal infection were infectious until death and those of the contact-infected piglets remained so until the 14th day. At the intranasal infection of the piglets infected twice with a live or inactivated vaccine and slaughtered the 1st to 14th day after intranasal infection, the virus was replicated only in the place of primary multiplication without penetrating into the CNS and the internal organs. The intranasal infection of susceptible control piglets resulted in the dissemination of the infection via the neurogenic and lymphohaematogenic routes.

contact infection; immunization; resistance

ZUFFA, A. (Forschungs- u. Entwicklungsarbeitsstätte des volkseigenen Betriebs BIOVETA, Nitra): *Auslösung einer biologischen Unempfindlichkeit von Schweinen gegenüber dem Virus der Aujeszky'schen Krankheit durch Impfung mit großen Gaben lebendiger oder inaktivierter Vakzine*. *Veter. Med. (Praha)*, 31, 1986 (2) : 83-94.

Die gegen die Aujeszkysche Krankheit mittels lebendiger Vakzine in einer Dosis von 10^6 TKID₅₀ u. zw. zweimal im Intervall von 4 Wochen geimpften Schweine, mit Titern der Neutralisierungsantikörper (NP) 1:16 bis 1:128 im Blutserum, die man zwei Wochen später einer Kontaktinfektion aussetzte, wiesen eine Primärvermehrung des Virus auf den Nasenschleimhäuten und im Oropharynx auf. Das Virus konnte auf den Nasenschleimhäuten während ein bis fünf Tagen, mit Maximalwerten der Infektionstiter von $10^{1.3}$ TKID₅₀ und im Oropharynx während sieben Tagen, mit Titern bis $10^{3.5}$ TKID₅₀, nachgewiesen werden. Bei den mit einer gleichwertigen Dosis attenuierten Virus geimpften oder durch eine Dosis von $10^{8.5}$ TKID₅₀ revakzinieren Schweinen, mit NP-Titern von 1:256 bis 1:1024 im Blutserum, wurde nach der Kontaktinfektion kein Virus auf der Nasenschleimhaut nachgewiesen. Nur im Oropharynx wurden Spurmengen während ein bis fünf Tagen festgestellt. Von sechs, auf analogische Weise geimpften Ferkeln, die jedoch *i. nas.* infiziert wurden, konnten wir das Infektionsvirus auf der Nasenschleimhaut nur bei einem Tier nachweisen, Spuren Mengen des Virus wurden jedoch im Oropharynx bei allen Ferkeln im Zeitraum vom dritten bis neunten Tag *p. i.* festgestellt. Die Nasenschleimhaut und der Pharynx der ungeimpften, *i. nas.* infizierten Kontrollschweine blieben infektiös bis zum Verendungszeitpunkt und die der durch Kontakt infizierten Ferkel bis zum 14. Tag. Bei der *i. nas.*-Infektion der zweifach mit der lebendigen oder inaktivierten Vakzine geimpften Ferkel, die am ersten bis 14. Tag nach der *i. nas.*-Infektion geschlachtet wurden, replizierte sich das Virus nur an der Stelle der primären Vermehrung. Es drang weder in das ZNS noch in die inneren Organe vor. Die *i. nas.*-Infektion sensibler Kontrollschweine führte zu einer Dissemination der Infektion auf neurogenem sowie lymphatischem Wege.

Kontaktinfektion; Immunisierung; Resistenz

Adresa autora:

Doc. MVDr. Alois Žuffa, CSc., Bioveta, Výskumné a vývojové pracovisko, 949 91 Nitra

IZOLACE A IDENTIFIKACE VIRU INFEKČNÍ NEKRÓZY PANKREATU PSTRUHŮ

Z. Pospíšil, J. Tománek, L. Valíček, D. Zendulková

POSPÍŠIL, Z. — TOMÁNEK, J. — VALÍČEK, L. — ZENDULKOVÁ, D. (Výzkumný ústav veterinárního lékařství, Brno): *Izolace a identifikace viru infekční nekrózy pankreatu pstruhů*. Veter. Med. (Praha), 31, 1986 (2) : 95-104.

V práci je popsána první izolace a identifikace viru infekční nekrózy pankreatu u pstruhů v ČSSR. K izolaci byly využity buněčné linie RTG-2, PG a CHSE a identifikace byla provedena elektronovou mikroskopií, křížově virusneutralizačním testem a imunofluorescenční metodou. Prokázali jsme, že všechny izoláty na našem území jsou sérologicky identické a že jsou úzce příbuzné, ne-li shodné s referenčním kmenem Sp, který je v Evropě zastoupen nejvíce. Popsaný metodický postup izolace je použitelný i v diagnostice dalších virových onemocnění ryb.

ryby; elektronová mikroskopie; křížově virusneutralizační test; imunofluorescenční metoda

S rostoucí intenzifikací chovu některých užitkových druhů ryb ve světě vyvstala i potřeba důsledně sledovat jejich zdravotní stav. Plánovaně byly vyselektovány nové formy a kmeny ryb a v souvislosti s velkovýrobní technologií vznikly nové, umělé biotopy. Tento zásah do přirozeného vývoje přinesl i změnu biologické rovnováhy mezi původci chorob a hostiteli, což přispělo k výraznému rozšíření infekčních chorob.

Snad nejvýrazněji se nový způsob chovu ryb projevil v pstruhařských hospodářstvích. Nedlouho po jeho zavedení se v některých zemích začaly objevovat zprávy o zvyšujících se ztrátách zejména pstružního plůdku. Jednou z hlavních příčin bylo onemocnění nazvané infekční nekróza pankreatu.

Infekční nekróza pankreatu (IPN) je kontagiózní, většinou akutně probíhající onemocnění plůdku a mladých lososovitých ryb, zejména pstruhů duhových. Onemocnění je charakterizováno degenerací epitelální tkáně v ledvinách a především nekrobiotickými změnami ve střevní sliznici a pankreatu (Hornich aj., 1986). Velmi vnímavé jsou zejména ryby v prvních měsících života, kdy mortalita může v závislosti na kmenu viru dosahovat 10 až 90 % (Ahne a Wolf, 1980).

Jako původce IPN prokázali Wolf aj. (1960) virus, který byl současně prvním virovým patogenem popsáným u ryb. Po bližším poznání jeho vlastností byl zařazen do čeledi *reoviridae*, i když jej bez výhrad nelze zařadit ani mezi reoviry, ani mezi orbiviry (Underwood aj., 1977). Dobos aj. (1979) proto navrhuje, aby byl zařazen do nově vy-

tvoréné skupiny „birnavirů“. Vzhledem k tomu, že virus IPN nemá vnější obal, je velmi stabilní a odolný vůči účinku chloroformu a kyselin. Virion o velikosti 65 až 75 nm má ikosahedrální symetrii s 92 kapsoméry a obsahuje dvouvláknitou RNK (Kelly a Loh, 1972; Dobos aj., 1977).

U viru IPN bylo popsáno několik odlišných sérotypů. Původní izolát VR 299, prokázaný v Severní Americe, se v neutralizačním testu liší od evropských izolátů Sp a Ab (Jørgensen a Bregnballe, 1969; Wolf a Quimby, 1971).

Z patogenetického a epizootologického hlediska je velmi závažné zjištění, že dospělé, inaparentně infikované ryby mohou být rezervoárem viru a kromě exkrementy mohou vylučovat virus mlíčem, ovariální tekutinou a jikrami (Bullock aj., 1976; Ahne a Wolf, 1980).

Z informací o stabilitě viru ve volném prostředí se zdá, že virus IPN je jedním z nejstabilnějších rybích virových patogenů. Ve vodě 10 °C teplé prokazovali Wedemeyer aj. (1978) jeho infekčnost po dobu osmi týdnů a Ahne (1982) dokonce ještě za 231 den. Podle Desautelse a MacKelvieho (1975) přežívá virus IPN zaschlý na vzduchu pět týdnů, ale nepřežívá pětiminutové ošetření aktivním jódem ve vodní suspenzi.

K průkazu viru IPN jsou nejvhodnější buněčné linie RTG-2, na nichž po infekci vzniká cytopatický efekt. K izolaci viru jsou vhodné homogenáty z parenchymatózních orgánů (játra, slezina, ledviny), a jak byla již zmínka, také mlíčí, ovariální tekutina a jikry (Ahne a Wolf, 1980).

U nás byl virus infekční nekrózy pankreatu poprvé izolován a identifikován v roce 1984 (Pospíšil aj., 1984). Cílem naší práce je popsat postup izolace a identifikace viru IPN tak, aby byl použitelný na specializovaných diagnostických pracovištích.

MATERIÁL A METODY

BUNĚČNÉ KULTURY A JEJICH KULTIVACE

K diagnostice virových chorob pstruhů jsme díky laskavosti prof. Ahneho z Univerzity v Mnichově získali buněčné kultury RTG-2 (linie z varlat pstruha duhového), PG (linie z gonád štiky) a CHSE (linie z embryonálních buněk lososa) — (Pospíšil a Machátková, 1985).

K jejich kultivaci jsme používali médium Eagle-MEM s přidáním 100 m. j. penicilinu a 100 µg streptomycinu na 1 ml. Do růstového média jsme přidávali 10 % do udržovacího média 1 % bovinního fetálního séra. Monolayer narostlých buněk jsme při subkultivaci uvolňovali roztokem 0,15 až 0,20 % trypsinu v 0,02 % verzenu a rozsazovali v poměru 1 : 2. K vyšetřování infekčních materiálů jsme buněčné linie nasazovali do zkumavek po 1 ml buněčné suspenze o hustotě 400 000 až 500 000 buněk v 1 ml. V praxi jsme z jedné Rouxovy láhve à 300 ml nasazovali 60 zkumavek. Buněčné linie jsme kultivovali při teplotě 16 až 18 °C.

MATERIÁL K VYŠETŘENÍ A JEHO ZPRACOVÁNÍ

Vyšetřované ryby většinou pocházely z různých pstruhových hospodářství, ve kterých se vyskytly zvýšené ztráty, popřípadě z hospodářství, v nichž bylo třeba virová onemocnění vyloučit.

K virologickému vyšetření byly využívány zásadně ryby živé, přepravované na větší vzdálenosti většinou v plastických pytlích naplněných zčásti vodou, zčásti kyslíkem. K izolaci viru byly odebrány ledviny, slezina, játra a někdy i pylorické výběžky s pankreatem. Vzhledem k tomu, že u plůdku pstruha byly orgány velmi malé, začali jsme u kusů menších než 5 cm odebírat celé tělo bez hlavy a ocasu.

Z odebraných orgánů byla ve třech miskách připravována desetiprocentní suspenze v Earlově kultivačním médiu bez séra, do kterého bylo přidáno nejméně pětkrát víc antibiotik (500 m. j. penicilinu a 500 µg streptomycinu/1 ml). Orgánová suspenze byla ponechána čtyři až šest hodin v lednici při teplotě +4 °C a potom byla odstředěna při 3000 ot/min. Takto získaná tekutina byla použita k infekci buněčných kultur.

INFEKCE BUNĚČNÝCH KULTUR

Narostlé buněčné kultury, pokud možno ne starší než tři až pět dnů, jsme infikovali dříve popsanou tekutinou v původním ředění 1 : 10 a v ředění 1 : 100, aby-
chom snížili na nejmenší míru nebezpečí kontaminace.

Na narostlý monolayer buněk ve zkumavkách jsme aplikovali 0,2 ml infekčního materiálu a po půlhodinové adsorpci při pokojové teplotě jsme u ředění 1 : 10 zkumavky nejdříve vypláchli, v ředění 1 : 100 pouze doplnili udržovací médium Eagle-MEM s 1 % bovinního fetálního séra a inkubovali při teplotě 16 až 18 °C.

Buňky ve zkumavkách jsme denně po dobu pěti až šesti dnů prohlíželi pod mikroskopem, abychom zjistili případný cytopatický efekt. Pokud se cytopatický efekt objevil, byl materiál vyšetřen v elektronovém mikroskopu a nepřímou imunofluorescenční metodou. Jestliže se cytopatický efekt do šesti dnů po infekci neobjevil, byly provedeny další dvě slepé pasáže, než byl vzorek vyřazen jako negativní. V případě kontaminace byl infekční materiál před další pasáží filtrován přes miliporový filtr o velikosti pórů 0,22 µm.

IDENTIFIKACE VIROVÝCH ISOLÁTŮ

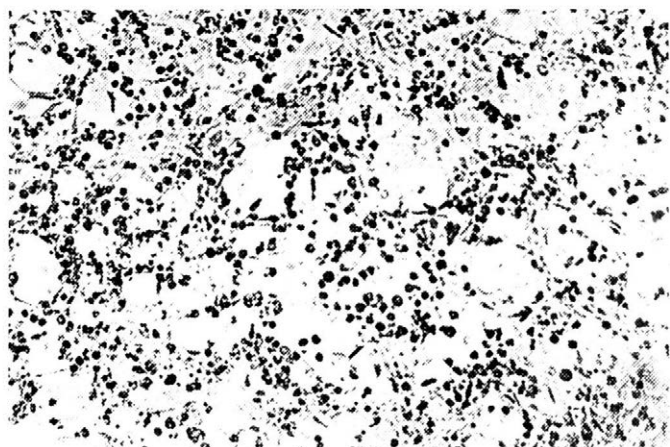
K identifikaci virových izolátů jsme používali jednak elektronově mikroskopické vyšetření — metody negativního barvení a ultratenkých řezů (Valíček a Šmíd, 1983), jednak křížově virusneutralizačního testu a imunofluorescenční metody se specifickými antiséry.

Ke srovnání našich izolátů jsme získali laskavostí prof. Wизigmanna z Tiergesundheitsdienst Bayern, e. v., Grub bei München, typové kmeny viru infekční nekrózy pankreatu Sp 32, Ab 15 a VR 299, sérum a konjugát proti viru infekční nekrózy pankreatu, kmen Sp 10. Současně jsme si na králících připravili specifická antiséra proti některým našim izolátům (Pospíšil aj., 1984).

Křížově virusneutralizační test jsme dělali ve zkumavkách na narostlých vnímavých liniích buněčných rybích kultur, imunofluorescenční vyšetření pak na sklíčkách s narostlými buněčnými kulturami. Sklíčka k imunofluorescenčnímu vyšetření jsme za 48 až 72 hodiny po infekci opláchli pufovaným fyziologickým roztokem a po zaschnutí fixovali 10 minut ve vychlazeném acetonu. U přímé imunofluorescenční metody jsme sklíčka na 30 minut převrstvili specifickým konjugátem, u nepřímé metody napřed specifickým antisérem a po důkladném proprání konjugátem SwAR (Ústav sér a očkovacích látek, Praha); potom jsme preparáty prohlíželi ve fluorescenčním mikroskopu Fluoval (Pospíšil aj., 1972, 1975).

VÝSLEDKY

Na buněčných liniích RTG-2 se první cytopatické změny objevovaly v průměru za 72 hodiny, ale u některých izolátů se ukazovaly výjimečné již dříve, jindy i později. Na infikovaných buňkách jsme pozorovali větší světlolomnost, jejich zakulacení a vypadávání do média. V pozdějších časových intervalech (v průměru za 72—96 h) se v mono-



1. Cytopatický efekt v buněčné linii RTG-2 za 96 hodin po infekci virem infekční nekrózy pankreatu ve druhé pasáži (nativní preparát, původní zvětšení $6,3 \times 3,2$) — A cytopathic effect in cell line RTG-2 96 hours after infection with the infectious pancreatic necrosis virus at the second passage (native preparation, original magnification 6.3×3.2)

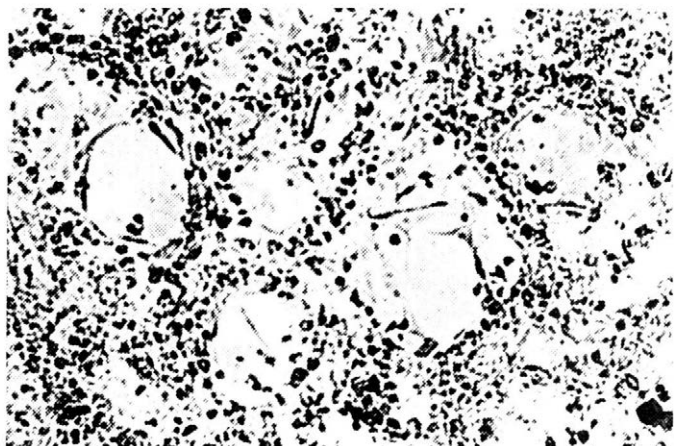
layeru vytvářela oka ohraničená zčásti protáhlými, zčásti zakulacenými buňkami (obr. 1).

Někdy bylo obtížné odlišit první cytopatické změny od cytotoxického působení orgánové suspenze. Pokud v ní však byl virus přítomen, objevil se v těchto sporných případech typický CPE ve druhé pasáži.

V dalších pasážích nastupoval cytopatický efekt viru IPN dříve a byl vyjádřen výrazněji. Typický CPE bylo možné pozorovat průměrně za 72 hodiny (obr. 2), většinou však ani později nedocházelo k úplné destrukci buněčného porostu.

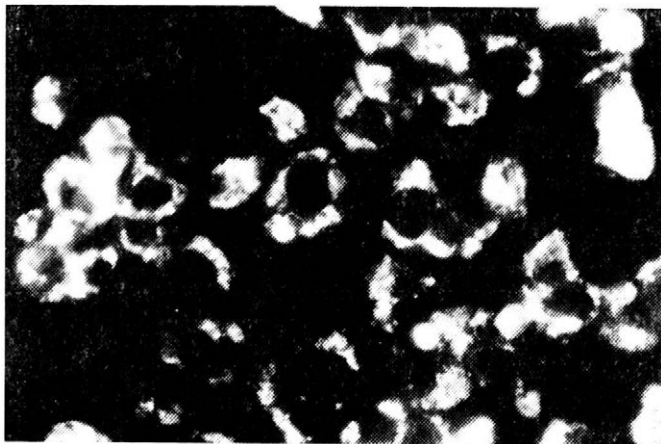
Virus IPN byl opakovaně izolován ze směsných vzorků ledvin, sleziny a jater i z pylorických výběžků a pankreatu a podařilo se nám jej izolovat i z vyvíjejících se jiker, nejčastěji ve stadiu očních bodů.

Při imunofluorescenčním studiu dynamiky viru IPN v buněčné linii RTG-2 a PG se ukázalo, že první imunofluorescence se vyskytovala v cytoplasmě infikovaných buněk asi za 10 až 12 hodin po infekci ve formě jemných perinukleárních granulí. S postupující dobou perinukleárních útvarů se specifickou fluorescencí přibývalo, takže za 24 hodin po infekci se vytvářela jasná perinukleární zóna (obr. 3), za 48 hodin



2. Rozsáhlejší cytopatický efekt v buněčné linii RTG-2 za 72 hodiny po infekci virem infekční nekrózy pankreatu v deváté pasáži (nativní preparát, původní zvětšení $10 \times 3,2$) — A larger cytopathic effect in cell line RTG-2 72 hours after infection with infectious pancreatic necrosis virus at the ninth passage (native preparation, original magnification 10×3.2)

3. Specifická perinukleární fluorescence viru infekční nekrózy pankreatu v buněčné linii RTG-2 za 24 hodiny po infekci (nepřímá imunofluorescence s králičím antiserem — původní zvětšení $40 \times 3,2$) — Specific perinuclear fluorescence of the infectious pancreatic necrosis virus in cell line RTG-2 24 hours after infection (indirect immunofluorescence with rabbit antiserum — original magnification $40 \times 3,2$)



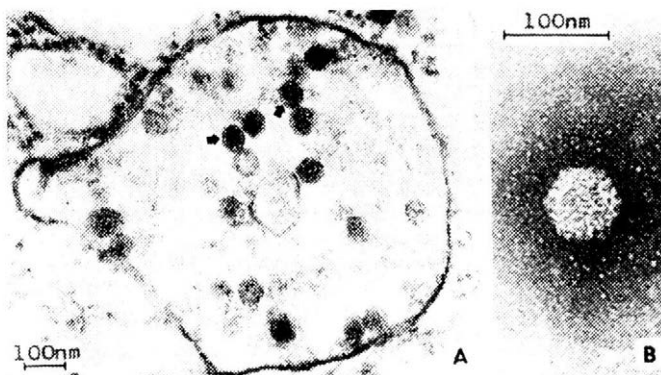
a více byla fluorescence pozorována často v celé cytoplasmě (obr. 4). Jádra infikovaných buněk byla jednoznačně negativní, většinou pouze s velmi slabou nespecifickou fluorescencí.

Vzorky buněčných linií s cytopatickým efektem byly podrobeny elektronově mikroskopickému vyšetření metodou ultratenkých řezů a negativního barvení. V ultratenkých řezech infikovaných buněčnou kulturou jsme prokázali virové partikule, lokalizované buď v cytoplazmatických vakuolách (obr. 5A), volně v cytoplasmě, nebo extracelulárně. Virové partikule měly velikost kolem 70 nm a měly kubický tvar. Ve většině partikul byla centrálně lokalizovaná tmavá dřeň, obklopená tmavou vrstvou, která měla u některých partikul zřetelný hexagonální profil. Ojedinelé jsme zjistili volně v cytoplasmě krystalické uspořádání virů, z nichž některé měly světlou dřeň. Při negativním barvení tkáňové kultury z infikovaných buněčných kultur RTG-2 a CHSE jsme prokazovali virové partikule bez obalu, které měly ikózáhedralní tvar a velikost kolem 70 nm (obr. 5B). Strukturou se podobaly reovirům, ale chyběla jim pro reoviry charakteristická dvojité kapsida. Morfologicky odpovídaly viriony viru IPN.

4. Difúzní cytoplazmatická fluorescence viru infekční nekrózy pankreatu v buněčné linii RTG-2 za 72 hodiny po infekci (původní zvětšení $90 \times 3,2$) — Diffusive cytoplasmic fluorescence of the infectious pancreatic necrosis virus in cell line RTG-2 72 hours after infection (original magnification $90 \times 3,2$)



5. A — viriony IPN (šipky) v cytoplasmatické vakuole buněčné linie CHSE (ultratenký řez); B — virion IPN z infikované buněčné kultury RTG-2 (negativní barvení) — A — The virions of infectious pancreatic necrosis (arrows) in a cytoplasmic vacuole of the CHSE cell line (ultra-thin slice); B — virion of infectious pancreatic necrosis of an infected RTG-2 culture (negative staining)



Identifikace našich izolátů křížově virusneutralizačním testem ukázala jejich úzkou sérologickou příbuznost s referenčním virem IPN, kmen Sp, i když nelze hovořit o jejich úplné identitě. Specifické antisérum proti kmenu Sp totiž výrazně snížilo infekční titr našich izolátů, ale k úplné neutralizaci viru, jak tomu bylo u antisér připravených proti našim izolátům, nedošlo (tab. I). Izoláty dosud prokázané na území ČSR spolu sérologicky korespondovaly a dá se tudíž předpokládat, že kmeny, které se u nás vyskytují, patří k jednomu sérotypu.

Tento předpoklad potvrzují i výsledky nepřímého imunofluorescenčního testu, neboť jedním antisérem bylo možné prokázat specifickou fluorescenci v kulturách infikovaných různými izoláty.

Vyšetření s konjugátem pro přímou imunofluorescenci, obsahujícím specifické protilátky proti referenčnímu kmenu Sp, rovněž potvrdilo příbuznost našich izolátů s kmenem Sp. Intenzita fluorescence však byla nižší než nepřímá fluorescence s antisérem proti izolátům.

DISKUSE

Izolací a identifikací viru infekční nekrózy pankreatu u pstruhů jsme exaktně prokázali výskyt tohoto onemocnění u nás. Virus byl izolován převážně u plůdku pstruha duhového z pstruhařských hospodář-

I. Sérologická indentifikace viru IPN infekční nekrózy pankreatu — Serological identification of infectious pancreatic necrosis virus

Izolát	Titr viru		
	bez antiséra	antisérum Sp	antisérum proti příslušnému izolátu
V.	$10^{6,5}$	10^3	0
U.	$10^{5,5}$	$10^{2,5}$	0
V. L.	$10^{6,0}$	10^3	0
Ref. kmen Sp	$10^{6,0}$	0	$10^{2,5}$

ství, ve kterých se objevila zvýšená morbidita a mortalita ryb nejmladší věkové kategorie.

V praktické diagnostice se nám osvědčilo vyšetření směsných vzorků desetiprocentní suspenze z ledvin, sleziny a jater, popřípadě z celých těl plůdků bez hlavy a ocasní ploutve. V některých případech byly 10% suspenze silně cytotoxické a jelikož poškození buněk často nezabránilo ani vypláchnutí po absorpci, začali jsme k vyšetření běžně používat i orgánovou suspenzi ředěnou v poměru 1 : 100. Z pozitivních materiálů se izolace zdařila obvykle v obou ředěních, ale kvalita i údržnost buněk u vyššího ředění byly daleko lepší.

Vyšší ředění suspenzí také snížilo možný výskyt bakteriálních kontaminací. Jejich nebezpečí se někdy objevovalo u případů vyšetření pstružího plůdku, u něhož jsme k přípravě suspenzí používali celé tělo bez hlavy a ocasní ploutve, a hlavně při vyšetření pylorických výběžků s pankreatem, při kterém bylo nebezpečí kontaminace ze zažívacího traktu. V případě, kdy se přece jen kontaminace v první pasáži objevila, stačilo infekční tkáňovou tekutinu přefiltrovat přes milipórový filtr o velikosti 0,22 μ m. Od vyšetření pylorických výběžků jsme vzhledem ke kontaminacím později zcela upustili.

I když jsme blíže nesledovali závislost vnímavosti buněk k infektu na jejich stáří, pozorovali jsme, že čím byly buňky starší, tím později nastupoval cytopatický efekt a jeho rozvoj byl méně výrazný. Proto jsme k infekci nepoužívali buňky starší než pět dnů po nasazení.

Některé práce pojednávající o viru IPN zdůrazňují značný vliv způsobu uložení materiálu před vyšetřením na průkaz viru. Tak např. Wolf a Quimby (1971) udávají, že pouhé zmrazení jednoho izolátu IPN na teplotu -20°C a jeho rozmrazení snížilo jeho infektivitu o 99,9 %, a doporučují uchovávat materiál při teplotě $+4^{\circ}\text{C}$ v 50% glycerinu. V našich pokusech se dařilo izolovat virus IPN stejně dobře z orgánů uložených v běžném kultivačním médiu v lednici při teplotě $+4^{\circ}\text{C}$, zmrazených cca na -15°C i uložených při teplotě $+4^{\circ}\text{C}$ v 50% glycerinu. Je to v souladu s poznatky o uchovávání materiálu (Wizigmann aj., 1983) i s údaji o relativně velké stabilitě viru IPN na volném prostředí (Wedermeyer aj., 1982 a jiní).

Diagnostická praxe také ukázala, že k vyšetření na IPN byly vhodné všechny tři námi používané linie, i když k rozvoji CPE nejrychleji docházelo a nejvyšších infekčních titrů bylo dosahováno na buněčné linii RTG-2.

Výsledky identifikace našich izolátů pomocí sérologických testů ukázaly jejich úzkou příbuznost s referenčním virem IPN, kmenem Sp. Potvrdily se tak literární údaje, že evropské kmeny patří převážně ke kmeni Sp (Reichenbach — Klinke, 1980). Srovnání našich izolátů mezi sebou pak prokázalo, že kmeny, které se na našem území vyskytují, náleží k jednomu sérotypu.

Kromě vlastního průkazu a identifikace viru IPN u pstruhů považujeme za velmi závažnou izolaci tohoto viru již ve vyvíjejících se jikrách ve stadiu očních bodů. Byly tak potvrzeny dřívější údaje (Ahne a Wolf, 1980) o možném vertikálním přenosu viru IPN a bylo zdůrazněno epizootologické nebezpečí, které v šíření nákazy představují nemocné generační ryby. U nich infekce většinou nevyvolává vážné

klinické příznaky onemocnění, ale jejich potomstvo může být infikováno ihned po vykulení plůdku. Tato otázka si zaslouží dalšího samostatného studia.

Poděkování

Za technickou spolupráci děkujeme s. E. Maláčové, Z. Nykodymové a Z. Mikuláškové.

Literatura

- AHNE, W.: Vergleichende Untersuchungen über die Stabilität von vier fischpathogenen Viren (VHSV, PFR, SVCV, IPNV). Zbl. Veter.-Med., R. B, 29, 1982, s. 457-476.
- AHNE, W. — WOLF, K.: Viruskrankheiten der Fische. In: H. H. Reichenbach-Klinke: Krankheiten und Schädigungen der Fische. Stuttgart — New York, G. Fischer Verlag 1980, s. 56-106.
- BULLOCK, G. L. — RUCKER, R. R. — AMEND, D. — WOLF, K. — STUCKEY, H. M.: Infectious pancreatic necrosis: transmission with iodinetreated and non-treated eggs of brook trout (*Salvelinus fontinalis*). J. Fish Res. Bd Canada, 33, 1976, s. 1197-1198.
- DESAUTELS, D. — MACKELVIE, R. M.: Practical aspects of survival and destruction of infectious pancreatic necrosis virus. J. Fish Res. Bd Canada, 32, 1975, s. 523-531.
- DOBOS, P. — HALLETT, R. — KELLS, D. T. C. — SORESENSEN, O. — ROWE, D.: Biophysical studies of infectious pancreatic necrosis virus. J. Virol., 22, 1977, s. 150.
- DOBOS, P. — HILL, B. J. — HALLETT, R. — KELLS, D. T. C. — BECHT, H.: Biophysical and biochemical characterization of five animal viruses with bisegmented double-stranded RNA genomes. J. Virol., 32, 1979, s. 593-605.
- HORNICH, M. — POSPÍŠIL, Z. — TOMÁNEK, J.: Diagnostika infekční nekrozy pankreatu (IPN) pstruhů pomocí imunofluorescence. Veter. Med. (Praha), 31, 1986, č. 1, s. 55-64.
- JØRGENSEN, P. E. V. — BRENGBALLE, F.: Infectious pancreatic necrosis in rainbow trout (*Salmo gairdneri*) in Denmark. Nord. Veter.-Med., 21, 1969, s. 142-148.
- KELLY, R. K. — LOH, P. C.: Electron microscopical and biochemical characterization of infectious pancreatic necrosis virus. J. Virol., 10, 1972, s. 824.
- POSPÍŠIL, Z. — MACHATKOVÁ, M.: Rybí buněčné linie, jejich kultivace a využití. Veter. Med. (Praha), 30, 1985, č. 10, s. 637-638.
- POSPÍŠIL, Z. — ROZKOŠNÝ, V. — MENŠÍK, J.: Diagnosis of infectious bovine rhinotracheitis by immunofluorescence. Acta veter. (Brno), 41, 1972, s. 281-286.
- POSPÍŠIL, Z. — MACHATKOVÁ, M. — ROZKOŠNÝ, V. — MENŠÍK, J.: Demonstration of parainfluenza-3 virus and infectious bovine rhinotracheitis virus in bovine foetal organ cultures by immunofluorescence and horseradish peroxidase techniques. Acta veter. (Brno), 44, 1975, s. 189-195.
- POSPÍŠIL, Z. — TOMÁNEK, J. — VALÍČEK, L. — ZENDULKOVÁ, D. — SVOBODA, I. — CHLUPOVÁ, L.: Virologická diagnostika infekčních chorob ryb. [Výzkumná zpráva.] Brno, Výzkumný ústav veterinárního lékařství 1984. 35 s.
- REICHENBACH-KLINKE, H. H.: Krankheiten und Schädigungen der Fische. Stuttgart — New York, G. Fischer Verlag 1980. 472 s.
- UNDERWOOD, B. O. — SMALE, C. J. — BROWN, F. — HILL, B. J.: Relationship of a virus from *Tellina tennisi* to infectious pancreatic necrosis virus. J. gen. Virol., 36, 1977, s. 93-109.
- VALÍČEK, L. — ŠMÍD, B.: Možnost elektronové mikroskopické diagnostiky virových infekcí. Veterinářství, 33, 1983, č. 2, s. 80-81.

WEDMEYER, G. A. — NELSON, N. C. — SMITH, G. A.: Survival of the salmonic viruses infectious haematopoietic necrosis (IHN) and infectious pancreatic necrosis (IPN) in ozonated, chlorinated and untreated waters. J. Fish Res. Bd Canada, 35, 1978, s. 875-879.

WIZIGMANN, G. — AHNE, W. — SCHLOTFELD, H. J.: Laboratoriumsdiagnose von Virusinfektionen bei Süßwasserfischen unter besonderer Berücksichtigung der viralen hämorrhagischen Septikämie (VHS), der infektiösen Pankreasnekrose (IPN) und der Frühlingsvirämie (SVC). Tierärztl. Umsch., 38, 1983, s. 44-49, 129-131, 197-200.

WOLF, K. — MANN, J.: Poikilotherm vertebrate cell lines and viruses: a current listing for fishes. In vitro, 16, 1980, s. 168-179.

WOLF, K. — QUIMBY, M. C.: Salmonid viruses: infectious pancreatic necrosis virus. Arch. ges. Virusforsch., 34, 1971, s. 144-156.

WOLF, K. — SNIESZKO, S. F. — DUNBAR, C. E. — PYLE, E.: Virus nature of infectious pancreatic necrosis in trout. Proc. Soc. exp. Biol. Med., 104, 1960, s. 105.

Došlo dne 31. 5. 1985

ПОСПИШИЛ, З. — ТОМАНЕК, Й. — ВАЛИЧЕК, Л. — ЗЕНДУЛКОВА, Д. (Научно-исследовательский институт ветеринарии, Брно): **Изоляция и идентификация вируса инфекционного некроза поджелудочной железы у форели.** Veter. Med. (Praha), 31, 1986 (2) : 95 — 104.

В работе описана первая изоляция этого вируса в ЧССР. Для этого послужили клеточные линии RTG-2, PG и CHSE и вирус идентифицировали с помощью электрон-микроскопии, перекрестно-вирусонейтрализующего теста и по методу иммунофлюоресценции. Мы доказали, что все изоляты на нашей территории идентичны в серологическом отношении и узкородственны, вероятно и аналогичны референтному штамму SP, который в Европе наиболее распространен. Описанный методический прием изолирования может служить и для диагностирования других вирусных заболеваний рыбы.

рыбы; электронная микроскопия; перекрестно-вирусонейтрализующий тест; метод иммунофлюоресцентный

POSPÍŠIL, Z. — TOMÁNEK, J. — VALÍČEK, L. — ZENDULKOVÁ, D. (Veterinary Research Institute, Brno): **Isolation and Identification of the Infectious Pancreatic Necrosis Virus in Trout.** Veter. Med. (Praha), 31, 1986 (2) : 95-104.

The first isolation and identification of the infectious pancreatic necrosis virus in trout in Czechoslovakia is described. The RTG-2, PG and CHSE cell lines were used for isolation and the identification was made by the methods of electron microscopy, cross virus-neutralizing test, and immunofluorescence. As demonstrated, all the isolates in the Czechoslovak territory are serologically identical and are closely related (or perhaps congruent) with the Sp reference strain which has the highest frequency in Europe. The described methodical procedure is also applicable to the diagnostics of other virus diseases of fish.

fish; electron microscopy; cross virus-neutralizing test; immunofluorescence method

POSPÍŠIL, Z. — TOMÁNEK, J. — VALÍČEK, L. — ZENDULKOVÁ, D. (Forschungsinstitut für Veterinärmedizin, Brno): **Isolierung und Identifikation des Virus der infektiösen Pankreasnekrose der Forellen.** Veter. Med. (Praha), 31, 1986 (2) : 95-104.

In der Arbeit wird die erste Isolierung und Identifikation des Virus der infektiösen Pankreasnekrose bei Forellen in der CSSR beschrieben. Zur Isolierung wurden Zelllinien RGT-2, PG und CHSE angewandt und die Identifikation wurde mit Hilfe der Elektronenmikroskopie, des Kreuz-Virusneutralisationstestes und der Immunofluoreszenzmethode vorgenommen. Wir konnten nachweisen, daß sämtliche Isolate auf unserem Staatsgebiet serologisch identisch sind und daß sie mit dem Referenz-

stamm Sp, der in Europa am häufigsten vertreten ist, eng verwandt, wenn nicht gar identisch sind. Das beschriebene Isolierungsverfahren ist auch in der Diagnostik weiterer Viruserkrankungen der Fische anwendbar.

Fische; Elektronenmikroskopie; Kreuz-Virusneutralisationstest; Immunofluoreszenzmethode

Adresa autorů:

MVDr. Zdeněk Pospíšil, CSc., MVDr. Josef Tománek, CSc., MVDr. Lubomír Valíček, CSc., MVDr. Dagmar Zendulková, Výzkumný ústav veterinárního lékařství, Hudecova 70, 621 32 Brno

**VYVOJOVÁ STADIA ROZTOČE *VARROA JACOBSONI* OUDEMANS,
1904 [ACARI: DERMANYSSIDAE]**

O. Haragsim, K. Samšiňák

HARAGSIM, O. — SAMŠIŇÁK, K. (Ústav vědeckotechnických informací pro zemědělství, Praha; Parazitologický ústav ČSAV, Praha): *Vývojová stadia roztoče Varroa jacobsoni Oudemans, 1904 (Acari: Dermanyssidae)*. Veter. Med. (Praha), 31, 1986 (2) : 105-112.

Roztoč *Varroa jacobsoni* Oudemans, 1904, je nebezpečný parazit včel, jenž se v posledních dvou desetiletích rozšířil v Evropě i v jiných světadílech, kde ohrožuje chovy včel. Rychlé šíření parazita se stalo veterinárním i včelařským problémem v mnoha státech světa. Vývoj roztoče *Varroa jacobsoni* je stále málo prostudován. V předložené práci je uveden podrobný taxonomický popis vývojových stadií samice a samce roztoče. Samice se vyvíjí z vajíčka v larvu, nymfu I a nymfu II. Ve vývoji samců se nepodařilo objevit deutonymfu II, a proto předpokládáme, že podobně jako u některých jiných parazitických druhů roztočů toto stadium ve vývoji samců *Varroa jacobsoni* zcela chybí. Na základě morfologie ústních ústrojí jsme došli k závěru, že dospělý sameček nemůže parazitovat kukly nebo dospělé včely a že během svého krátkého života nepřijímá potravu.

parazitický roztoč *Varroa jacobsoni*; samec; samice; vývojová stadia; ústní ústrojí

Roztoč *Varroa jacobsoni* Oudemans, 1904, je nebezpečným parazitem medonosných včel. Původně žil na včele indické (*Apis cerana* Fabr.). V šedesátých letech přešel na včelu medonosnou a v té době byly pozorovány první hromadné invaze včelstev (Oschmann, 1961; Makarov, 1955; Kulikov, 1965; Salčenko, 1966). Potom se parazit lavinovitě rozšířil po Asii, Evropě, severní Africe a Jižní Americe. Dosud nebyl zavlečen do Austrálie, Severní Ameriky a do Afriky na jih od Sahary.

Mimo asijský kontinent byl roztoč *Varroa jacobsoni* poprvé objeven v Evropě, a to v roce 1969 v Bulharsku (Haragsim a Samšiňák, 1972; Haragsim, 1973). Haragsim upozornil na velké nebezpečí šíření tohoto parazita již na kongresu Apimondie v Moskvě v roce 1971, ale nebyla tomu věnována patřičná pozornost. Během 15 let se roztoč v Evropě katastrofálně rozšířil a dnes je ve všech evropských státech kromě Anglie, Portugalska a Španělska.

V posledním desetiletí se literatura o varroáze rozrostla. Většina prací je však věnována praktické diagnostice parazitózy a veterinárním opatřením v boji s ní. Jen ojedinělé práce byly věnovány taxonomii (Haragsim a Samšiňák, 1972; Delfinadová a Baker, 1974; Samšiňák a Haragsim, 1975), bionomii (Salčenko, 1966; Hara, 1979; Lange aj., 1977; Muravskaja, 1981) a ana-

tomii (Ionescu — Varo a Suciu, 1978; Akimov a Starovir, 1983). Nelze pochybovat o tom, že poznání biologie roztoče *Varroa jacobsoni* má základní význam pro úspěšný boj s ním.

Dosud jen ojedinělé práce byly věnovány studiu vývojových stadií roztoče *Varroa jacobsoni*. Většina z nich vychází z popisů, jež uveřejnili Davydovová a Salčenko (1973). Tato práce je však poplatná své době a kresby v ní jsou příliš schematické. Dokonalejší vyobrazení samce a jeho vývojových stadií zveřejnili Hirshmann (1980) a vývojových stadií samiček Delfinado — Bakerová (1984).

MATERIÁL A METODA

Roztoči byli sbíráni v parazitovaných včelstvech na východním Slovensku v okolí Levoče a Spišské Nové Vsi. Oudemansova konzervační tekutina (87 dílů 70% alkoholu, 5 dílů glycerolu, 8 dílů ledové kyseliny octové), používaná v běžné konzervaci, se nám v polních sběrech neosvědčila. Stejně tak málo uspokojivý pro konzervaci roztočů v polních podmínkách byl 70% alkohol. Vývojová stadia roztoče *Varroa jacobsoni* jsou velmi jemná, vyplněná bělavou tekutinou a jejich těla i tělní pokryv se při převážení v polních podmínkách snadno poškozuji. Jako konzervační tekutinu jsme pokusně použili formalin, a ten se osvědčil. Všechna stadia konzervovaná ve formalinu se dala dobře zpracovávat, exuvie zůstaly neporušené. Po vložení do Swannovy směsi roztoči zvládnuli. Po překrytí krycím sklíčkem a po zahřátí preparátu na stínítku stolní lampy (100–120 °C) se roztočům rozprostřely končetiny, aniž by se poškodila kutikula.

VÝSLEDKY

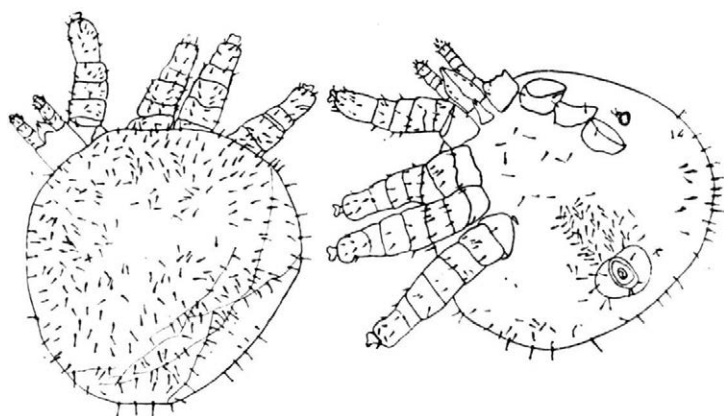
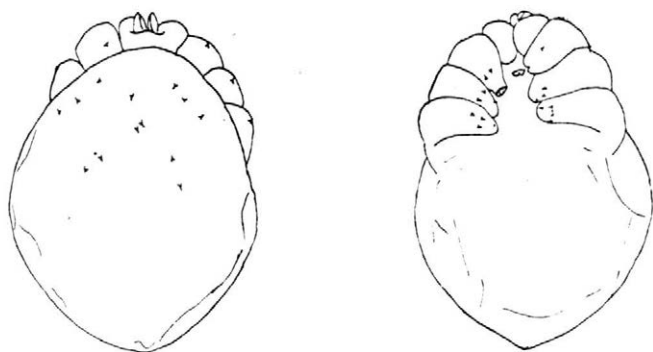
POPIS VÝVOJOVÝCH STADIÍ

Larva má tělo oválné, mléčně bílé a lesklé — délka 680 μm , šíře 540 μm . V přední polovině na hřbetní straně je šest párů krátkých trnovitých brv, při základně cibulkovitě rozšířených. Gnathosoma nese pár nečlámkovaných mohutných palpů, jejichž báze je spojena dopředu mírně vypouklým epistomem. Tři páry noh jsou přimknuty k tělu a nejsou článkované. Chybí na nich praetarsi. V apikální části jsou nepatrné trnovité brvy. Spodní strana těla je hladká, bez náznaku řitě či jiné struktury, jen za gnathosomatem je tritosternum v podobě příčného nízkého valu, který je uprostřed mírně prosedlán.

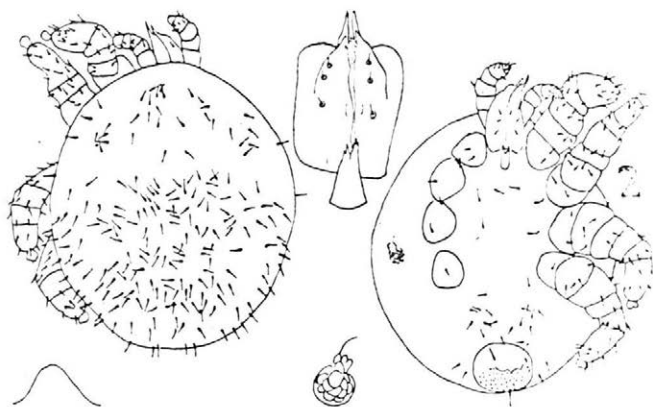
Během vývoje larvy praskne vaječný obal, larva jej však neopouští. Obal zůstává navlečen na přední části jejího těla a sahá jí zhruba až ke kořeni třetího páru noh. Larva nepřijímá potravu a uvnitř jejího těla se vyvíjí nymfa I. V našem materiálu máme parátní nymfy I plně vyvinuté v kůžičkách larev. Nohy a gnathosoma jsou složeny v příslušných orgánech larvy, nohy IV leží pod pokožkou za kořeny noh III (obr. 1).

Nymfa samice I (obr. 2) je dlouhá kolem 750 μm , široká kolem 830 μm . Tělo má široce oválné, mírně příčné. Hřbetní strana je hustě porostá tuhými trnovitými brvami, dlouhými asi 2,5 μm . Střední část hřbetu zůstává lysá. Na spodní straně těla je jen anální štítek, který je však nezřetelně ohraničen. Vyrůstají na něm tři brvy. V zadní polovině je dobře patrné cribum. Uprostřed podosomatu je pět párů brv. Středem hysterosomatu se táhne podélný pruh hustě pokrytý tuhými krátkými brvami až k análnímu štítku. Na spodní straně těla se některé

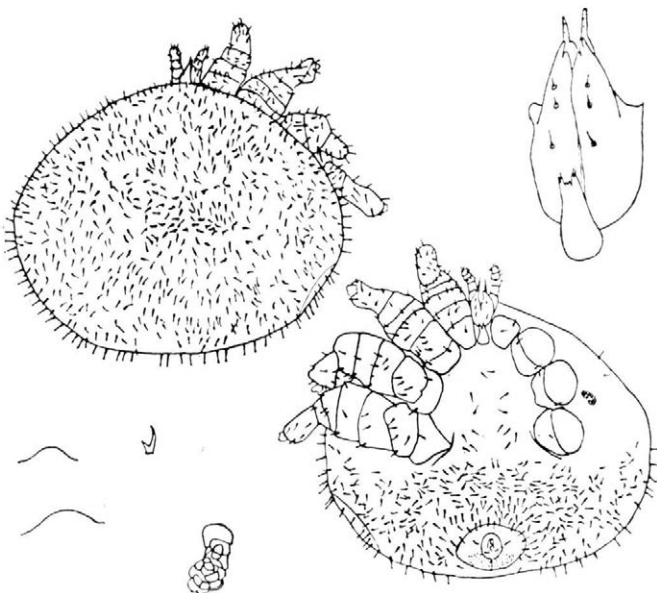
1. Roztoč *Varroa jacobsoni*, larva — a) svrchu, b) zespodu — The *Varroa jacobsoni* mite, larva — a) from above, b) from below



2. Roztoč *Varroa jacobsoni*, nymfa samice I — The *Varroa jacobsoni* mite, female nymph I



3. Roztoč *Varroa jacobsoni*, nymfa samce — The *Varroa jacobsoni* mite, male nymph



4. *Varroa jacobsoni*,
nymfa samice II — The
Varroa jacobsoni mite,
female nymph II

brvy občas zmnoží, takže napočítáme ve sternální části o brvu víc. Rovněž anální brvy bývají občas zmnoženy. Okraj těla je lemován brvami. Stigma je velké, okrouhlé, peritrema krátké, jen o málo delší než stigma. Tritosternum má dobře vyvinutý bazální článek, který je na konci rozštěpený. Lacinie jsou velmi krátké, hrotité a hladké. Gnathosoma je dobře vyvinuté. Hypognatální rýha (groove) je velmi úzká, protože obě části základny gnathosomatu se k sobě těsně přimykají. Hypognatální zoubky jsou v šesti řadách. Tři páry hypognatálních brv stojí ve dvou podélných řadách a v apikální polovině gnathosomatu. Corniculi jsou v podobě širokého trnu a jsou mnohem delší než mala. Trochanter makadel má jednu ventrální brvu, krátce trnovitou. Epistom je krátký, trojúhelníkovitý. Chelicery jsou typické pro parazity hmyzu a mají zakrnělý digitus fixus, naopak digitus mobilis je dobře vyvinutý, úzký, mírně srpovitě zahnutý, se zářezem na vnitřní straně uprostřed. Palpi jsou spoře obrvené; femur má jedinou brvu na vrcholu ventrální strany, genu a tibia mají po páru dorzálních brv. Nohy jsou velmi silné, na jednotlivých člancích je mnoho krátkých brv.

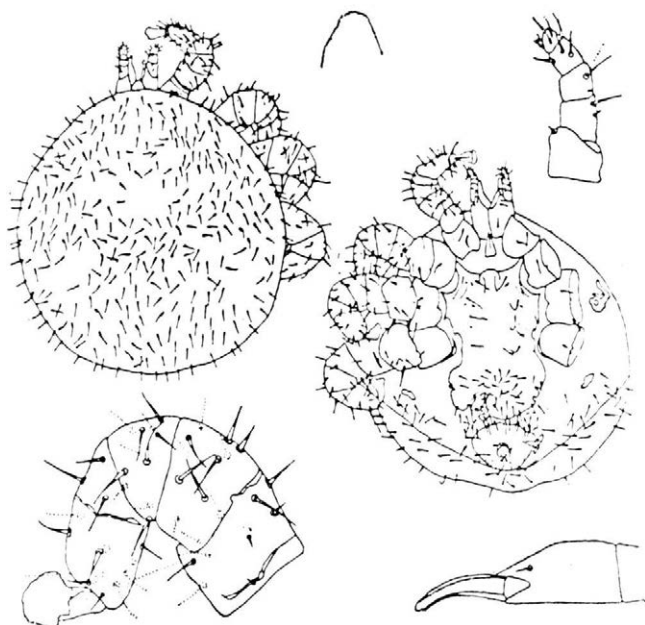
N y m f a s a m i c e (obr. 3) je 715 μm dlouhá a 660 μm široká. Má tělo okrouhlého tvaru, bělavé, morfologicky téměř shodné s nymfou I samice. Rozdílný je tvar těla, jež je u samce vždy okrouhlejší. Na trochanteru palp chybí ventrální brva, která je podle Evans a Tilla (1979) typickým znakem nymfy I. Celkové obrvení je mnohem řidší, což je zvláště nápadné na hřbetní části propodosomatu a na ventrální straně hysterosomatu, kde je v prostoru před anale maximálně deset párů brv. Ve střední části propodosomatu, v oblasti sternálního štítu, jsou jen tři páry brv.

N y m f a I I s a m i c e (obr. 4) má tělo 1100 μm dlouhé, 1300 μm široké, nápadně příčně vejčité, světle rezavé. Hřbetní strana je kryta jediným štítem, hustě porostlým drobnými brvami. Okrajové brvy jsou delší a silnější. Bazální článek tritosterna na břišní straně je hruškovitý, 16 μm dlouhý, na konci rozštěpený, lacinia jsou velmi krátká, trno-

vitá a hladká. Celá břišní plocha je pokryta velmi jemným rýhováním. V prostoru sternu jsou nápadné tři páry izolovaných sternálních brv a mezi kyčlemi IV další čtyři páry brv. Opisthosoma je hustě pokryto krátkými a tuhými brvami, které rovnoměrně pokrývají i postranní části těla. Anální štítek je velký, dost nejasně ohraničený, s třemi brvami, cribrem v zadní polovině. Stigma je oválné, složené z drobných komůrek, peritrema je velmi krátké, sotva tak dlouhé jako šířka stigmatu. Nohy nymfy II jsou silné s mnoha krátkými brvami. Na nohách prvního páru je na konci tarzu složitý taktilní orgán; koxy I až III mají dvě brvy, koxa IV brvu jedinou. Gnathosoma je v podstatě stejné jako u nymfy I. Corniculi mají na vnitřní straně zářez, pevný prst chelicer je zakrnělý, pohyblivý prst má dva charakteristické zoubky. Trochanter makadel má jedinou apikální brvu. Specializovaná seta je dvouvětvá.

Samec (obr. 5) je průměrně 530 μm dlouhý, 490 μm široký. Hřbetní štít kryje celý povrch jeho těla a na opisthosomate přesahuje úzkým pruhem i na ventrální stranu. Je hustě pokrytý krátkými jehlovitými brvami. Uprostřed těla a na okraji opisthosomatu zůstává lysá ploška. Rýhování je výraznější v přední třetině štítu, zvláště pak na přední lysině, na níž příčné rýhy jakoby vycházely ze dvou bodů po stranách lysin. Okrajové brvy štítu jsou výrazně silnější a o něco delší než brvy na štítě.

Tritosternum má bazální článek 21 μm dlouhý; na něj nasedá pár kuželovitě se zužujících hladkých, 60 μm dlouhých lacinií. Střed těla kryje v podélné linii sternogenitoventrální štítek, jehož zadní okraj proti análnímu štítku je poněkud potrhaný a přední rohy má nápadně povytažené vpřed, takže se vkládají mezi kyčle I a II. Uprostřed předního okraje je genitální otvor. V prostoru sternale jsou obvykle tři páry brv. Při prvním páru jsou na každé straně dva póry a jeden pór je za druhým párem brv. Za třetím párem brv jsou na každé straně dva až tři póry. Počet brv mezi kyčlemi noh IV nebývá stejný ani souměrný.



5. *Varroa jacobsoni*, samec — *Varroa jacobsoni* male

Někdy je po jedné straně jediná brva, na druhé straně jsou brvy čtyři. Část desky patřící ventrale je hustě porostlá krátkými tuhými brvami. Při zadním okraji štítu jsou podobné brvy izolovány na drobných ostrůvcích ležících v měkké rýhované pokožce. Mimo štít je v okraji opisthosomatu jen několik brv stojících zhruba ve dvou řadách táhnoucích se od podlouhlých inguinalií k zadnímu konci těla. Anale je velká, příčná (170 X 220 μ m), s obvyklými třemi brvami, z nichž některé, zvláště často nepárová postanální brva, bývají zdvojeny. V zadní třetině štítu je dobře patrné cribrum. Stigma je velké, peritrema je asi třikrát delší než průměr stigmatu, je uprostřed úhlovitě zalomené, leží vedle kyčlí III.

Nohy samce jsou velmi silné, s četnými brvami. Pod pretarzem I je velmi složitý taktilní orgán. Gnathosoma je široké, palpi jsou až na konečný článek velmi řídce obrvené. Chelicerám chybí oba prsty. Vyvinutý je jen spermatodactylus. Je mírně prohnutý a pod ním je krátká brva.

Popis samice neuvádíme, protože byla velmi výstižně popsána holandským akarologem Oudemansem v roce 1904.

DISKUSE

V předložené práci detailně popisujeme taxonomii vývojových stadií parazitického roztoče *Varroa jacobsoni*, Oudemans 1904. Zatímco se budoucí samička vyvíjí z vajíčka v larvu, nymfu I, nymfu II a dospělou samičku, je vývoj samečka zjednodušen a časově i zkrácen. Ve velmi bohatém materiálu se nám nepodařilo ani jednou objevit deutonymfu samce, třebaže Davydovová a Salčenko (1973) deutonymfu samce popisují. Jsme přesvědčeni, že ve vývoji samce deutonymfa chybí, podobně jako je tomu i u některých jiných dravých a parazitických druhů roztočů.

V našem materiálu bylo mnoho parátních samic (což svědčí o tom, že přeměna deutonymfy v samici se poměrně prodlužuje), ale ani jeden parátní samec. To, že u nymfy samce chybí na trochanteru palp typická brva, jak zjistili i Delfinadová a Baker (1984), jakož i to, že u nymfy samce se projevuje snižování počtu brv ve srovnání s deutonymfou samice, považujeme za důkaz správnosti naší teorie. U samic je jediná ventrální brva palpotrochanteru přítomna, zatímco u samce chybí. Rozměry samce proti samičce a některé další znaky potvrzují to, co Evans (1963) nazývá „localized neoteny“. Podobně i Treat (1965) zjistil, že v rodu roztočů *Dicrocheles* chybí ve vývoji samečků stadium deutonymfy.

V naší práci se nezabýváme zvláštnostmi dynamiky vývoje roztoče *Varroa jacobsoni*, pouze taxonomií vývojových stadií. Dynamika vývoje bude popsána v další práci.

Literatura

- AKIMOV, I. A. — STAROVIR, I. S.: Strojenije piščevaritelnoj sistemy klešča *Varroa jacobsoni* — parazita medonosnoj pčely. Vest. zool. AN USSR, 17, 1983, s. 51-57.
- DAVYDOVA, M. S. — SALČENKO, V. L.: Gamazovyje klešči *Varroa jacobsoni* Oudemans (*Parasitiformes, Gamasoides*) na Dalnem Vostoke. Novyje i maloizvestnyje vidy fauny Sibiri. Nauka (Novosibirsk), 7, 1973, s. 18-26.

- DELFINADO-BAKER, M.: The nymphal stages and male of *Varroa jacobsoni* Oudemans, a parasite of honey bees. Int. J. Acarol., 10, 1984, s. 75-80.
- DELFINADO, M. D. — BAKER, E. W.: *Varroidae*, a new family of mites on honey bees (*Mesostigmata*, *Acarina*). J. Wash. Acad. Sci., 64, 1974, s. 4-10.
- EVANS, G. O. — TILL, W. M.: Mesostigmatic mites of Britain and Ireland (*Che-licerata*: *Acari*: *Parasitiformes*). Trans. Zool. Soc., Lond., 35, 1979, s. 139-270.
- HARA, A.: Studies on the mite history of honeybee mite *Varroa jacobsoni* Oudemans in laboratory rearing. Bulletin (Fac. agric. Tamagawa Univ.), 19, 1979, s. 95-103.
- HARAGSIM, O.: Die Milbe *Varroa jacobsoni* bedroht die Bienenzucht in Europa. Imkerfreund, 28, 1973, s. 316-317.
- HARAGSIM, O. — SAMŠIŇÁK, K.: L'acarien *Varroa jacobsoni* Oudemans decouvert en Europe. Bull. apicole (Niza), 15, 1972, s. 1-14.
- HARAGSIM, O. — SAMŠIŇÁK, K. — VOBRÁZKOVÁ, E.: The mites inhabiting the bee-hives in CSR. Z. angew. Ent., 87, 1978, s. 32-67.
- HIRSCHMANN, W.: Erstbeschreibung der Protonymphe, Deutonymphe und des Männchens sowie Wiederbeschreibung des Weibchens von *Varroa jacobsoni* Oudemans, 1904. Acarologia, 27, 1980, s. 60-65.
- IONESCU-VARO, M. — SUCIU, S.: Preliminary results of the anatomical and histological examination of the *Varroa jacobsoni*. Int. Symp. Varroa Dis., Apimondia, Bucharest 1978, s. 41-55.
- KULIKOV, N. S.: Varrooz pčel. Pčelovodstvo, 85, 1965, s. 15-16.
- LANGE, A. B. — NACKIJ, K. V. — TACIJ, V. M.: O nekotorych osobennostjach biologii klešča *Varroa jacobsoni* — parazita pčel. Varroatoz pčel. Nauka (Moskva), 1977, s. 13-16.
- MAKAROV, J. L.: Novaja kleščevaja bolezn'. Pčelovodstvo, 5, 1955, s. 35.
- MURAVSKAJA, A. I.: Razmnoženije *Varroa jacobsoni* v pčelinnom i trutnevom razplode. Varroatoz pčel. Nauka (Moskva), 1981, s. 4-7.
- OSCHMANN, H.: China — Land der Morgenröte. Leipz. Bienenztg, 1961, s. 131-138.
- OUDEMANS, A. C.: On a new genus and species of parasitic acari. Notes Leyden Mus., 24, 1904, s. 216-222.
- SALČENKO, V. L.: Sur la biologie et mode de vie de l'acarien *Varroa jacobsoni*. Bull. apicole (Niza), 9, 1966, s. 173-175.
- SAMŠIŇÁK, K. — HARAGSIM, O.: The taxonomic placement of the genus *Varroa* Oudemans, 1904. Folia parasit. (Praha), 22, 1975, 189-191.
- TREAT, A. E.: Sex-distinctive chromatin and frequency of males in the moth ear mite. J. N. Y. ant. Soc., 73, 1965, s. 12-18.

Došlo dne 11. 3. 1985

ГАРАГСИМ, О. — САМШИНЯК, К. (Институт научно-технической информации по сельскому хозяйству, Прага; Паразитологический институт при АН ЧССР): Стадии развития клеща *Varroa jacobsoni* Oudemans, 1904 (*Acari*: *Dermanyssidae*). Veter. Med. (Praha), 31, 1986 (2) : 105-112.

Клещ *Varroa jacobsoni* Oudemans, 1904 — опасный паразит пчел, который за последние две десятилетия распространился как в Европе, так и на других континентах, угрожая пчеловодству. Его быстрое распространение становится проблемой для ветеринаров и пчеловодов во многих странах мира. Развитие этого клеща все еще недостаточно изучено. В представленной работе приводится подробное таксономическое описание стадий развития самок и самцов паразита. Самки развиваются из яйца в личинку, в нимфу I и нимфу II. В развитии самцов не удалось обнаружить деутонимфу II, поэтому предполагается, что — подобно иным паразитическим видам клещей — эта стадия в развитии самцов полностью отсутствует. На основе морфологии стоматических органов можно заключить, что спелый самец не может паразитировать на куколке или взрослой пчеле, ввиду чего в течение своего короткого существования он не принимает пищи.

варроатоз; самец; самка; стадия развития; ротовые органы

HARAGSIM, O. — SAMŠIŇÁK, K. (Institute of Scientific and Technical Information for Agriculture, Praha; Parasitological Institute of the Czechoslovak Academy of Sciences, Praha): *Developmental Stages of the Mite Varroa jacobsoni Oudemans, 1904 (Acari: Dermanyssidae)*. Veter. Med. (Praha), 31, 1986 (2) : 105-112.

The mite *Varroa jacobsoni* Oudemans, 1904, is a dangerous parasite of bees which has spread over Europe and other continents in recent two decades. The rapid spreading of the parasite has become a serious problem to veterinarians and bee-keepers in many countries of the world. The development of the mite *Varroa jacobsoni* has not yet been studied in all details. A detailed taxonomic description of the developmental stages of female and male mite is presented. The female develops from egg into larva, nymph I and nymph II. No deutonymph II has been found in the development of the males, so it is assumed that, like in some other parasitic mite species, this stage is missing in the development of *Varroa jacobsoni* males. It has been concluded from the morphology of the mouth parts that the adult male cannot parasitize the pupae nor adult bees and that it does not take in food during its short life.

Varroa jacobsoni; male; female; developmental stages; mouth parts

HARAGSIM, O. — SAMŠIŇÁK, K. (Institut für wissenschaftlich-technische Information der Landwirtschaft, Praha; Parasitologisches Institut der Tschechoslowakischen Akademie der Wissenschaften, Praha): *Entwicklungsstadien der Milbe Varroa jacobsoni Oudemans, 1904 (Acari: Dermanyssidae)*. Veter. Med. (Praha), 31, 1986 (2) : 105-112.

Die Milbe *Varroa jacobsoni* Oudemans, 1904, ist ein gefährlicher Parasit, der sich in den letzten zwei Jahrzehnten in Europa sowie in weiteren Erdteilen weit verbreitet hat und die Bienenzucht stark gefährdet. Die rasche Ausbreitung des Parasiten wurde zu einem veterinärmedizinischen und imkerischen Problem in vielen Ländern der Welt. Die Entwicklung der Milbe *Varroa jacobsoni* ist immer noch wenig studiert. In der vorliegenden Arbeit werden die Entwicklungsstadien sowohl der Weibchen als auch der Männchen dieser Milbe taxonomisch ausführlich beschrieben. Das Weibchen entwickelt sich aus dem Ei in eine Larve, in die Nymphe I und Nymphe II. In der Entwicklung der Männchen gelang es nicht, die Deutonymphe zu entdecken. Es wird daher angenommen, daß, analog wie bei einigen anderen parasitären Milbenarten, dieses Stadium in der Entwicklung der Männchen der *Varroa jacobsoni* völlig fehlt. Aufgrund der Morphologie der Mundwerkzeuge kamen wir zu der Schlußfolgerung, daß ein reifes Männchen an Puppen oder reifen Bienen nicht schmarotzen kann und daß es während seines kurzen Lebens keine Nahrung aufnimmt.

Varroa jacobsoni; Männchen; Weibchen; Entwicklungsstadien; Mundwerkzeuge

Adresy autorů:

Ing. Oldřich Haragsim, CSc., Ústav vědeckotechnických informací pro zemědělství, Slezská 7, 120 56 Praha 2

RNDr. Karel Samšičák, CSc., Parazitologický ústav ČSAV, Papírenská 26, 160 00 Praha 6

DYNAMIKA AMONIAKU A pH V MÄSE SKLADOVANOM V RÔZNYCH PODMIENKACH

J. Hrušovský, M. Šmirják, J. Garčár

HRUŠOVSKÝ, J. — ŠMIRJÁK, M. — GARČÁR, J. (Vojenský veterinárny doškoľovací a výskumný ústav, Košice): *Dynamika amoniaku a pH v mäse skladovanom v rôznych podmienkach*. Veter. Med. (Praha), 31, 1986 (2) : 113-122.

V bravčovom a hovädzom mäse, ktoré bolo skladované pri dvoch rôznych teplotách, sme sledovali dynamiku amoniaku a pH v korelácii so senzorickými zmenami. Zo skladovaného mäsa boli odoberané vzorky v intervaloch: pri teplote +3 °C v 0., 12., 36., 60., 84., 108. a 132. hodine a pri teplote +10 °C v 0., 6., 24., 36., 54., 72. a 84. hodine. Vo vzorkách sme stanovili kvantitatívny obsah amoniaku za použitia iónselektívnej elektródy; pH bolo stanovené potenciometrocky. Pri sledovaní dynamiky amoniaku sme zistili rozdielne hodnoty u jednotlivých druhov mäsa (bravčové a hovädzie) a evidovali sme priamu závislosť hodnôt amoniaku od teploty skladovania. Podobná závislosť bola zistená aj u dynamiky hodnôt pH. Senzorické zmeny u skladovaného mäsa prebiehali súbežne s dynamikou zmien hodnôt amoniaku a pH. Uvedené ukazovatele je možné využiť na posúdenie stupňa prebiehajúcich biochemických zmien a vhodnosti suroviny pre výrobu konzerv, u ktorých sa predpokladá dlhodobé skladovanie. Výhodné je rýchle a objektívne stanovenie amoniaku iónselektívnou elektródou a stanovenie pH pomocou kombinovanej sklenenej elektródy za použitia toho istého prístroja.

bravčové a hovädzie mäso; iónselektívna elektróda; senzorické zmeny

Mäso a výrobky z neho patria k nutrične najvýznamnejším a najdrahším surovinám a potravinám a už od nepamäti boli vysoko cenenou surovinou a potravinou.

V mäse jatočných zvierat, ktoré patrí medzi pomerne rýchlo sa kaziace suroviny, prebiehajú od okamžiku ukončenia života zvierata zložité biochemické procesy. Tieto procesy sa podieľajú na jednotlivých etapách zmien až po hlbokú autolýzu, kedy sa mäso kadí a znehodnocuje. Z technologického a hygienického hľadiska je preto potrebné poznať a určiť stupeň biochemických zmien rozkladných procesov v mäse.

Sledovaním stupňa rozkladných procesov a biochemických zmien v mäse a jeho jednotlivých zložiek sa zaoberali mnohí autori. Z hlavných zložiek svala sa po smrti zvierata najskôr a najrýchlejšie odbúravajú energetické zložky, ktorých podstatnú časť tvorí glykogén (Khan a Lentz, 1973). Vzájomným vzťahom medzi odbúraním glykogénu a zmenou pH mäsa sa zaoberali Šícho (1969), McLoughlin (1969) a Scopes (1971). Otázkami kvality mäsa vo vzťahu k pH sa zaoberali aj Ingr (1977, 1981), Ingr a i. (1979). Navrhli merať pH mäsa pomocou kombinovanej sklenenej elektródy za použitia pH-metra.

Štúdiom amoniaku ako jedného z konečných produktov rozkladu bielkovín vo vzťahu ku kvalite mäsa v rôznych podmienkach sa zaoberali viacerí autori a podrobne ju rozpracoval Ingr [1975]. Na kvantitatívne stanovenie amoniaku sa v poslednom období využíva okrem iných metód iónselektívna elektróda, použitím ktorej sa dosahujú veľmi dobré výsledky [Byrne a McCormack, 1978; Garside a i., 1978; Moses a i., 1979; Garčár a i., 1981].

Cieľom našej práce bolo získať poznatky o dynamike biochemických zmien v mäse jatočných zvierat sledovaním vybraných ukazovateľov amoniaku a pH v korelácii so senzorickými zmenami v rôznych podmienkach skladovania.

MATERIÁL A METÓDY

Vlastné experimenty a sledovanie sme vykonali u jatočného mäsa ošipaných a hovädzieho dobytku. Vzorky boli odobraté z vychladeného mäsa 24 hodín *post mortem* a analyzované na zistenie počiatkových hodnôt amoniaku, pH a skutkového posúdenia zmyslových znakov. V ďalšej fáze bolo mäso skladované pri dvoch teplotách (+3 °C a +10 °C). V priebehu skladovania boli obidva druhy mäsa podrobené laboratórnemu rozboru (amoniak, pH, senzorické hodnotenie). U skladovaného mäsa sme odbery vykonávali takto:

— u bravčového a hovädzieho mäsa skladovaného pri teplote +3 °C pravidelne dvakrát denne po dobu šiestich dní (celkom 12 odberov po 10 vzorkách);

— u bravčového a hovädzieho mäsa skladovaného pri teplote +10 °C pravidelne trikrát denne po dobu štyroch dní (celkom 12 odberov po 10 vzorkách).

Vzorky sme odoberali tak, aby bola zabezpečená ich pomernosť a priemernosť v zmysle platných zásad; rozboru sme konali paralelne, pričom sme rešpektovali rovnaké svalové partie. Jednalo sa o gluteálnu svalovinu. pH sme stanovili v 10% mäsovom výluhu kombinovanou sklenenou elektródou OP-08081 a prístrojom OP-264 fy Radelkis (MLR). Amoniak sme stanovili iónselektívnou elektródou OP-NH₃ 7113 a tým istým prístrojom [Garčár a i., 1981]. Súbežne so stanovením kvantitatívnych ukazovateľov amoniaku a pH sme vzorky skladovaného mäsa hodnotili aj senzoricky, a to komisionálne s dôrazom na postihnutie počiatkových zmien kazení mäsa.

Pre štatistické hodnotenie získaných výsledkov kvantitatívneho stanovenia amoniaku a stanovenia pH boli použité tieto charakteristiky: aritmetický priemer $\bar{x}$, variačný koeficient v , dolná hranica intervalu spoľahlivosti L_1 a horná hranica intervalu spoľahlivosti L_2 pre hladinu významnosti 0,05 [Eckschlager, 1980].

VÝSLEDKY A DISKUSIA

V tab. I a na obr. 1 sú uvedené množstvá amoniaku v bravčovom a hovädzom mäse skladovanom pri teplote +3 °C. Z týchto hodnôt je zrejmé, že množstvo amoniaku v bravčovom mäse vykazovalo z počiatkovej priemernej hodnoty až do 132. hodiny určitú dynamickú závislosť. Tento ukazovateľ vykazoval kontinuálny, postupný, priemerný kvantitatívny vzostup z počiatkovej priemernej hodnoty 11,98 mg v 100 g v iniciálnom odbere k finálnej hodnote 24,09 mg v 100 g v 132. hodine.

Kvantitatívna analýza amoniaku v hovädzom mäse skladovanom pri tej istej teplote vykázala z priemernej základnej odberovej hodnoty 13,48 mg v 100 g, ktorá mala nevýraznú, postupne sa zvyšujúcu projekciu až k terminálnej priemernej hodnote 24,71 mg v 100 g v 132. hodine (tab. I, obr. 1).

Dynamogram amoniaku v bravčovom mäse skladovanom pri teplote +10 °C (tab. II, obr. 2) sme evidovali v priebehu sledovaného obdobia

ohraničeného 84 hodinami z aspektu kvantitatívneho numerického rozptatia. Kontinuálny vzostup hodnôt tohto ukazovateľa mal okrajové priemerné hodnoty 12,12 a 34,54 mg amoniaku v 100 g vzorky.

Pri dynamickej analýze toho istého ukazovateľa v hovädzom mäse skladovanom pri tej istej teplote (tab. II, obr. 2) bola východisková priemerná hodnota 14,30 mg v 100 g; v ďalšom priebehu sledovaného obdobia stúpala bez výraznejších bilaterálnych kvantitatívnych výkyvov ku konečnému priemeru 38,70 mg v 100 g v 84. hodine pokusu.

Pokiaľ ide o kvalitu základnej suroviny, je ďalším ukazovateľom pH, ktoré sme sledovali v tých istých surovinách a teplotných reláciách ako u amoniaku v uvádzaných časových súvislostiach.

U bravčového mäsa skladovaného pri teplote $+3^{\circ}\text{C}$ v časovom úseku 132 hodín vykazovala priemerná hodnota pH dynamický vzostup z počiatočnej hodnoty 5,52 k terminálnemu vyjadreniu hodnoty tohto ukazovateľa 5,98 v 132. hodine pokusu (tab. III, obr. 3).

Pri dynamickom rozbere pH u hovädzieho mäsa skladovaného pri tej istej teplote sme vychádzali z počiatočného priemeru 5,77, ktorý bol v dynamickej projekcii k terminálnemu časovému úseku 132 hodín limitovaný priemerom 6,08 (tab. III, obr. 3).

Z aspektu hodnotenia pH bola analýza bravčového mäsa skladovaného pri teplote $+10^{\circ}\text{C}$ prezentovaná okrajovými priemernými hodnotami 5,66 až 6,39 v rámci sledovaného obdobia, pričom bol evidentný postupný vzostup hodnôt k finálnemu časovému termínu v 84. hodine (tab. IV, obr. 4).

Pokiaľ ide o spomínaný ukazovateľ, vykazovalo hovädzie mäso skladované pri teplote $+10^{\circ}\text{C}$ variačné rozpätie od 6,04 do 6,41, pričom bola zaznamenaná vzostupná numerická kontinuita (tab. IV, obr. 4).

Aj keď sú k dispozícii viaceré práce zaoberajúce sa vyjadrením kvality mäsa pomocou hodnôt amoniaku, výsledky pokusov sú kvalitatívne rozdielne, čo vyplýva z rôznych metodických postupov a cieľov sledovaní.

Pokiaľ ide o dynamické sledovanie hodnôt tohto ukazovateľa čerstvosti mäsa v podmienkach a rozsahu podobnom našim sledovaniam, nenašli sme v dostupnej literatúre žiadne zhodné práce. Preto môžeme výsledky našich pozorovaní konfrontovať len s údajmi niektorých autorov a komplexné posúdenie vykonať na základe dynamických záznamov. Podobne ako Havelka (1967) a Ingr (1975) sme v našich pokusoch evidovali rozdielne hodnoty amoniaku u jednotlivých druhov mäsa (bravčové, hovädzie) a priamu závislosť hodnôt amoniaku od teploty. Ak porovnáme nami zaznamenané hodnoty amoniaku u bravčového a hovädzieho mäsa skladovaného pri teplote $+3^{\circ}\text{C}$ a vyšetrovaného prvýkrát na začiatku skladovania a potom v uvedených časových intervaloch až do 132. hodiny s údajmi, ktoré uvádzajú Havelka (1967) a Klíma a i. (1966), spadajú do kategórie čerstvého mäsa s vyhovujúcimi zmyslovými vlastnosťami. Negatívny kvalitatívny posun je evidentný u bravčového a hovädzieho mäsa skladovaného pri teplote $+10^{\circ}\text{C}$, kedy hodnoty amoniaku u hovädzieho mäsa temer o 24 hodín skôr ako u bravčového mäsa dosahujú hranicu, v ktorej Klíma a i. (1966) a Havelka (1967) hodnotia mäso ako podozrivé zo začínajúceho sa kazenía.

I. Dynamika hodnôt amoniaku (mg v 100 g) v bravčovom a hovädzom mäse, ktoré bolo skladované pri teplote +3 °C — The changes in the ammonia content (mg per 100 g) in pork and beef stored at a temperature of +3 °C

Ukazovateľ		Intervaly analýzy v hodinách						
		0	12	36	60	84	108	132
$\bar{x}$	B	11,98	12,13	12,63	15,68	18,51	21,48	24,09
	H	13,48	13,69	14,98	17,32	21,48	21,14	24,71
s	B	0,43	0,47	0,67	1,15	1,00	1,90	2,08
	H	0,43	0,52	0,78	1,28	1,89	1,24	2,97
v	B	3,60	3,88	5,38	7,30	5,41	8,85	8,62
	H	3,16	3,82	5,20	7,41	8,84	5,87	12,02
L_1	B	11,66	11,72	12,09	14,77	17,71	19,97	22,44
	H	13,14	13,28	14,36	16,30	19,96	20,15	22,35
L_2	B	12,34	12,48	13,17	16,59	19,31	22,99	25,74
	H	13,82	14,10	15,59	18,34	22,98	22,13	27,07

B — bravčové mäso

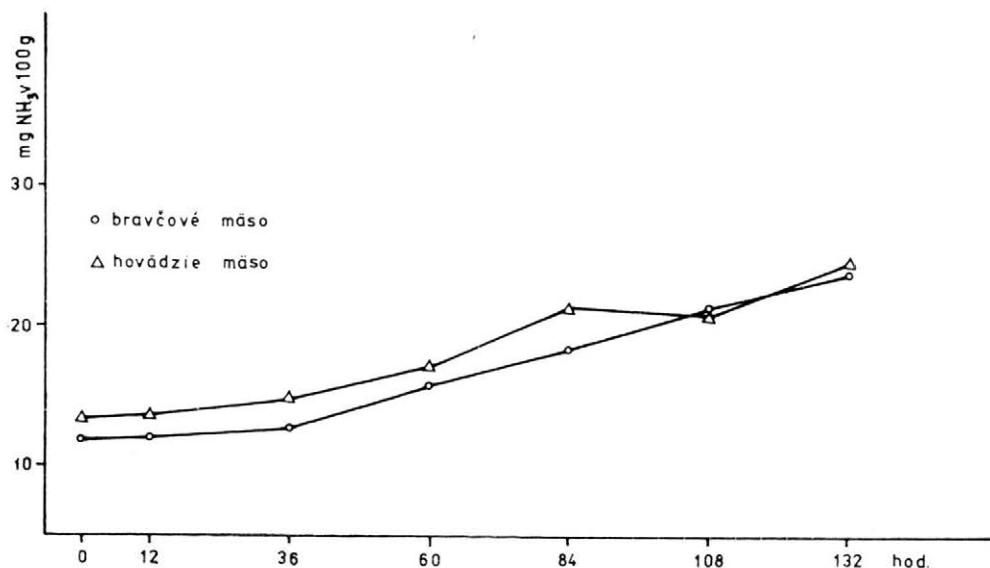
H — hovädzie mäso

II. Dynamika hodnôt amoniaku (mg v 100 g) v bravčovom a hovädzom mäse, ktoré bolo skladované pri teplote +10 °C — The changes in the ammonia content (mg per 100 g) in pork and beef stored at a temperature of +10 °C

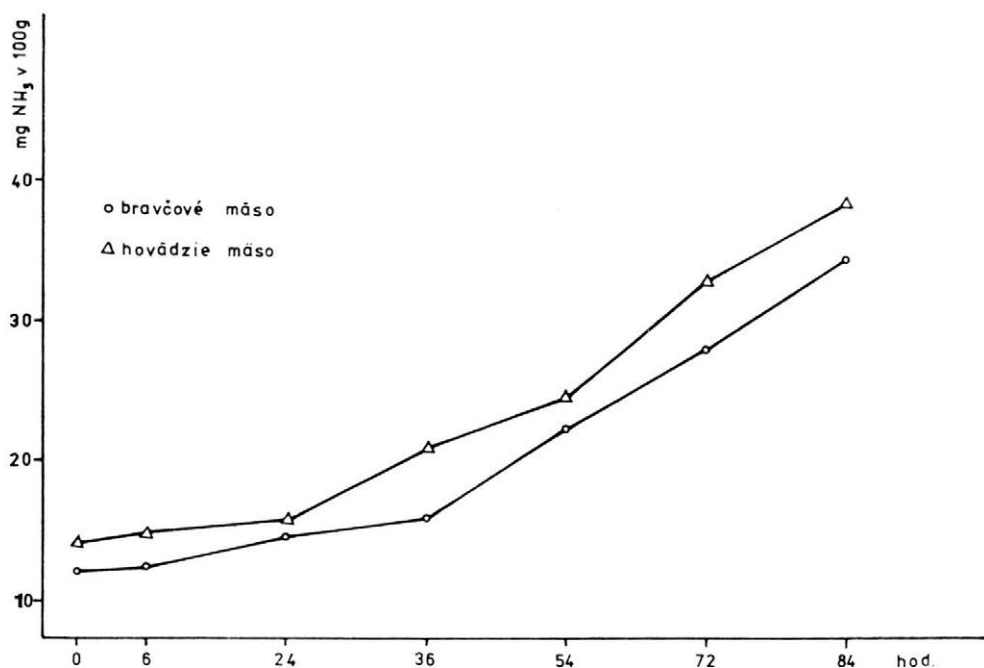
Ukazovateľ		Intervaly analýzy v hodinách						
		0	6	24	36	54	72	84
$\bar{x}$	B	12,12	12,36	14,74	15,90	22,31	28,05	34,54
	H	14,30	14,97	15,72	21,12	24,84	33,09	38,70
s	B	0,41	0,64	0,53	0,57	1,03	1,13	1,80
	H	0,39	0,74	0,87	1,26	1,56	3,14	1,91
v	B	3,36	5,19	3,58	3,56	4,63	4,09	5,21
	H	2,73	4,92	5,54	5,97	6,27	9,49	4,95
L_1	B	11,80	11,85	14,32	15,45	21,49	27,14	33,11
	H	13,91	14,39	15,03	20,12	23,60	30,60	37,18
L_2	B	12,44	12,87	15,16	16,35	23,13	28,96	35,97
	H	14,61	15,55	16,41	22,12	26,08	35,58	40,22

B — bravčové mäso

H — hovädzie mäso



1. Dynamika hodnôt amoniaku (mg v 100 g) v bravčovom a hovädzom mäse, ktoré bolo skladované pri teplote +3 °C — The changes in the ammonia content (mg per 100 g) in pork and beef stored at a temperature of +3 °C



2. Dynamika hodnôt amoniaku (mg v 100 g) v bravčovom a hovädzom mäse, ktoré bolo skladované pri teplote +10 °C — The changes in the ammonia content (mg per 100 g) in pork and beef stored at a temperature of +10 °C

III. Dynamika hodnôt pH v bravčovom a hovädzom mäse, ktoré bolo skladované pri teplote +3 °C — The changes in the pH values of pork and beef stored at a temperature of +3 °C

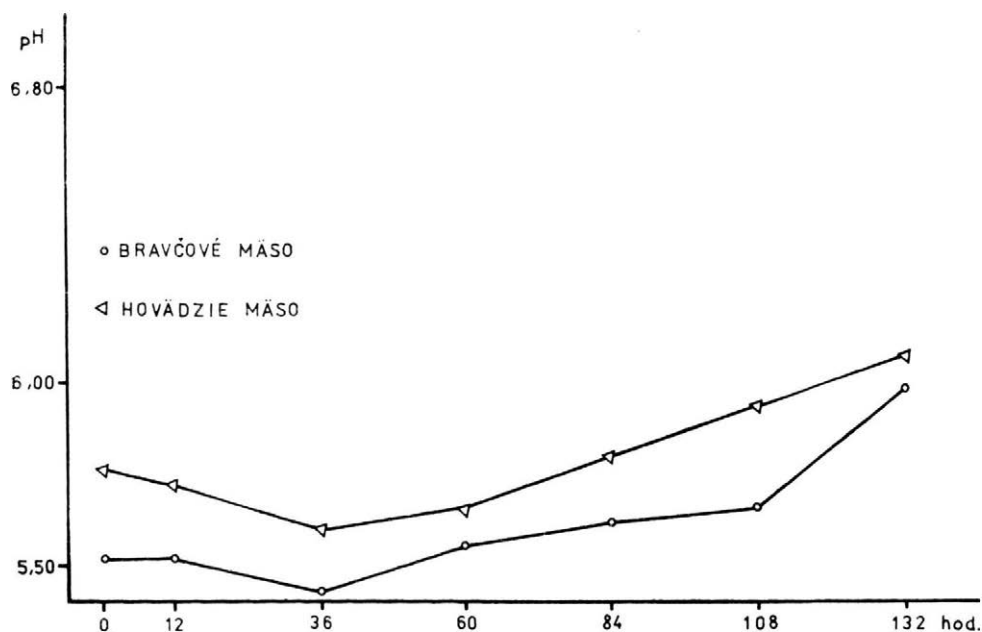
Ukazovateľ		Intervaly stanovenia v hodinách						
		0	12	36	60	84	108	132
$\bar{x}$	B	5,52	5,52	5,43	5,55	5,62	5,65	5,98
	H	5,77	5,72	5,60	5,66	5,80	5,94	6,08
s	B	0,03	0,04	0,03	0,04	0,04	0,05	0,05
	H	0,04	0,06	0,03	0,05	0,04	0,04	0,05
v	B	0,51	0,69	0,59	0,77	0,67	0,92	0,75
	H	0,77	1,04	0,48	0,88	0,72	0,73	0,90
L_1	B	5,50	5,49	5,40	5,52	5,59	5,61	5,94
	H	5,73	5,67	5,58	5,62	5,77	5,91	6,04
L_2	B	5,54	5,55	5,46	5,58	5,65	5,69	6,02
	H	5,81	5,77	5,62	5,70	5,83	5,97	6,12

B — bravčové mäso
H — hovädzie mäso

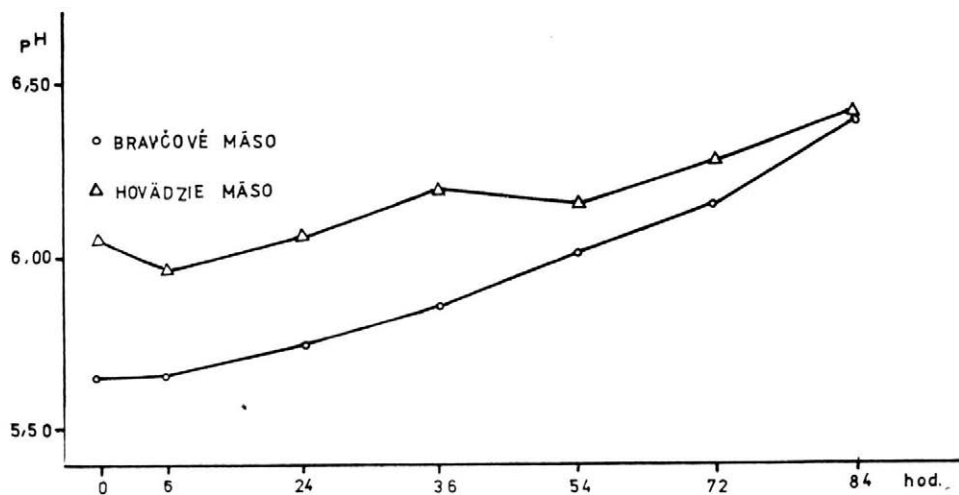
IV. Dynamika hodnôt pH v bravčovom a hovädzom mäse, ktoré bolo skladované pri teplote +10 °C — The changes in the pH values of pork and beef stored at a temperature of +10 °C

Ukazovateľ		Intervaly stanovenia v hodinách						
		0	6	24	36	54	72	84
$\bar{x}$	B	5,66	5,66	5,74	5,86	6,01	6,15	6,39
	H	6,04	5,96	6,05	6,19	6,14	6,27	6,41
s	B	0,04	0,05	0,05	0,05	0,03	0,05	0,09
	H	0,03	0,04	0,03	0,04	0,05	0,11	0,08
v	B	0,67	0,81	0,75	0,73	0,54	0,78	1,18
	H	0,54	0,71	0,51	0,73	0,82	1,76	1,38
L_1	B	6,01	5,92	6,01	6,15	6,11	6,23	6,35
	H	5,64	5,63	5,72	5,85	5,97	6,06	6,32
L_2	B	6,07	6,00	6,09	6,23	6,17	6,13	6,47
	H	5,68	5,69	5,76	5,86	6,05	6,24	6,46

B — bravčové mäso
H — hovädzie mäso



3. Dynamika hodnôt pH v bravčovom a hovädzom mäse, ktoré bolo skladované pri teplote +3 °C — The changes in the pH values of pork and beef stored at a temperature of +3 °C



4. Dynamika hodnôt pH v bravčovom a hovädzom mäse, ktoré bolo skladované pri teplote +10 °C — The changes in the pH values of pork and beef stored at a temperature of +10 °C

Dalším ukazovateľom kvality mäsa, v literatúre široko diskutovaným pokiaľ ide o numerické rozpätie v rámci jednotlivých kvalitatívnych skupín zatriedenia, je pH, ktoré môže byť ovplyvnené celým radom rozličných faktorov. V našich sledovaniach sme evidovali tak u bravčového, ako aj u hovädzieho mäsa pri oboch teplotách skladovania postupný vzostup tohto ukazovateľa. Ak však porovnáme evidované hodnoty v rámci sledovaných časových intervalov, vidíme, že pri skladovacej teplote $+3^{\circ}\text{C}$ spadajú v celom rozsahu stanovení do škály charakterizujúcej hodnotené mäso vhodné na spracovanie (Smorodincev, 1957; Mulač, 1962). Podobne je tomu aj u hovädzieho a bravčového mäsa skladovaného pri teplote $+10^{\circ}\text{C}$, kde však hodnoty zodpovedajú uvedenému kvantitatívnemu zatriedeniu po 72. hodinu u hovädzieho a po 54. hodinu u bravčového mäsa.

Ak máme hodnotiť senzorické vlastnosti bravčového mäsa skladovaného pri teplote $+3^{\circ}\text{C}$ v porovnaní so senzorickými vlastnosťami bravčového mäsa skladovaného pri teplote $+10^{\circ}\text{C}$, môžeme konštatovať, že pri teplote $+3^{\circ}\text{C}$ si udržalo vlastnosti mäsa zrelého až do 132. hodiny skladovania a počiatočné príznaky rozkladu neboli do uvedeného časového intervalu zistené. Pri teplote $+10^{\circ}\text{C}$ vykazovali vzorky typické príznaky zrelého mäsa do 72. hodiny skladovania. Po tomto časovom intervale boli zaznamenané počiatočné príznaky rozkladu.

Pri hodnotení senzorických vlastností hovädzieho mäsa skladovaného pri teplote $+3^{\circ}\text{C}$ sme evidovali charakteristické znaky zrelého mäsa bez príznakov počiatočného rozkladu až do 132. hodiny, avšak pri teplote $+10^{\circ}\text{C}$ vykazovali vzorky typické znaky zrelého mäsa len do 72. hodiny, kedy sa objavili prvé počiatočné príznaky rozkladu.

Experimentálnym sledovaním dynamiky amoniaku sme zistili, že s dĺžkou doby skladovania hovädzieho a bravčového mäsa stúpa obsah amoniaku v závislosti od teploty skladovania, pričom jeho hodnoty korelujú so senzorickým hodnotením. Amoniak je možné využiť ako jeden z objektívnych ukazovateľov stupňa čerstvosti mäsa v nadväznosti na senzorické hodnotenie pre posúdenie kvality suroviny a jej vhodnosti na technologické spracovanie do konzerv určených pre dlhodobé skladovanie. Pri komplexnom posúdení suroviny je možné ako jeden z ďalších doplnujúcich ukazovateľov využiť aj stanovenie pH.

Literatúra

BYRNE, E. — McCORMACK, S.: Determination of ammonium nitrogen in silage samples by an ammonia electrode. *Commun. Soil Sci. Plant Anal.*, 9, 1978, č. 8, s. 667-684.

ECKSCHLAGER, K. — HORSÁK, Z. — KODEJŠ, Z.: Vyhodnocování analytických výsledků a metod. Praha, SNTL 1980. 223 s.

GARČAR, J. — ŠMIRJÁK, M. — MACH, J.: Využitie iónselektívnej elektródy na stanovenie koncentrácií amoniaku v mäse. *Prům. Potravn.*, 32, 1981, č. 10, s. 558-560.

GARSIDE, Ch. — HULL, G. — MURRAY, S.: Determination of submicromolar concentrations of ammonia in natural waters by a standard addition method using a gas-sensing electrode. *Limon Oceanogr.*, 23, 1978, č. 5, s. 1073-1076.

HAVELKA, B.: Stanovenie amoniaku v niektorých surovinách a potravinách živočíšneho pôvodu. *Prům. Potravn.*, 18, 1967, č. 5, s. 271-274.

INGR, I.: Využitelnost stanovení amoniaku, pH a porfyrinu k objektivnímu hodnocení počátečních stadií syrového masa. *Prům. Potravn.*, 26, 1975, č. 4, s. 195-199.

- INGR, I.: Biochemismus, identifikace a vlastnosti DFD a PSE masa. Veterinářství, 27, 1977, č. 6, s. 268.
- INGR, I.: Abnormální hodnoty pH vepřového masa. Prům. Potrav., 32, 1981, č. 11, s. 609-611.
- INGR, I. — HAVLÍČEK, M. — SUCHÝ, P.: Možnosti přímého měření pH masa na porážkových linkách. Veterinářství, 29, 1979, s. 456-458.
- KHAN, A. W. — LENTZ, C. P.: Influence of ante-mortem glycolysis and dephosphorylation of high energy phosphate on beef aging and tenderness. J. Fd Sci., 38, 1973, č. 1, s. 56-58.
- KLÍMA, D. — BLANKA, R. — VESELÁ, V.: Metody pro objektivní stanovení čerstvosti masa. Prům. Potrav., 17, 1966, č. 5, s. 259-263.
- Mc LOUGHLIN, J. V.: Relationship between muscle biochemistry and properties of fresh and processed meats. Food Manuf., 44, 1969, č. 1, s. 36-40.
- MOSES, G. C. — THIBERT, R. J. — DRAISEY, T. F.: Continuous flow analysis of ammonia in perchloric acid supernatant of blood or plasma using an ammonia-selective electrode. J. clin. Path., 31, 1979, s. 1207-1211.
- MULAČ, K.: Stanovení pH masa a jeho posuzování. Veterinářství, 12, 1962, č. 11, s. 344.
- SCOPES, R. K.: Mechanism controlling glycolysis in muscle. The biochemistry of post mortem glycolysis. Proc. 17th eur. Meet Res. WKS., Bristol, 1971, s. 110-118.
- SMORODINCEV, I. A.: Biochemie masa. 1. vyd. Praha, SPN 1957.
- SÍCHO, V.: Potravinářská biochemie. 1. vyd. Praha, SNTL 1969.

Došlo dne 17. 6. 1985

ГРУШОВСКИ, Й. — ШМИРЯК, М. — ГАРЧАР, Я. (Военный ветеринарный, подготовительный и научно-исследовательский институт, Кошице): **Динамика аммиака и pH в мясе в разных условиях хранения.** Veter. Med. (Praha), 31, 1986 (2) : 113-122.

В свинине и говядине, хранимых в условиях двух температурных уровней, определяли динамику аммиака и pH в увязке с органолептическими изменениями. Из мяса брали образцы в интервалах: при +3 °C в 0, 12, 36, 60, 84, 108 и 132 час.; при +10 °C — в 0, 6, 24, 36, 54, 72 и 84 час. В образцах определяли содержание аммиака с помощью ионселективного электрода; pH определяли потенциометрическим способом. Определяя динамику аммиака, установили разные значения у отдельных видов мяса и отметили, что значения аммиака прямо пропорциональны температуре хранения. Подобная зависимость установлена и у динамики величин pH. Упомянутые изменения хранимого мяса протекали параллельно с динамикой изменений величин аммиака и pH. Эти показатели могут служить для оценки степени протекающих биохимических изменений и пригодности сырья для производства консервов длительного хранения. Преимущество усматривается в быстром и объективном определении аммиака с помощью ионселективного электрода и pH с помощью комбинированного стеклянного электрода на том же аппарате.

свинина и говядина; ионселективный электрод; органолептические изменения

HRUŠOVSKÝ, J. — ŠMIRJÁK, M. — GARČAR, J. (Military Veterinary Research and Extension Institute, Košice): **Ammonia Content and pH Values of Meat Stored under Different Conditions.** Veter. Med. (Praha), 31, 1986 (2) : 113-122.

The changes in ammonia content and pH values in beef and pork stored at different temperatures were studied in relation with sensory changes. Samples were taken from the stored meat at a temperature of +3 °C in the 0th, 12th, 36th, 60th, 84th, 108th and 132nd hour and at a temperature of +10 °C in the 0th, 6th, 24th, 36th, 54th, 72nd and 84th hour. The quantity of ammonia in the samples was determined by means of an ion-selective electrode. The pH value was determined potentiometrically. The kinds of meat (pork, beef) differed in the development of ammonia content. Ammonia content was found to be directly dependent on storage temperature. A similar relation was observed in the development of pH values. The sensory changes of stored meat were parallel to the changes in ammonia levels

and pH values. The results can be used for an evaluation of the degree of biochemical changes in the meat and of the fitness of the raw material to the production of tins for long storage. Advantageous points are seen in the rapid and objective determination of ammonia content by the ion-selective electrode and the determination of the pH value by means of the combined glass electrode with the aid of the same apparatus.

pork and beef; ion-selective electrode; sensory changes

HRUŠOVSKÝ, J. — ŠMIRJÁK, M. — GARČÁR, J. (Militärinstitut für veterinärmedizinische Fortbildung und Forschung, Košice): *Ammoniak- und pH-Dynamik im Fleisch unter verschiedenen Lagerungsbedingungen*. Veter. Med. (Praha), 31, 1986 (2) : 113-122.

In Schweine- und Rindfleisch, das unter zwei verschiedenen Temperaturen gelagert wurde, untersuchten wir die Dynamik des Ammoniaks und des pH im Zusammenhang mit sensorischen Veränderungen. Von dem gelagerten Fleisch wurden Proben in folgenden Intervallen entnommen: bei der Temperatur von +3 °C in der 0., 12., 36., 60., 84., 108. und 132. Stunde; bei der Temperatur von +10 °C in der 0., 6., 24., 36., 54., 72. und 84. Stunde. In den entnommenen Fleischproben wurde der quantitative Ammoniakgehalt u. zw. unter Anwendung einer selektiven Ionenelektrode ermittelt; der pH-Wert wurde potentiometrisch bestimmt. Bei den Untersuchungen der Ammoniakdynamik stellten wir unterschiedliche Werte bei den einzelnen Fleischarten fest (Schweine- und Rindfleisch) und wir verzeichneten eine direkte Abhängigkeit der Ammoniakwerte von der Lagerungstemperatur. Eine analoge Abhängigkeit wurde auch in bezug auf die Dynamik der pH-Werte festgestellt. Die sensorischen Veränderungen am gelagerten Fleisch verliefen parallel mit der Dynamik der Veränderungen der Ammoniak- und der pH-Wert. Die angeführten Parameter können zur Beurteilung des Grades der verlaufenden biochemischen Veränderungen und der Tauglichkeit des Rohstoffes zur Konservenherstellung, wo eine lange Lagerungszeit vorausgesetzt wird, genutzt werden. Die rasche und objektive Ammoniakbestimmung mittels der selektiven Ionenelektrode sowie die pH-Bestimmung mit Hilfe einer kombinierten Glaselektrode unter Anwendung desselben Apparats, erweisen sich als vorteilhaft.

Schweine- und Rindfleisch; selektive Ionenelektrode; sensorische Veränderungen

Adresa autorov:

Prof. MVDr. Jozef Hrušovský, DrSc., MVDr. Marián Šmirják, ing. Jaroslav Garčár, Vojenský veterinárny doškoľovací a výskumný ústav, Kukučínova 2, 041 15 Košice

VAKCINACE FRETEK (*PUTORIUS FURO*) PROTI VZTEKLINĚ TKÁŇOVOU VAKCÍNOU

O. Matouch, J. Dousek

MATOUCH, O. — DOUSEK, J. (Státní veterinární ústav, Liberec): *Vakcinace fretek (*Putorius furo*) proti vzteklině tkáňovou vakcínou*. Veter. Med. (Praha), 31, 1986 (2) : 123-128.

Na 15 fretkách (*Putorius furo*, L. 1758) jsme studovali možnost použité živé tkáňové antirabické vakcíny z kmene Vnukovo-32, vyráběné v n. p. Bioveta, Ivanovice na Hané. Za 21 den po aplikaci 3 ml vakcíny s. c. byl zjištěn průměrný titr virusneutralizačních protilátek 1 : 71,4 a po podání 1 ml s. c. a 1 ml i. m. činil průměrný titr 1 : 20,6, resp. 1 : 15,6. Čelenžní test byl proveden za 52 týdnů po vakcinaci* dávkou 10^5 MICLD₅₀ uličního viru vztekliny, aplikovanou i. m. do krční svaloviny. Všechna vakcinovaná zvířata přežila. Experimenty prokázaly dobrou snášenlivost a plnou chráněnost zvířat vůči zátěžové infekci uličním virem vztekliny po dobu jednoho roku. Jako dostačující se ukázala dávka 1 ml vakcíny ředěné podle návodu, aplikovaná s. c. nebo i. m. virusneutralizační protilátky; chráněnost; čelenžní test; dávkování

Imunoprofylaxe vztekliny je od dob Luise Pasteura nejvýznamnější a nejefektivnější metodou v boji proti této nebezpečné nákaze.

Profylaktická antirabická imunizace psů, koček a hovězího dobytka sehrála rozhodující roli při tlumení urbánní vztekliny a dodnes má mimořádný význam při ochraně domácích a hospodářských zvířat.

V průběhu let se desítky pracovišť zabývaly zdokonalováním a vývojem stále nových typů antirabických vakcín a bádání na tomto úseku představuje samostatný obor v rámci výzkumu vztekliny.

Adaptace viru vztekliny a jeho pasážování na extraneurálních buňkách (Kissling, 1958) otevřelo cestu k výrobě tkáňových antirabických vakcín v různých modifikacích a s různými kmeny (Fenje, 1960; Selimov a Aksénova, 1965; Lang aj., 1969; Wiktor aj., 1969 a další).

Tkáňová vakcína vyvinutá v Sovětském svazu na bázi kmene Vnukovo-32 se ukázala být vysoce imunogenní a areaktivní jak u lidí (Selimov aj., 1969), tak u zvířat (Vrtiak aj., 1972).

Také v ČSSR byl v Biovetě Ivanovice na Hané propracován a vyzkoušen výrobní postup živé tkáňové vakcíny z kmene Vnukovo-32 na buněčné linii BHK-21 (Procházková a Chumela, 1981) a preparát byl zaveden do výroby. Vakcína postupně nahrazuje starší typy vakcín a je široce a úspěšně používána ve veterinární praxi, hlavně při očkování psů, koček a skotu, ale dosud nebyla použita u kožešinových zvířat, jejichž faremní chovy jsou za současné nálezové situace vzteklinou rov-

něž ohroženy. Obecným požadavkem při zavádění nové vakcíny je i její vyzkoušení u každé kategorie zvířat, pro kterou přichází použití preparátu v úvahu, včetně čelenžního testu (Davidson, 1975).

Cílem našeho experimentu bylo ověřit u fretek, jako modelového kožesinového zvířete, snášenlivost, dávkování, způsob aplikace, protilátkovou odezvu a chráněnost v čelenžním testu.

MATERIÁL A METODY

POKUSNÁ ZVÍŘATA

V experimentu bylo použito 18 fretek (*Putorius furo*), 12 samců a 8 samic ve věku 8 až 24 měsíce. Zvířata nebyla před tím vakcinována proti vzteklině a v sérech odebraných před zahájením pokusu nebyly prokázány antirabické protilátky.

Pro titraci viru a stanovení titru protilátek bylo použito laboratorních myší, kmen Swiss albino vlastního chovu, o hmotnosti 10 až 14 g, obojího pohlaví.

IMUNIZACE

K vakcinaci byla použita komerční vakcína proti vzteklině tkáňová, výrobek Biovety Ivanovice na Hané, op. č. V-231081.

Zvířata byla rozdělena po pěti kusech do tří skupin. První skupina obdržela dávku 3 ml vakcíny s. c., druhá skupina 1 ml s. c. a třetí skupina 1 ml i. m.

SÉROLOGICKÉ VYŠETŘENÍ

Za 21 dní po aplikaci vakcíny bylo v éterové narkóze odebráno kardiální punkci od všech zvířat 3 až 5 ml krve.

Titř protilátek byl stanoven virus-neutralizačním testem, metodou, kterou uvádí Atanasiu (1973). Séra byla ředěna v poměru 1 : 5, 25, 125, 625 a do reakce bylo použito 20 až 56 MLD₅₀ kmene CVS. Titř protilátek PD₅₀ byl vypočten metodou podle Spearmana-Kärbera, jak ji uvádějí Lorenz a Bögel (1973).

ČELENŽNÍ TEST

Zátěžová infekce byla uskutečněna za 12 měsíců po aplikaci vakcíny u všech tří skupin a u tří kontrolních zvířat nevakcinovaných. Všechna zvířata obdržela i. m. hluboko do šíjové svaloviny dávku 100 000 myších i. c. LD₅₀. Čelenžní virus, kmen L-5925, byl připraven jako 20% originální suspenze slinné žlázy přirozeně infikované lišky. Pozorovací doba byla osm týdnů.

PRŮKAZ VIRU

Specifita úhynu myší v titracích a fretek v čelenžním testu byla kontrolována imunofluorescenčním vyšetřením mozků (Dean a Abelseh, 1973) na přítomnost vzteklinového antigenu.

VÝSLEDKY

Získané výsledky potvrdily velmi dobrou snášenlivost aplikované vakcíny. Lokální reakce v místě vpichu ani celková alterace zdravotního stavu nebyly pozorovány ani u jedné skupiny, kožky nebyly poškozeny.

Nejvyšší titry antirabických protilátek byly prokázány u první skupiny zvířat (3 ml vakcíny s. c.), a to v rozpětí 1 : 37 až 1 : 125 s průměrným titrem 1 : 71,4.

I. Titry antirabických protilátek u fretek po vakcinaci tkáňovou vakcínou — Titres of rabies antibodies in ferrets after vaccination with the tissue vaccine

Skupina	Zvíře číslo	Způsob aplikace	Dávka	Titř PD ₅₀ (21 den)	Průměrná hodnota
I.	1	<i>s. c.</i>	3 ml	1 : 37	1 : 71,4
	2	<i>s. c.</i>	3 ml	1 : 83	
	3	<i>s. c.</i>	3 ml	1 : 125	
	4	<i>s. c.</i>	3 ml	1 : 56	
	5	<i>s. c.</i>	3 ml	1 : 56	
II.	6	<i>s. c.</i>	1 ml	1 : 11	1 : 20,6
	7	<i>s. c.</i>	1 ml	1 : 25	
	8	<i>s. c.</i>	1 ml	0	
	9	<i>s. c.</i>	1 ml	1 : 56	
	10	<i>s. c.</i>	1 ml	1 : 11	
III.	11	<i>i. m.</i>	1 ml	1 : 11	1 : 15,6
	12	<i>i. m.</i>	1 ml	0	
	13	<i>i. m.</i>	1 ml	1 : 25	
	14	<i>i. m.</i>	1 ml	1 : 5	
	15	<i>i. m.</i>	1 ml	1 : 37	

U druhé skupiny (1 ml *s. c.*) byly titry virus-neutralizačních protilátek v rozsahu 1 : 11 až 1 : 56, přičemž u zvířete č. 8 nebyly ani opakované protilátky prokázány. Průměr PD₅₀ byl 1 : 20,6.

Obdobné výsledky byly u třetí skupiny (1 ml *i. m.*), u níž se zjištěný titř protilátek pohyboval v rozmezí od 1 : 11 do 1 : 37. Také v této skupině byl nulový titř u zvířete č. 12. Průměrná hodnota PD₅₀ činila 1 : 15,6. Přehled výsledků je uveden v tab. I.

Celenční test prokázal 100% chráněnost u všech tří skupin očkováných pokusných zvířat. Ze tří kontrolních zvířat uhynula dvě po inkubační době 19 až 21 dní. Klinická fáze trvala tři dny a byla charakterizována anorexií, neklidem a parézami. Celkový obraz odpovídal paralytické formě bez výrazné agresivity. Třetí zvíře, samec 24 měsíce starý, přežil bez známek onemocnění pozorovací dobu osmi týdnů.

DISKUSE

Tkáňová vakcína z kmene Vnukovo-32 vykazovala již v dřívějších ověřovacích pokusech slibné výsledky při imunizaci různých druhů zvířat (Švrček aj., 1973, 1975; Procházk a Chumela, 1981) i při porovnání imunogenní aktivity se zahraničními preparáty (Čupera, 1975). Také v našich pokusech se potvrdila dobrá snášenlivost a možnost používat preparát u kožeshinových zvířat — fretek.

Po aplikaci vyšší dávky (3 ml *s. c.*) byly sice získány vyšší titry, ale sérokonverze byla prokázána i po aplikaci 1 ml. Zjištěné hodnoty

titrů jsou v korelaci s výsledky získanými při testaci vakcín stejného typu u jiných druhů zvířat (Brown aj., 1968; Švrček aj., 1975; Barth a Jaeger, 1977; Augustinský aj., 1983).

V čelenžním testu, provedeném za 52 týdnů po vakcinaci, byla prokázána 100% chráněnost bez ohledu na iniciální titr protilátek. U dvou jedinců (č. 8 a 12) nebyly specifické protilátky po vakcinaci prokázány a přesto zvířata přežila zátěžovou infekci. O stejném fenoménu chráněnosti bez prokázaných protilátek u psů a koček referují Neukirch aj. (1978). Tyto nálezy svědčí o tom, že imunitní stav organismu je pravděpodobně determinován vedle humorálních protilátek i dalšími mechanismy na buněčné úrovni.

Před uskutečněním zátěžové infekce za 12 měsíců po vakcinaci bylo záměrně upuštěno od opětovné titrace protilátek pro značné riziko úhynu zvířat při odběru krve kardiální punkcí. Pokus byl zaměřen hlavně na praktické ověření chráněnosti proti infekci uličním virem lyssy.

Čelenžní dávka viru byla zvolena záměrně značně vysoká, neboť již dříve bylo referováno o určité rezistenci fretek k viru vztekliny při porovnání s liškami (Blancou aj., 1979). Také v našich pokusech, navzdory použité dávce (10^5 MLD₅₀), jeden samec z kontrolní skupiny po infekci v pozorovací době neonemocněl. U zbývajících dvou zvířat byla inkubační doba i klinický průběh zhruba v souladu s nálezy francouzských autorů (Blancou aj., 1982), kteří studovali experimentální infekci fretek virem vztekliny.

Literatura

- ATANASIU, P.: Quantitative assay and potency test of antirabies serum and immunoglobulin. In: Lab. Techn. Rabies, WHO 1973, s. 314-318.
- AUGUSTINSKÝ, V. — ŠVRČEK, Š. — VRTIAK, O. J. — ZÁVADOVÁ, J. — BENÍŠEK, Z. — ONDREJKA, R. — BENINGHAUS, T.: Vplyv adjuvantných látok na antigénnu aktivitu bunkovej antirabieckej vakcíny v pokusoch na hovädzom dobytku. Veter. Med. (Praha), 28, 1983, s. 717-726.
- BARTH, R. — JAEGER, O.: Zur Prüfung der Immunitätsdauer von Tollwut. Kombinationsvakzinen am Hund. Blauen H. Tierarzt, 57, 1977, s. 337-346.
- BLANCOU, J. — AUBERT, M. F. A. — ANDRAL, L. — ARTOIS, M.: Rage expérimentale du renard roux (*Vulpes vulpes*). I. Sensibilité selon la voie d'infection et la dose infectante. Rev. Méd. vétér., 130, 1979, s. 1001-1015.
- BLANCOU, J. — AUBERT, M. F. A. — ARTOIS, M.: Rage expérimentale du furet [*Mustela (Putorius) Furo*]. Rev. Méd. vétér., 133, 1982, s. 553-557.
- BROWN, A. L. — MERRY, D. L. — BECKENHAUER, W. H.: One-year immunity in dogs vaccinated with HEP rabies virus grown on established dog kidney cell line. J. Amer. veter. med. Assoc., 153, 1968, s. 174-179.
- ČUPERA, Z.: Imunogenní aktivita vakcín proti vzteklině. Veter. Med. (Praha), 20, 1975, s. 307-314.
- DAVIDSON, I.: Testing veterinary vaccines. Veter. Rec., 97, 1975, s. 389-392.
- DEAN, D. J. — ABELSETH, M. K.: The fluorescent antibody test. In: Lab. Techn. in Rabies, Geneva, WHO, 1973, s. 73-84.
- FENJE, P.: A rabies vaccine from hamster kidney tissue cultures — preparation and evaluation in animals. Can. J. Microbiol., 6, 1960, s. 605-610.
- KISSLING, R. E.: Growth of rabies virus in non-nervous tissue culture. Proc. Soc. exp. Biol. Med., 98, 1958, s. 223-225.
- LANG, R. — PETERMANN, H. G. — BRANCHE, R. — SOULEBOT, T. P.: Adaptation of fixed rabies virus to monkey kidney cells. Use of the virus from the preparation of an inactivated antirabies vaccine. C. R. Acad. Sci., Ser. D, 269, 1969, s. 2287-2290.
- LORENZ, R. J. — BÖGEL, K.: Methods of calculation. In: Lab. Techn. in Rabies, Geneva, WHO, 1973, s. 321-335.

NEUKIRCH, M. — JAEGER, O. — LIESS, B. — BARTH, R.: Parenterale Tollwut-schutzimpfung von Füchsen mit Madivak. Dtsch. tierärztl. Wschr., 85, 1978, s. 77-112.

PROCHÁZKA, R. — CHUMELA, J.: Imunoprofylaxe proti vzteklině. Imunoprofylaxia, 1981, č. 3, s. 46-51.

SELIMOV, M. A. — AKSENOVA, T. A. — KLUEVA, A. V. — RACHIMOVA, F. I. — MIRZOEVA, S.: Primeněníje kulturalnoj antirabičeskoj vakciny dlja lečebnoj immunisacii ljuděj. Ž. Mikrobiol. Epidemiol. Immunobiol., 1969, č. 11, s. 63-70.

SELIMOV, M. A. — AKSENOVA, T. A.: Atěnuirovanaja kulturalnaja antirabičes-kaja vakcina. In: Matěriály XIII. naučnoj sessii Instituta PVE, Moskva, 1965, s. 364-367.

ŠVRČEK, Š. — VRTIAK, O. J. — SELIMOV, M. A.: Štúdium imunoprofylaxie besnoty. I. Porovnávacie štúdium imunogénnej a antigénnej aktivity vývojových bunkových antirabických vakcín pri pokuse na laboratórnych zvieratách. Folia Veter., 17, 1973, s. 187-197.

ŠVRČEK, Š. — VRTIAK, O. J. a kol.: Štúdium imunogénnej a antigénnej aktivity bunkovej antirabickéj vakciny kmeňa Vnukovo-32. [Záverená správa.] Košice, Ústav exper. veter. med. MPVŽ SSR, 1975. 95 s.

VRTIAK, O. J. — ŠVRČEK, Š. — SELIMOV, M. A. — BĚLÍ, J. — GERLACHOV, D. — ĐURAN, A.: Izučenie imunogennoj i antigennoj aktivnosti kulturalnoj anti-rabičeskoj vakciny iz štamma SAV-VNUKOVO. Mezinár. Symp., Varna 1972.

WIKTOR, T. J. — SOKOL, F. — KUWERT, E. — KOPROWSKI, H.: Immunogenicity of concentrated and purified rabies vaccine of tissue culture origin. Proc. Soc. exp. Biol. Med., 131, 1969, s. 799-805.

Došlo dne 13. 6. 1985

MATOUX, O. — ДОУСЕК, Й. (Государственный ветеринарный институт, Либерец): Вакцинирование хорька (*Putorius furo*) против бешенства с помощью тканевой вакцины. Veter. Med. (Praha), 31, 1986 (2) : 123-128

На 15 хорьках (*Putorius furo*, L. 1758) испытывали возможность применения живой тканевой антирабической вакцины штамма Внукovo-32, выпускаемой предприятием Биовета, Ивановице-на-Гане. Через 21 день после прививки 3 мл вакцины подкожно установили средний титр вирусонейтрализующих антител в размере 1:71,4, а после введения 1 мл подкожно и 1 мл внутримышечно средний титр составил 1:20,6 и 1:15,6. Тест на заражение провели через 52 недели после прививки дозы 10^5 MICLD₅₀ уличного вируса бешенства внутримышечно в шейную мышцу. Все вакцинированные животные выжили. Опыты показали удовлетворительную толерантность и полную защищенность животных от заражения уличным вирусом бешенства в течение года. Достаточной представляется доза 1 мл вакцины в разбавлении по предписанию в подкожном или внутримышечном проведении.

вирусонейтрализующие антитела; защищенность; нагрузочный тест; дозировка

MATOUCH, O. — DOUSEK, J. (State Veterinary Institute, Liberec): Vaccination of Ferret (*Putorius furo*) with Tissue Rabies Vaccine. Veter. Med. (Praha), 31, 1986 (2) : 123-128.

The use of live tissue rabies vaccine from Vnukovo-32 strain produced by the Bioveta National Corporation at Ivanovice na Hané was tested on 15 ferrets (*Putorius furo* L. 1758). The 21st day after subcutaneous application of 3 ml of vaccine, the average titre of virus-neutralizing antibodies was 1:71.4, and after subcutaneous and intramuscular application of 1 ml of vaccine the average titre was 1:20.6 and 1:15.6, respectively. The challenge test was performed 52 weeks after vaccination: a dose of 10^5 MICLD₅₀ of the street rabies virus was applied *i. m.* to the neck muscle. All the vaccinated animals survived. As indicated by the results of the trials, a good tolerance and full immunity of vaccinates to the infection with the street rabies virus was maintained for one year. 1 ml of vaccine diluted according to instructions and applied *s. c.* or *i. m.* was found to be sufficient.

virus-neutralizing antibodies; immunity; challenge test; dosage

MATOUCH, O. — DOUSEK, J. (Staatliches veterinärmedizinisches Institut, Liberec): *Vakzinierung von Frettchen (*Putorius furo*) gegen Tollwut mittels Gewebvakzine*. Veter. Med. (Praha), 31, 1986 (2) : 123-128.

An 15 Frettchen (*Putorius furo*, L. 1758) studierten wir die Anwendungsmöglichkeit einer antirabischen Lebendgewebe-Vakzine aus dem Stamm Vnukovo-32, die im volkseigenen Betrieb BIOVETA, Ivanovice na Hané, hergestellt wird. Nach 21 Tagen nach der Applikation von 3 ml Vakzine s. c. wurde ein mittlerer Titer der Virusneutralisierungsantikörper von 1 : 71,4 festgestellt und nach einer Applikation von 1 ml s. c. und 1 ml i. m. betrug der mittlere Titer 1 : 20,6, bzw. 1 : 15,6. Der Challenge-Test wurde nach 52 Wochen nach der Vakzinierung mit einer Dosis von 10^5 MICLD₅₀ des in die Halsmuskulatur i. m. applizierten Tollwut-Straßenvirus vorgenommen. Die Experimente wiesen eine gute Verträglichkeit und völlige Immunität der Tiere gegenüber der Belastungsinfektion durch das Tollwut-Straßenvirus im Zeitraum von einem Jahr nach. Als ausreichend erwies sich die Dosis vom 1 ml der laut Gebrauchsanweisung verdünnten Vakzine, bei s. c. oder i. m. Applikation.

Virusneutralisierungsantikörper; Immunität; Challenge-Test; Dosierung

Adresa autorů:

MVDr. Oldřich Matouch, CSc., MVDr. Jiří Dousek, Státní veterinární ústav,
U síla 310, 463 11 Liberec

OBSAH

Jagoš P., Bouda J., Skřivánek M.: Vliv příjmu mléčné krmné směsi a plnotučného mléka na vývoj vybraných ukazatelů v krevní plazmě telat	65
Liehman P., Fulka J.: Vztah mezi kvalitou embryí skotu po rozmrazení a zabřezávání a po jejich přenosu	75
Žuffa A.: Vyvolanie biologickej chránenosti ošípaných proti infekcii vírusom Aujeszkeho choroby očkovaním veľkými dávkami živej alebo inaktivovanej vakcíny	83
Pospíšil Z., Tománek J., Valíček I., Zendulková D.: Izolace a identifikace viru infekční nekrózy pankreatu pstruhů	95
Haragsim O., Samšišák K.: Vývojová stadia roztoče <i>Varroa jacobsoni</i> Oudemans, 1904 (<i>Acari: Dermanyssidae</i>)	105
Hrušovský J., Šmirják M., Garčár J.: Dynamika amoniaku a pH v mäse skladovanom v rôznych podmienkach	113
Matouch O., Dousek J.: Vakcinace fretek (<i>Putorius furo</i>) proti vztekliné tkáňovou vakcínou	123

СОДЕРЖАНИЕ

Ягош П., Боуда Я., Скрживанек М.: Влияние усвоения молочного комбикорма и цельного молока на кривую некоторых показателей кровяной плазмы у телят	65
Лиман П., Фулка Й.: Отношение между качеством эмбрионов крупного рогатого скота после размораживания и процентом зачатий после их пересадки	75
Жуффа А.: Прививка биологической защищенности свиней от вируса болезни Ауески с помощью крупных доз живой или инактивированной вакцины	83
Поспишил З., Томанек Й., Валичек Л., Зендулкова Д.: Изоляция и идентификация вируса инфекционного некроза панкреаса у форели	95
Гарагсим О., Самшиняк К.: Стадии развития клеща <i>Varroa jacobsoni</i> Oudemans, 1904 (<i>Acari: Dermanyssidae</i>)	105
Грушовски Й., Шмиряк М., Гарчар Я.: Динамика аммиака и pH в мясе в разных условиях хранения	113
Маточух О., Доусек Й.: Вакцинирование хорька (<i>Putorius furo</i>) против бешенства с помощью тканевой вакцины	123

CONTENTS

Jagoš P., Bouda J., Skřivánek M.: The Effect of the Intake of Milk Replacer and Whole Milk on the Development of Selected Parameters in the Blood Plasma of Calves	65
Liehman P., Fulka J.: A Relation between the Quality of Frozen-Thawed Bovine Embryos and the Pregnancy Rate after their Transfer	75
Žuffa A.: Inoculation of Large Doses of Live or Inactivated Vaccine to Induce the Biological Immunity of Pigs Infection with the Aujeszky's Disease Virus	83
Pospíšil Z., Tománek J., Valíček I., Zendulková D.: Isolation and Identification of the Infectious Pancreatic Necrosis Virus in Trout	95
Haragsim O., Samšišák K.: Developmental Stages of the Mite <i>Varroa jacobsoni</i> Oudemans, 1904 (<i>Acari: Dermanyssidae</i>)	105
Hrušovský J., Šmirják M., Garčár J.: Ammonia Content and pH Values of Meat Stored under Different Conditions	113
Matouch O., Dousek J.: Vaccination of Ferret (<i>Putorius furo</i>) with Tissue Rabies Vaccine	123

INHALT

Jagoš P., Bouda J., Skřivánek M.: Einwirkung der Aufnahme von Milchaustauschern und Vollmilch auf die Entwicklung ausgewählter Kennwerte im Blutplasma von Kälbern	65
Liehman P., Fulka J.: Beziehung zwischen der Qualität von Rinderembryonen nach dem Auftauen und der Trächtigkeitsrate nach deren Transfer	75
Žuffa A.: Auslösung einer biologischen Unempfindlichkeit von Schweinen gegenüber dem Virus der Aujeszky'schen Krankheit durch Impfung mit großen Gaben lebendiger oder inaktivierter Vakzine	83
Pospíšil Z., Tománek J., Valíček L., Zendulková D.: Isolierung und Identifikation des Virus der infektiösen Pankreasnekrose der Forellen	95
Haragsim O., Samšiňák K.: Entwicklungsstadien der Milbe <i>Varroa jacobsoni</i> Oudemans, 1904 (<i>Acari: Dermanyssidae</i>)	105
Hrušovský J., Šmirják M., Garčár J.: Ammoniak- und pH-Dynamik im Fleisch unter verschiedenen Lagerungsbedingungen	113
Matouch O., Dousek J.: Vakzinierung von Frettchen (<i>Putorius furo</i>) gegen Tollwut mittels Gewebvakzine	123

Rukopisy odevzdány k tisku 6. 11. 1985 — Podepsáno k tisku 8. 1. 1986

Rozšiřuje PNS. Informace o předplatném podá a objednávky přijímá každá administrace PNS, pošta, doručovatel a PNS-ÚED Praha, závod 01 — AOT, Kafkova 19, 160 00 Praha 6; PNS-ÚED Praha, závod 02, Obránců míru 2, 656 07 Brno; PNS-ÚED Praha, závod 03, Kubánská 1539, 708 72 Ostrava-Poruba. Objednávky do zahraničí vyřizuje PNS — ústřední expedice a dovoz tisku Praha, závod 01, administrace vývozu tisku, Kafkova 19, 160 00 Praha 6. Vytiskl MÍR, novinářské závody, n. p., závod 6, tř. Lidových milicí 22, 120 00 Praha 2.