

VĚDECKÝ ČASOPIS



VETERINÁRNÍ MEDICÍNA

7

ROČNÍK 32 (LV)
PRAHA
ČERVENEC 1987
CENA 10 Kčs
CS ISSN 0590-5214

ČESKOSLOVENSKÁ AKADEMIE ZEMĚĚLSKÁ
ÚSTAV VĚDECKOTECHNICKÝCH INFORMACÍ
PRO ZEMĚĚLSTVÍ

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 Václavíková

OBSAH

Zajac J., Žuffa T., Černek J.: Vyhodnotenie výsledkov reakcie ELISA pri sérologickej diagnostike leukózy hovädzieho dobytku	385
Holman J.: Morfogenezе vychlípenin jaderné blány nádorových buněk při leukóze skotu	391
Gabriš J., Ďuran A.: Hladina niektorých metabolitov v krvi kráv počas 24 hodín	399
Zelený J., Šichová J.: Využití Bio-La-testu Lachema ke stanovení močoviny v mléce	409
Dvořák M., Neumannová M.: Účinky polychlorovaných bifenyly (Deloru 103, 105 a 106) v krmivu na zdraví mladých prasat	417
Říha J., Minář J., Janeš K., Vlček A., Renda V.: Fenylpropandiol a diethyltoluamid, nový repelentní přípravek k ochraně hospodářských zvířat	429
Veselý D., Veselá D., Tichá J.: Kontaminace žitné mouky toxinogenním kmenem <i>Penicillium islandicum</i> Sopp a embryotoxický účinek jeho sekundárních metabolitů na kuřecí zárodek	435
Štěrba F., Halačková M.: Využití Rose bengal testu v diagnostice brucelózy zajíců	441
Recenze	
Kabelík V.: Freudiger U., Grünbaum E. G., Schimke E.: Klinik der Hundekrankheiten	408

СОДЕРЖАНИЕ

Заяц Я., Жүффа Т., Чернек Я.: Оценка результатов реакции ELISA при серологической диагностике лейкоза у крупного рогатого скота	385
Голман Я.: Морфогенез выбухания ядерной оболочки бластоматозных клеток при лейкозе у скота	391
Габриш Ю., Дюран А.: Уровень некоторых метаболитов в крови коров в течение 24 часов	399
Зелены Й., Шихова Й.: Применение Bio-La-теста Lachema к установлению мочевины в молоке	409
Дворжак М., Неуманнова М.: Действия полихлорированных бифенилов (Делора 103, 105 и 106) в кормлении на здоровье молодых поросят	417
Ржига Я., Минарж Я., Янеш К., Влчек А., Ренда В.: Фенилпропандиол и диэтилтолуамид, новый репеллентный препарат для защиты сельскохозяйственных животных	429
Веселы Д., Весела Д., Тиха Я.: Заражение ржаной муки токсиногенными штаммами <i>Penicillium islandicum</i> Sopp. и эмбриотическое действие его вторичных метаболитов на куриный зародыш	435
Штерба Ф., Галачкова М.: Применение теста Розе-бенгал в диагностике бруцеллеза зайцев	441

VYHODNOTENIE VÝSLEDKOV REAKCIE ELISA PRI SÉROLOGICKEJ DIAGNOSTIKE LEUKÓZY HOVÄDZIEHO DOBYTKA

J. Zajac, T. Žuffa, J. Černek

ZAJAC, J. — ŽUFFA, T. — ČERNEK, J. (Bioveta, n. p., Nitra; Štátny veterinárny ústav, Nitra): *Vyhodnotenie výsledkov reakcie ELISA pri sérologickej diagnostike leukózy hovädzieho dobytku*. Veter. Med. (Praha), 32, 1987 (7) : 385-390.

Pomocou imunodifúzneho testu (ID), pseudotypového neutralizačného testu (PsNT) a metódy ELISA sme vyšetrili vzorky krvného séra z dvoch chovov hovädzieho dobytku na prítomnosť protilátok proti vírusu bovinnej leukózy. Vyhodnotenie spektrofotometrického odčítania reakcie ELISA sme robili na základe aritmetického priemeru ($\bar{x}$) a smerodajnej odchýlky (S_d) hodnôt, ktoré sme zistili pri negatívnych kontrolách. Vyšetrením 208 vzoriek sér z negatívneho chovu sme vo všetkých prípadoch potvrdili negatívnu reakciu v testoch ID aj PsNT. Hodnoty reakcie ELISA sa nachádzali u 100 % vzoriek v rozsahu ohraničenom vzťahom $\bar{x} + 3 S_d$, ktorý sme definovali ako prahovú hodnotu pozitivity. Vyšetrením 223 vzoriek sér z pozitívneho chovu sme v rozsahu menšom ako $\bar{x}$ zaznamenali 132 vzoriek, z ktorých bolo päť pozitívnych v PsNT. V oblasti hodnôt $\bar{x}$ až $\bar{x} + 3 S_d$ bolo 29 vzoriek, z ktorých sme zistili pozitivitu pri PsNT v piatich a pri teste ID v troch prípadoch. Nad prahovou hodnotou pozitivity bolo 62 vzoriek, z ktorých sme potvrdili pozitivitu pri PsNT v 58 a v ID v 55 vzorkách. Podľa zistených výsledkov je metóda ELISA vhodná na vyhľadávanie pozitívnych reagentov na leukózu hovädzieho dobytku a je potrebné jej venovať osobitnú pozornosť.

protilátky; sérum; bovinná leukóza

V rámci sérologickej diagnostiky bovinnej leukózy sa v poslednom období upriamila pozornosť na možnosti využitia imunoenzymatických metód. Predpokladá sa, že tieto metódy zvýšia efektívnosť detekcie pozitívnych reagentov a v budúcnosti môžu nahradiť bežne používaný imunodifúzny test pri ozdravovaní a periodickej kontrole ozdravených chovov. Dôvodom týchto predpokladov je vo všeobecnosti vysoká citlivosť a špecifita imunoenzymatických metód a možnosti použitia automatizovaných systémov pri vyšetrovaní. Nepriamy imunoenzymatický test ELISA pri sérologickej diagnostike bovinnej leukózy metodicky rozpracovali G i e l k e n s a i. (1981) a v našich podmienkach A l t a n e r a i. (1982). Výrazný pokrok v tejto oblasti znamená využitie monoklonálnych protilátok (M a m m e r i c k x a i., 1985), no s ich použitím v bežnej praxi zatiaľ nemôžeme v našich podmienkach počítať.

Pri použití metódy ELISA je optimálne robiť vyhodnotenie reakcie pomocou automatizovaného systému, v rámci ktorého je potrebné vypracovať jednotný metodický postup. Tomuto problému sa doposiaľ nevenovala osobitná pozornosť. Naša práca má podať obraz o porovnaní vý-

sledkov imunodifúzneho testu a pseudotypového neutralizačného testu s výsledkami spektrofotometrického odčítania imunoenzymatickej reakcie pri sérologickej diagnostike leukózy hovädzieho dobytká.

MATERIÁL A METÓDY

Séra: Pri porovnávacom vyšetrení sme použili dva súbory vzoriek krvného séra. Prvý z nich, s počtom 208 vzoriek, bol odobratý v rámci periodického vyšetrovania protilátok proti vírusu bovinnej leukózy v chovoch hovädzieho dobytká, v ktorých sa po dobu dvoch rokov nedokázala pozitívna reakcia v ID. Druhý súbor, s počtom 223 vzoriek, pochádzal z chovu, v ktorom bolo v predchádzajúcom období zistené vysoké percento pozitívnych reagentov na bovinnú leukózu v ID. Všetky vzorky sér sme vyšetrili pomocou ID, PsNT a metódy ELISA.

Imunodifúzny test sme robili pomocou diagnostickej súpravy AGEBION z Biovety, n. p., Nitra, podľa priloženého návodu na použitie.

Pseudotypový neutralizačný test sme robili spôsobom bežne zaužívaným na našom pracovisku (Salaj a i., 1984).

ELISA, nepriamy imunoenzymatický test, sme robili na mikrotitračných platničkách KOH-I-NOOR typ P. Antigén sme pripravili metódou, ako ju opísali Onuma a i. (1975), z vírusového materiálu, ktorý sme pomnožili na tkanivovej kultúre FLS buniek v rastovom médiu BEM s obsahom 1% BFS. Ultracentrifugáciou koncentrovaný a čiastočne purifikovaný vírus bovinnej leukózy sme opračovali éterovou extrakciou. Pripravu konjugátu sme robili oxidačnou periodátovou metódou (Wilson a Nakane, 1978). Protilátky proti bovinnému IgG sme izolovali z ovčieho antiséra afinitnou chromatografiou a konjugovali s chrenovou peroxidázou (SERVA). Roztoky, ktoré sme použili pri metóde ELISA, boli v zložení, ako opísali Gielkens a i. (1981).

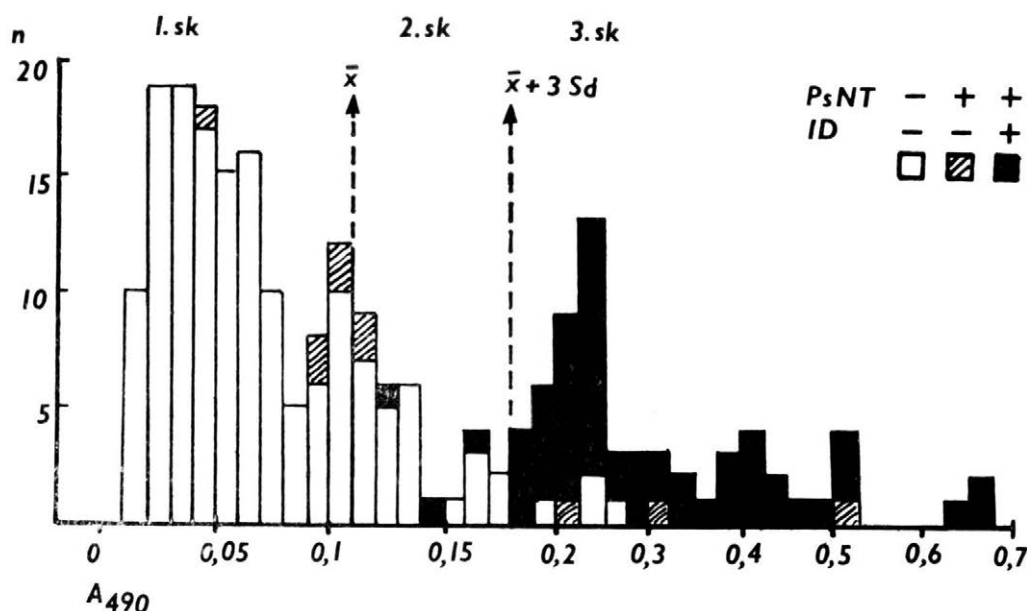
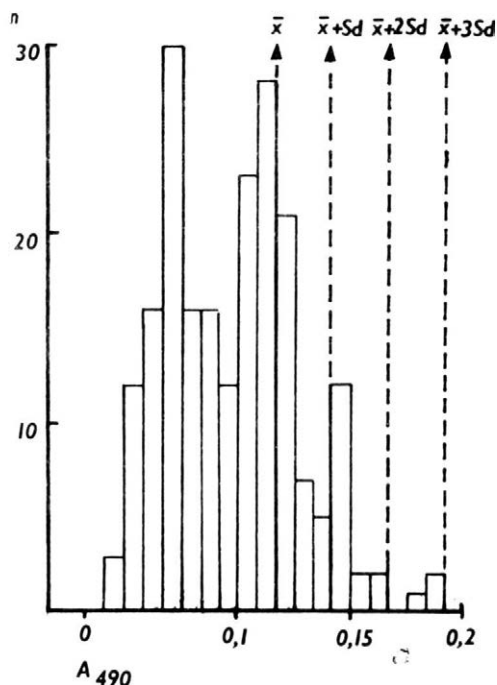
Pracovné riedenie antigénu a konjugátu sme stanovili podľa bežne zaužívanej metódy (Zajac a Zuffa, 1984). Pracovný postup bol takýto: Antigén riedený vo väzobnom roztoku sme naniesli do jamiek po 0,1 ml a uložili pri teplote $+4^{\circ}\text{C}$ na dobu 16 až 18 hodín. Po jednorázovom premytí premývacím roztokom sme naniesli do jamiek po 0,18 ml riediaceho roztoku. Vyšetrované vzorky sér sme nanášali do jamiek s riediacim roztokom po 0,02 ml (riedenie 1:10), pričom sme každé sérum vyšetrovali v dvoch jamkách. Na jednej platničke sme takýmto spôsobom vyšetrili 40 vzoriek sér. Do ďalších štyroch jamiek sme naniesli kontrolné pozitívne sérum a do ôsmich kontrolné negatívne sérum. Štyri jamky sme nechali ako slepú kontrolu pre stanovenie „blank“ pri spektrofotometrickom odčítaní. Po dvojhodinovej inkubácii pri teplote 37°C sme jamky vyprázdňovali a štyrikrát premyli premývacím roztokom. Konjugát rozpustený v riediacom roztoku sme naniesli do jamiek po 0,1 ml a platne sme uložili do termostatu pri teplote 37°C na jednu hodinu. Po tejto dobe sme jamky štyrikrát premyli a naplnili substrátovým roztokom 5-aminosalicylovej kyseliny po 0,1 ml. Farebnú reakciu sme odčítali pomocou zariadenia Minireader II fy Dynatech pri 490 nm.

VÝSLEDKY

Pri sérologickom vyšetrení 208 vzoriek sér z negatívneho chovu sme pri vyšetrovaní ID a PsNT nezistili pozitívnu reakciu. Hodnoty fotometrického odčítania reakcie ELISA sú naznačené na obr. 1. V rámci vypočítaných hodnôt aritmetického priemeru ($\bar{x}$) a smerodajnej odchýlky (Sd), ktoré sme stanovili pri negatívnych kontrolách, bolo v intervale $\bar{x} + 1 Sd$ 90,8 %, v intervale $\bar{x} + 2 Sd$ 98,5 % a v intervale $\bar{x} + 3 Sd$ 100 % vyšetrených vzoriek.

Pri súbore 223 vzoriek sér z pozitívneho chovu sme pomocou ID zistili 58 a pomocou PsNT 68 pozitívnych sér. Podľa výsledkov spektrofotometrického odčítania ELISA sme vyšetrené vzorky rozdelili do skupín ohraničených hodnotami $\bar{x}$ a $\bar{x} + 3 Sd$ (obr. 2), ktoré sme vypočítali z hodnôt reakcie negatívnej kontroly. V skupine s intervalom menším

1. Súbor 208 vzoriek krvného séra z negatívneho chovu, rozdelený do skupín podľa hodnôt adsorbancie zistených pri reakcii ELISA — The set of 208 blood serum samples taken from the negative herd divided into groups according to the values of adsorbance determined in the ELISA reaction



2. Súbor 223 vzoriek krvného séra z pozitívneho chovu, rozdelený do skupín podľa hodnôt adsorbancie zistených pri reakcii ELISA — The set of 223 samples of blood serum collected from the positive herd divided into groups according to the adsorbance values recorded in the ELISA reaction

ako $\bar{x}$ sme zaznamenali 132 vzoriek, z ktorých bolo päť pozitívnych pri PsNT. V rámci druhej skupiny, od $\bar{x}$ do $\bar{x} + 3 Sd$, bolo 29 vzoriek, z ktorých boli v ID pozitívne tri a v PsNT päť vzoriek. V tretej skupine bolo

62 vzoriek sér, ktoré mali interval vyšší ako $\bar{x} + 3 Sd$. Pri 55 vzorkách tejto skupiny sme zaznamenali pozitivitu pomocou ID a pri 58 vzorkách pomocou PsNT. Pri štyroch vzorkách tejto skupiny sme pomocou ID ani PsNT pozitivitu nezistili.

DISKUSIA

Pri porovnávaní výsledkov sérologického vyšetrenia protilátok proti vírusu bovinnej leukózy sa v predchádzajúcom období poukázalo na vyššiu citlivosť metódy ELISA v porovnaní s ID (Gielkens a i., 1981; Altaner a i., 1982; Hofírek a i., 1986). V uvedených prácach sa kládol hlavný dôraz na výsledky pseudotypového neutralizačného testu, ktorý slúžil ako štandardná metóda, na základe ktorej sa porovnávané metódy posudzovali.

Bežne používaný imunodifúzny, ako aj pseudotypový neutralizačný test sú metódy, pomocou ktorých dokazujeme protilátky proti povrchovému antigénu „gp-51“. Antigen, ktorý sme použili v imunoenzymatickom teste ELISA, definovali Onuma a i. (1976) ako éterrezistentný antigen „p-24“. Takýmto spôsobom pripravený antigen použili tiež Kajikawa a i. (1983) a Takahashi a Kono (1985).

Pri zhodnotení optickej denzity imunoenzymatickej reakcie ELISA sme vychádzali z kritérií, ktoré uvádzajú Snyder a i. (1983) a Takahashi a Kono (1985). Nakoľko 100 % vyšetrených vzoriek z negatívneho súboru sér sa vyskytovalo v intervale ohraničenom $\bar{x} + 3 Sd$, zvolili sme tento vzťah za prahovú hodnotu pozitivity. Pri vyšetrení súboru sér z pozitívneho chovu sme konfrontovali výsledky dosiahnuté metódou ELISA s výsledkami testov ID a PsNT. Vychádzajúc z uvedených výsledkov, môžeme konštatovať:

1. V súlade s údajmi, ktoré uvádzajú Kajikawa a i. (1983), pri použití éterrezistentného antigénu „p-24“ sme v našej práci nepotvrdili pozitivitu pomocou metódy ELISA pri troch sérach, ktoré boli v PsNT pozitívne. Predpokladáme preto, že tieto séra obsahovali protilátky proti povrchovému antigénu „gp-51“ a proti antigénu „p-24“ protilátky neobsahovali.

2. Pri sérach, ktoré boli pozitívne v ID alebo PsNT, sme vo väčšine prípadov zaznamenali pozitívnu reakciu metódou ELISA. Pri takýchto sérach predpokladáme obsah špecifických protilátok proti antigénu „p-24“, ako aj „gp-51“.

3. Pomocou metódy ELISA sme zaznamenali pozitivitu tiež pri štyroch vzorkách, ktoré neboli pozitívne v ID a PsNT. Podobný údaj uvádzajú tiež Takahashi a Kono (1985). Predpokladáme, že tieto séra neobsahovali protilátky proti antigénu „gp-51“, ale proti antigénu „p-24“.

V nadväznosti na uvedené údaje chceme poukázať na práce, ktoré publikoval Meyer a i. (1986) a Hofírek a i. (1986). Títo autori zistili vysokú citlivosť metódy ELISA pri dôkaze protilátok v prvom období po infekcii dobytka vírusom bovinnej leukózy. Meiron a i. (1985) zistili po experimentálnej infekcii dobytka vírusom bovinnej leukózy prioritnú tvorbu špecifických protilátok proti antigénu „p-24“, ktorá vo väčšine prípadov predchádzala tvorbu špecifických protilátok pro-

ti povrchovému antigénu „gp-51“ o dva až tri týždne. Preto s ohľadom na typ použitého antigénu pri metóde ELISA môžeme stanoviť tiež pozitívne reakcie, ktoré nebudú potvrdené pomocou ID ani PsNT. Na túto skutočnosť poukazujú tiež výsledky porovnávania metód RIA, ELISA, ID a PsNT, ktoré uvádzajú Franz a i. (1986) pri sérologickej diagnostike bovinnej leukózy.

Literatúra

- ALTANER, Č. — ZAJAC, V. — ČERNÝ, L.: Nové prístupy k rýchle a hromadné diagnostice bovinnej leukózy. *Veterinářství*, 32, 1982, s. 389-391.
- FRANZ, J. — HAMPL, J. — HOFÍREK, B. — ŠKROBÁK, F. — SVOBODA, I. — GRANÁTOVÁ, M.: Radioimunologický průkaz protilátek proti viru leukózy skotu. *Veter. Med. (Praha)*, 31, 1986, s. 459-468.
- GIELKENS, A. L. J. — RESSANG, A. A. — IJZERMAN, J. — QUAK, J.: Test protocol of enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) for the detection of antibodies against bovine leukosis virus. *Veter. Quart.*, 3, 1981, s. 34-37.
- HOFÍREK, B. — HOŘÍN, P. — GRANÁTOVÁ, M. — MACHATKOVÁ, M. — FRANZ, J. — SVOBODA, I. — BLECHA, J.: Experimentální a přirozená infekce virem enzootické leukózy skotu. *Veter. Med. (Praha)*, 31, 1986, s. 129-140.
- KAJIKAWA, O. — KOYAMA, H. — SASAKI, T. — YOSHIKAWA, T. — SAITO, H.: Studies on enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) for detection of antibodies in cattle infected with bovine leukemia virus. *Jap. J. veter. Sci.*, 45, 1983, s. 347-353.
- MAMMERICKX, M. — PORTETELLE, D. — BURNY, A.: Application of an enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) involving monoclonal antibody for detection of BLV antibodies in individual or pooled bovine milk samples. *Zbl. Veter.-Med., R. B.* 32, 1985, s. 526-533.
- MEIRON, R. — BRENNER, J. — GLUCKMAN, A. — AVRAHAM, R. — TRAININ, Z.: Humoral and cellular responses in calves experimentally infected with bovine leukemia virus (BLV). *Veter. Immunol. Immunopathol.*, 9, 1985, s. 105-114.
- MEYER, U. — SCHILOW, W. F. — WITTMAN, W. — STARICK, E. — KLUGE, K. H. — HEIM, F. — GAREISS, G. — PITZSCHKE, H.: Entwicklung eines Festphasen-Enzymimmunoassay für die Diagnostik der enzootischen Rinderleukose. *Arch. exp. veter. Med.*, 40, 1986, s. 368-376.
- ONUMA, M. — OLSON, C. — DRISCOLL, D. M.: Properties of two isolated antigens associated with bovine leukemia virus infection. *J. Nat. Cancer Inst.*, 57, 1976, s. 571-578.
- ONUMA, M. — OLSON, C. — BAUMGARTNER, L. E. — PEARSON, L. D.: An ether sensitive antigen associated with bovine leukemia virus infection. *J. Nat. Cancer Inst.*, 55, 1975, s. 1155-1159.
- SALAJ, J. — HOFÍREK, B. — KABELÍK, V. — HORYNA, J.: Sensitivity of immunodiffusion (ID) and pseudotype neutralization (PsNT) tests for the serological diagnosis of bovine leukemia virus infection. In: *Fifth International Symposium on Bovine Leukosis*. Ed.: O. C. Straub. Tübingen, CEC 1984, s. 410-416.
- SNYDER, D. B. — MARQUARDT, W. W. — MALLISON, E. T.: Rapid serological profiling by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). I. Measurement of antibody activity titer against Newcastle disease virus in single serum dilution. *Avian Diseases*, 27, 1983, s. 161-170.
- TAKAHASHI, K. — KONO, Y.: Development of practical ELISA for detection of antibodies to bovine leukemia virus: A comparison of its sensitivity with that of virus neutralization and agar gel immunodiffusion tests. *Jap. J. veter. Sci.*, 47, 1985, s. 193-200.
- WILSON, M. B. — NAKANE, P. K.: Recent developments in periodate method of conjugating horseradish peroxidase (HRPO) to antibodies. In: *Immunofluorescence and related staining techniques*. Eds.: W. Knapp, K. Holubar, G. Wick. New York, Elsevier (North-Holland Biomed. Press, Amsterdam) 1981, s. 215-224.
- ZAJAC, J. — ŽUFFA, T.: Dôkaz protilátok proti vírusu chrípky koní pomocou imunoenzymatického testu ELISA. *Imunoprofylaxia*, 4, 1984, s. 65-79.

Došlo dňa 15. 10. 1986

ЗАЯЦ, Я. — ЖУФФА, Т. — ЧЕРНЕК, Я. (Биовета, нац. предпр. Нитра; Государственный институт ветеринарии, Нитра): **Оценка результатов реакции ELISA при серологической диагностике лейкоза у крупного рогатого скота.** Veter. Med. (Praha), 32, 1987 (7) : 385-390.

При помощи иммунодиффузного теста (ИД), псевдотипичного нейтрализующего теста (ПсНТ) и метода ELISA мы исследовали образцы сыворотки крови из двух разведений крупного рогатого скота на наличие антител вируса бычьего лейкоза. Оценку спектрометрического отсчета реакции ELISA мы проводили на основе среднего арифметического ($\bar{x}$) и стандартного отклонения (Сд) величин, которые мы определили во время отрицательных проверок. Исследованием 208 образцов сыворотки крови из неблагополучного разведения мы во всех случаях подтвердили отрицательную реакцию в тестах ИД и ПсНТ. Оценки реакции ELISA находились у 100 % образцов в размере ограниченном отношением $\bar{x} + 3$ Сд, который мы дифференцировали как настоящую оценку положительности. Исследованием 223 образцов сыворотки крови из благополучного разведения мы в размере меньшем, чем $\bar{x}$ зарегистрировали 132 образца, из которых было пять положительных в ПсНТ. В области значений $\bar{x} - \bar{x} + 3$ Сд было 29 образцов, из которых мы определили положительность при ПсНТ в пяти, а при тесте ИД в трех случаях. Над пороговой оценкой положительности было 62 образца, из которых мы подтвердили положительность при ПсНТ в 58, а в ИД в 55 образцах. По определенным результатам метода ELISA является подходящим для отыскания положительных реагенов на лейкоз у крупного рогатого скота, которому необходимо уделять особенное внимание.

антитела; сыворотка крови; бычий лейкоз

ZAJAC, J. — ŽUFFA, T. — ČERNEK, J. (Bioveta National Corp., Nitra; State Veterinary Institute, Nitra): *Evaluation of the Results of the ELISA Reaction in the Serological Diagnosis of Bovine Leukosis.* Veter. Med. (Praha), 32, 1987 (7) : 385-390.

Blood serum samples collected from two cattle herds were examined by the immunodiffusion test (ID), pseudotype neutralization test (PsNT) and ELISA procedure for the presence of antibodies to the bovine leukosis virus. The spectrophotometric readings of the ELISA procedure were evaluated on the basis of the arithmetical mean ($\bar{x}$) and standard deviation (Sd) of the values obtained in negative controls. The examination of 208 samples of serums taken in the negative herd confirmed in all cases a negative reaction in the ID and PsNT tests. In all samples the ELISA reaction values remained within the range delimited by the relation of $\bar{x} + 3$ Sd, which was defined as the threshold value of positive reaction. Out of the 223 serum samples of the positive herd, 132 samples were within the range below $\bar{x}$ and five of them were leukosis-positive in PsNT. Twenty-nine samples were within the range of $\bar{x} - \bar{x} + 3$ Sd; five of them were found positive in PsNT and three in the ID test. Sixty-two samples were above the threshold value of positivity; of these, positivity was confirmed in 58 cases by PsNT and in 55 cases by ID. As the results suggest, the ELISA procedure is suitable for the detection of animals positively reacting to bovine leukosis, to which special attention should be paid.

antibodies; serum; bovine leukosis

Adresy autorov:

MVDr. Ján Zajac, MVDr. Tomáš Žuffa, Bioveta, n. p., 949 01 Nitra

MVDr. Ján Černek, Státny veterinárny ústav, ul. Májového povstania českého ľudu č. 3, 949 01 Nitra

MORFOGENEZE VYCHLÍPENIN JADERNÉ BLÁNY NÁDOROVÝCH BUNĚK PŘI LEUKÓZE SKOTU

J. Holman

HOLMAN, J. (Vysoká škola veterinární, Brno): *Morfogeneze vychlípénin jaderné blány nádorových buněk při leukóze skotu*. Veter. Med. (Praha), 32, 1987 (7) : 391-398.

Při lymfatické leukémii skotu obsahují vychlípéniny jaderné blány nádorových buněk mizních uzlin část cytoplazmy a zpravidla promínují nad povrch jádra. Ohraničení mezi jadernými vychlípéninami a cytoplazmou vytváří stěna o síle 60 až 90 nm. Stěnu tvoří dvě kompletní jaderné blány 25 nm silné, mezi nimiž je 30 až 40 nm silná vrstva silně kondenzovaného heterochromatinu. Jaderné blány stěny jaderných vychlípénin nemají jaderné póry. Ve stěně jaderných vychlípénin se objevují rozsáhlé fúze, na jejichž stavbě se podílejí všechny tři vrstvy. Vychlípéniny jaderné blány vznikají na povrchu jádra po uzavření řas jaderné blány nebo po splnutí vrcholu řasy s povrchem jádra. Při vzniku řas jaderné blány se uplatňuje centriol. Mikrotubuly upínající se na jedné straně do centriolárních satelitů splývají na druhé straně s povrchem jádra.

mizní uzlina; heterochromatin; póry jaderné blány; fúze jaderné blány; centriol; mikrotubuly

Vychlípéniny jaderné blány (nuclear pockets) při povrchu jádra nádorových buněk byly pozorovány u skotu (Überschär, 1968; Fujimoto aj., 1969), u psa (Parker aj., 1967), u myši (Papadimitriou, 1966) i u člověka (McDuffie, 1967; Mollo a Stramignoni, 1967; Mollo a Prato, 1968). Příslušnost těchto útvarů pouze k nádorovým buňkám je však podmíněná, neboť tyto struktury byly prokázány i u normálních buněk rozličných živočišných druhů (Sebuwufu, 1966; Huhn, 1967; Smith a O'hara, 1967).

Výskyt vychlípénin jaderné blány nádorových buněk ve vztahu k různým formám onemocnění lymfatickou leukémií u skotu sledovali Miller aj. (1969). Současně potvrdili výsledky, které zjistili Weber aj. (1969), že leukemický skot s leukocytózou má v krvi šestkrát více lymfocytů s vychlípéninami jaderné blány, než je tomu u skotu s normálním hemogramem.

Morfogenezi vychlípénin jaderné blány leukocytů studovali u lidí s chromozomálními aberacemi Smith a O'hara (1968). V současné době se intenzivně studují otázky vzniku vychlípénin jaderné blány. Ahearn aj. (1974) zjistili velmi úzký vztah mezi kvantitativním výskytem vychlípénin jaderné blány buněk dřeně kostní u lidí a vývojovými stadii akutní leukémie a stupněm aneuploidie buněk kostní dřeně. To-

hoto vztahu se nyní využívá jako klinického testu v prognóze a léčení akutních leukémií u lidí (H a n c o c k aj., 1979).

Vychlípeniny jaderné blány jsou následným projevem složitých biochemických dějů a nelze je považovat pouze za následek rychlého množení nádorových buněk. Se vznikem vychlípenin jaderné blány dochází v postižených buňkách i k rozpadu mikrotubulárních struktur, což může být způsobeno vznikem polyploidie anebo aneuploidie (H a n c o c k aj., 1979).

MATERIÁL A METODY

K elektronmikroskopickému vyšetření metodou ultratenkých řezů byla odebírána tkáň z mizních uzlin supramamárních sedmi kusů skotu plemene české strakaté nebo plemene červený dánský skot ve věku od dvou do sedmi let se suspektním klinickým nálezem tumorózní lymfatické leukémie, podloženým hematologickým vyšetřením. Nemocný skot pocházel většinou ze ŠZP v Novém Dvoře, dále z ČSSS Vyškov, JZD Ořechov, JZD Rohoznice a JZD Rodov. Kontrolních pět kusů českého strakatého skotu ve věku od tří do pěti let pocházelo ze ŠZP Nový Jičín, farma Kunín. Zvířata byla klinicky zdravá, gravidní, určená k získávání bovinního fetálního séra na Pracovišti speciálních kultivačních sér VŠV v Brně.

Malé kousky tkáně o velikosti 1 × 1 × 3 mm byly z mizních uzlin získávány ihned po poražení na sanitní porážce, dříve než byla ze zvířat stažena kůže. Z některých zvířat mizní uzliny získávány *in vivo* exstirpací na chirurgické klinice VŠV v Brně.

Ihned po resekci byly tkáňové excize fixovány 6,3% glutaraldehydem v 0,1 M fosfátovém pufru (S a b a t i n i aj., 1963) dvě hodiny při teplotě 18 °C a potom byly dofixovány 1% kyslíčnickem osmičelým ve veronal-acetátovém pufru (P a l a d e, 1952) se sacharózou (C a u l f i e l d, 1957) dvě hodiny při teplotě 4 °C. Některé vzorky byly přímo fixovány 1% kyslíčnickem osmičelým ve veronal-acetátovém pufru se sacharózou dvě hodiny při teplotě 4 °C bez předchozí fixace. Po vyprání fixační tekutiny v příslušném pufru (3 × 15 minut při teplotě 4 °C) byly vzorky zality do směsi metakrylátu nebo Vestopalu W nebo do Eponu 812. Polymerace byla prováděna ultrafialovým světlem (směs metakrylátů) nebo teplem při teplotě 60 °C (Vestopal W, Epon 812).

Ultratenké tkáňové řezy byly krájeny na ultramikrotomu Reichert OmU2, montovány na měděné sítky s podložní formwarovou folií a na nich přehledně barveny octanem uranylu (W a t s o n, 1958) a dobarveny citrátem olovnatým (R e y n o l d s, 1963). Část ultratenkých řezů z každé excize byla barvena vlastní modifikací (H o l m a n, 1984) originální metody pro průkaz DNK v hydrolyzovaných řezech octanem uranylu (E r e n p r e i s a, 1981), která umožňuje lokalizaci chromatinu ve vztahu k buněčným membránám.

VÝSLEDKY

Vychlípeniny jaderné blány obsahují část cytoplazmy a prominují nad povrch jádra (obr. 1). Profily vychlípenin na ultratenkých řezech mají kulovitý až oválný tvar nebo prominují nad povrch jádra ve tvaru klíčky. Některé evaginace mají velmi složitý a bizarní tvar. V podobě ploché čepičky přiléhají k povrchu jádra (obr. 2). Jen zřídka lze prokázat intranukleární lokalizaci jaderných vychlípenin pod úrovní jaderného povrchu. Velikost vychlípenin jaderné blány je rozdílná. Vyskytují se od malých jednoduchých útvarů až po velké složité komplexní vychlípeniny jaderné blány. Rovněž četnost jejich výskytu na povrchu jaderné blány je velmi rozdílná. Většinou je řezem zachycena jedna až dvě vychlípeniny jaderné blány. Ojedinele však lze v jednom řezu prokázat na povrchu jediného jádra až pět vychlípenin jaderné blány.

1. Vychlípenina jaderné blány prominuje nad povrch jádra a obsahuje základní cytoplazmu s množstvím ribozomů — A nuclear pocket protrudes over nucleus surface and contains the basic cytoplasm with numerous ribosomes



2. Plochá vychlípenina jaderné blány s dobře vyznačenou třívrstevnou stěnou a četnými fúze-mi všech tří vrstev — A flat nuclear pocket with a well marked three-layer wall and numerous fusions of all the three layers

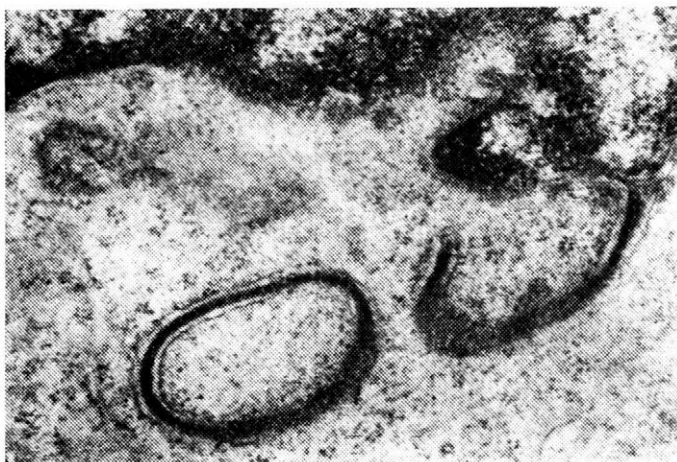


3. Nízké řasy jaderné blány, jejichž vrcholy mají snahu vzájemně splývat a uzavírat v sobě část cytoplazmy — The low plicae of nuclear membrane, the apices of which tend to fuse and close parts of cytoplasm inside





4. Vysoká řasa jaderné blány je zcela vyplněna marginálním chromatinem, který je výrazně obarven na hydrolyzovaném řezu pro průkaz DNA — A high plica of nuclear membrane is completely filled with marginal chromatin, which is clearly stained in a hydrolyzed section for the determination of DNA



5. Řasa jaderné blány se přiklání k povrchu jádra a uzavírá v sobě základní cytoplazmu s množstvím polyzomů — A nuclear membrane plica is inclined towards the surface of the nucleus and closes inside itself the basic cytoplasm with numerous polysomes



6. Mikrotubuly centriolárního aparátu splývají s povrchem řas jaderné blány a umožňují spojení jejich vrcholů — Microtubuli of the centriolar apparatus merge with the surface of the plicae of nuclear membrane and enable the fusion of the apices of the plicae

Strukturální rozdílnosti stěny jaderných vychlípenin vyplývají ze způsobu jejich vzniku a vývoje na povrchu jádra nádorové buňky. Počáteční stadia vychlípenin jaderné blány nacházíme v ultratenkých řezech poměrně zřídka. Jaderná blána nádorových lymfoidních buněk má snahu vytvářet množství řas a invaginací. Již nízké řasy jaderné blány mají tendenci svými vrcholy splývat a uzavírat v sobě část cytoplazmy (obr. 3). Jiné řasy jaderné blány jsou vysoké, vyplněné marginálním kondenzovaným chromatinem (obr. 4). Vrchol těchto vysokých řas jaderné blány má snahu se přiklánět k povrchu jádra (obr. 5). Povrch řasy nemusí být hladký a vymizení jaderné blány na části jejího povrchu dokazuje, že kondenzovaný heterochromatin řasy reaguje s okolní cytoplazmou. Morfogenezí jaderných vychlípenin z vychlípujících se řas jaderné blány lze pozorovat na sériových ultratenkých řezech. Interakce stěny jaderných vychlípenin s cytoplazmou vně i uvnitř vychlípenin se projevuje výraznou fúzí jaderné blány a vymizením perinukleárního prostoru. Při vzniku řas jaderné blány se uplatňuje centriol (obr. 6). Mikrotubuly upínající se na jedné straně do centriolárních satelitů splývají na druhé straně s povrchem jádra.

DISKUSE

Vychlípeniny jaderné blány byly v menším počtu prokázány i v lymfocytech normálních uzlin (Han, 1961; Moe, 1964; Movat a Fernando, 1964). Také Smith a O'hara (1968) zjistili řídký výskyt vychlípenin jaderné blány v bílých krvinkách periferní krve u zdravých lidí. Zvýšenou frekvenci výskytu vychlípenin jaderné blány u skotu s pokročilou formou lymfosarkomatózy v lymfocytech popsali jak Miller aj. (1969), tak i Weber aj. (1969). Průkazně zvýšený výskyt vychlípenin jaderné blány v lymfocytech nebo v lymforetikulárních buňkách všeobecně však není charakteristický pouze pro onemocnění lymfatickou leukémií. Byl pozorován v buňkách nediferencovaného nádoru u křečka (Merkow aj., 1968), v buňkách lidské retinoblastomy (Popoff a Ellsworth, 1969) a v buňkách adenomu příušní slinné žlázy a plicního karcinomu (Mollo aj., 1969). Bohatý výskyt vychlípenin jaderné blány nádorových buněk v našich ultratenkých řezech je v souladu s pozorováními, která popsali Miller aj. (1969) i Weber aj. (1969), neboť materiál pro náš výzkum byl odebírán z makroskopicky tumorózně změněných mízních uzlin skotu (Holman, 1982). Mollo a Stramignoni (1967) uvádějí, že výskyt velkého množství vychlípenin jaderné blány může být důsledkem zvýšené aktivity buněk jako odpověď na nespecifickou antigenní stimulaci.

Morfogeneze vychlípenin jaderné blány lymfoidních i myeloidních buněk je otázkou, o které se velmi diskutuje. Předpokládá se, že vznikají defektem pohybu chromozomů v průběhu předcházející mitózy (McDuffie, 1967; Duplan aj., 1969). Smith a O'hara (1968) přejmenovali jaderné vychlípeniny na jaderné kapsy (nuclear pockets) a na základě studia sériových ultratenkých řezů vytvořili jejich morfogenetickou teorii. Zjistili, že úseky cytoplazmy uzavřené v jaderných kapsách souvisejí s extranukleolární cytoplazmou a u okrouhlých okrásků, které se zdají být izolované od jádra, se v hlubší rovině řezu projevuje přímá souvislost s jádrem. Tyto skutečnosti vedly autory k závěru,

že jaderné kapsy jsou vytvářeny prstovitými invaginacemi cytoplazmy do jádra. Potom je vzhled průřezů závislý na tom, zda prstovité invaginace směřují do jádra, z jádra nebo paralelně s jeho povrchem. Zatímco Miller aj. (1969) připouštějí, že vychlípeniny jaderné blány u nádorových buněk při lymfosarkomatóze skotu mohou vznikat uvedeným způsobem (Smith a O'hara, 1968), Weber aj. (1969) zjistili, že jaderné kapsy vznikají spíše evaginací jaderné blány než invaginací cytoplazmatických výběžků do jádra. V našich ultratenkých řezech jsme většinou prokázali vychlípeniny jaderné blány jednoduché stavby, podobně, jak se o tom zmiňují Miller aj. (1969). Neprokládali jsme průřezy, které by měly stěnu tak komplikovanou, aby jejich morfogeneze odpovídala opačnému způsobu, tj. cestou invaginací výběžků cytoplazmy do jádra. Ke stejnému závěru dospěli i Weber aj. (1969).

Literatura

- AHEARN, M. J. — TRUJILLO, J. M. — CORK, A.: The association of nuclear blebs with aneuploidy in human acute leukemia. *Canc. Res.*, 34, 1974, s. 2887.
- CAULFIELD, J. B.: Effects of varying the vehicle for OsO₄ in tissue fixation. *J. biophys. biochem. Cytol.*, 3, 1957, s. 827-829.
- DUPLAN, J. F. — BESSIS, M. — BRETON-GORIUS, J.: Les appendices nucleaires (caryochizes) des granulocytes après irradiation générale. *Étude du microscope électronique. Nouv. Rev. franc. Hémat.*, 9, 1969, s. 205.
- ERENPREISA, J.: Staining of DNA with uranylacetate in hydrolysed ultrathin section. *Acta histochem.*, 68, 1981, s. 22-26.
- FUJIMOTO, Y. — MILLER, J. — OLSON, C.: The fine structure of lymphosarcoma in cattle. *Path. veter.*, 6, 1969, s. 15-29.
- HAN, S. S.: The ultrastructure of the mesenteric lymph node of the rat. *Amer. J. Anat.*, 109, 1961, s. 183-225.
- HANCOCK, R. L. — McDUFFIE, N. G. — SINCLAIR, D. B.: Theoretical mechanism for synthesis of carcinogen-induced embryonic proteins: IV. The viruses. *Med. Hypotheses*, 5, 1979, s. 383-402.
- HOLMAN, J.: Ultrastruktura vychlípenin jaderné blány lymfoidní buňky skotu. *Veter. Med. (Praha)*, 27, 1982, s. 165-173.
- HOLMAN, J.: Barvení chromatinu v ultratenkých řezech lymfoidní buňky skotu. In: *Zbor. I. veter. onkol. dní. ŮEVM Košice*, 1984, s. 74-77.
- HUHN, D.: Nuclear pockets in normal monocytes. *Nature*, 216, 1967, s. 1240.
- McDUFFIE, N. G.: Nuclear blebs in human leukaemic cells. *Nature*, 214, 1967, s. 1341.
- MERKOW, I. — SLIFKIN, M. — PARDO, M. — RAPOZA, N. P.: Studies on the pathogenesis of Simian adenovirus-induced tumors. *J. Nat. Cancer Inst.*, 41, 1968, s. 1051-1070.
- MILLER, J. M. — MILLER, L. D. — GILLETTE, K. G. — OLSON, C.: Incidence of lymphocytic nuclear projections in bovine lymphosarcoma. *J. Nat. Cancer Inst.*, 43, 1969, s. 719-725.
- MOE, R. E.: Electron microscopic appearance of the parenchyma of lymph nodes. *Amer. J. Anat.*, 114, 1964, s. 341-369.
- MOLLO, F. — PRATO, V.: Nuclear projections in eosinophils. *Lancet*, 1, 1968, s. 924-925.
- MOLLO, F. — STRAMIGNONI, A.: Nuclear projections in blood and lymph node cells of human leukemias and Hodgkin's disease and in lymphocytes cultured with phytohaemagglutinin. *Brit. J. Canc.*, 21, 1967, s. 519-523.
- MOLLO, F. — CANESE, M. G. — STRAMIGNONI, A.: Nuclear sheets in epithelial and connective tissue cells. *Nature*, 221, 1969, s. 869-870.
- MOVAT, H. Z. — FERNANDO, N. V. P.: The fine structure of lymphoid tissue. *Exp. molec. Path.*, 3, 1964, s. 546-568.
- PALADE, G. E.: A study of fixation for electron microscopy. *J. exp. Med.*, 95, 1952, s. 285-298.

- PAPADIMITRIOU, J. M.: Electron microscopic findings of a murine lymphoma associated with rheovirus type 3 infection. *Proc. Soc. exp. Biol. Med.*, 121, 1966, s. 93-96.
- PARKER, J. W. — WAKASA, H. — LUKES, R. J.: Canine and Burkitt's lymphomas. *Lancet*, 1, 1967, s. 214-215.
- POPOFF, N. — ELLSWORTH, R. M.: The fine structure of nuclear alterations in retinoblastoma and in the developing human retina. *Anat. Rec.*, 163, 1969, s. 245.
- REYNOLDS, E. S.: The use of lead citrate at high pH as an electron-opaque stain in electron microscopy. *J. Cell Biol.*, 17, 1963, s. 208-212.
- SABATINI, D. D. — BENSCH, K. — BARNETT, R. J.: Cytochemistry and electron microscopy. The preservation of cellular ultrastructure and enzymatic activity by aldehyde fixation. *J. Cell Biol.*, 17, 1963, s. 19-58.
- SEBUWUFU, P. H.: Nuclear blebs in the human foetal thymus. *Nature*, 212, 1966, s. 1382-1383.
- SMITH, G. F. — O'HARA, P. T.: Nuclear pockets in normal leucocytes. *Nature*, 215, 1967, s. 773.
- SMITH, G. F. — O'HARA, P. T.: Structure of nuclear pockets in human leucocytes. *J. ultrastruct. Res.*, 21, 1968, s. 415-423.
- ÜBERSCHÄR, S.: Zytologische Untersuchungen bei der Rinderleukose. *Zbl. Veter.-Med.*, 15, 1968, s. 163-173.
- WATSON, M. L.: Staining of tissue section for electron microscopy with heavy metals. *J. biophys. biochem. Cytol.*, 4, 1958, s. 475-478.
- WEBER, A. — ANDREWS, J. — DICKINSON, B. — LARSON, V. — HAMMER, R. — DIRKS, V. — SORENSON, D. — FROMMES, S.: Occurrence of nuclear pockets in lymphocytes of normal, persistent lymphocytic and leukemic adult cattle. *J. Nat. Cancer Inst.*, 43, 1969, s. 1307-1315.

Došlo dne 22. 9. 1986

ГОЛМАН, Я. (Ветеринарный институт, Брно): **Морфогенез выбухания ядерной оболочки blastоматозных клеток при лейкозе у скота.** *Veter. Med. (Praha)*, 32, 1987 (7) : 391-398.

При лимфатической лейкемии у скота содержат выбухания ядерной оболочки blastоматозных клеток лимфатических узлов часть цитоплазмы и как правило располагаются над поверхностью ядра. Ограничения между ядерными выбуханиями и цитоплазмой создают стену толщиной 60—90 нм. Стену создают две комплекты ядерные оболочки толщиной 25 нм, между ними имеется слой толщиной 30—40 нм конденсированного хроматина. У ядерных оболочек стены ядерных выбуханий нет ядерных пор. В стенах ядерных выбуханий появляются обширные слияния, на создании которых принимают участие все три слоя. Выбухания ядерной оболочки возникают на внешней стороне ядра после закрытия ресниц ядерной оболочки или слияния верхушки ресницы с поверхностью ядра. Во время возникновения ресниц ядерной оболочки действует центриол. Микротубулы прикрепленные с одной стороны на центролярных сателлитах сливаются с другой стороны с поверхностью ядра.

лимфатический узел; гетерохроматин; поры ядерной оболочки; слияние ядерной оболочки; центриол; микротубулы

HOLMAN, J. (University of Veterinary Medicine, Brno): **Morphogenesis of Nuclear Pockets in the Tumour Cells in Cattle Suffering from Bovine Leukosis.** *Veter. Med. (Praha)*, 32, 1987 (7) : 391-398.

In cases of lymphatic bovine leukemia, the nuclear pockets of the tumour cells in the lymph nodes contain part of cytoplasm and usually protrude above nucleus surface. A wall 60 to 90 nm thick forms the boundary between the nuclear pockets and cytoplasm. The wall consists of two complete nuclear membranes 25 nm thick with a 30—40 nm layer of heavily condensed heterochromatin in between. The nuclear membranes of the walls of the pockets have no nuclear pores. Extensive fusions, built from all the three layers, occur in the walls of the nuclear pockets. These pockets appear on nucleus surface when the plicae of the nuclear membrane are closed or when the apex of the plica merges with nucleus surface. Centriol

is involved in the rise of the plicae of the nuclear membrane. The microtubuli inserted in the centriolar satellites on the one side merge with nucleus surface on the other side.

lymph node; heterochromatin; nuclear membrane pores; fusion of nuclear membrane; centriol; microtubuli

HOLMAN, J. (Veterinärmedizinische Hochschule, Brno): *Morphogenese der Ausstülpungen der Kernhaut von Geschwulstzellen bei der Rinderleukose*. Veter. Med. (Praha), 32, 1987 (7) : 391-398.

Bei der lymphatischen Rinderleukämie enthalten Ausstülpungen der Kernhaut der Geschwulstzellen der Lymphknoten einen Teil des Zytoplasma und sind in der Regel über der Kernoberfläche angeordnet. Die Begrenzung zwischen den Kernausstülpungen und dem Zytoplasma bildet eine etwa 60 bis 90 nm dicke Wand. Diese Wand bilden zwei komplette Kernhäute von 25 nm Stärke, zwischen denen sich eine 30 bis 40 nm dicke Schicht aus stark kondensiertem Heterochromatin befindet. Die Kernhäute der Wand der Kernausstülpungen besitzen keine Kernporen. In den Wänden der Kernausstülpungen sind umfangreiche Fusionen zu verzeichnen, an deren Struktur alle drei Schichten beteiligt sind. Die Ausstülpungen der Kernhaut entstehen an der Kernoberfläche nach der Schließung der Kernhautfalten oder nach der Verschmelzung des Faltengipfels mit der Kernoberfläche. Bei der Entstehung der Kernhautfalten betätigt sich das Zentriol. Die sich an einer Seite an die zentriolären Satelliten anknüpfenden Mikrotubuli fließen andererseits mit der Kernoberfläche zusammen.

Lymphknoten; Heterochromatin; Kernhautporen; Kernhautfusion; Zentriol; Mikrotubuli

Adresa autora:

Doc. MVDr. Jaroslav Holman, CSc., Vysoká škola veterinární, Palackého 1-3, 612 42 Brno

HLADINA NIEKTORÝCH METABOLITOV V KRVI KRÁV POČAS 24 HODÍN

J. Gabriš, A. Ďuran

GABRIŠ, J. — ĎURAN, A. (Vysoká škola veterinárska, Košice): *Hladina niektorých metabolitov v krvi kráv počas 24 hodín*. Veter. Med. (Praha), 32, 1987 (7) : 399-407.

Od štyroch čiernostrakatých kráv sme odoberali vzorky krvi z *vena subcutanea abdominis sinistra* v jedn hodinových intervaloch v priebehu 24 hodín. Pri sledovaných zložkách krvi (obsah bielkovín, glukózy, popola a sušiny) sme nezistili výraznú cirkadiannu dynamiku. Množstvo bielkovín bolo počas 24 hodín rovnaké. U hladiny glukózy sa prejavovali náznaky dynamiky s poklesom od 12.00 do 14.00 hodiny, potom so zvyšovaním do nočných hodín (1.00 až 3.00 hodina) a s následným klesaním v druhej polovici noci a dopoludnia. Pri obsahu sušiny v krvi dojnic sa prejavovala výraznejšia dynamika s nižšími hodnotami od 3.00 do 12.00 hodiny. Obsah popola stúpал od 12.00 do 20.00 hodiny, potom sa zmenšoval.

sušina; popol; glukóza; bielkoviny; cirkadianna dynamika

Jedným z objektov pozorovania interiéru zvierat je krv, ktorá má mimo iné mimoriadny význam pre látkovú premenu. Z toho logicky vyplynulo, že intenzita látkovej premeny sa dáva do súvisu s produkciou mlieka a jeho skladbou (Staroverov a i., 1955; Patterson a i., 1960; Schultze, 1960; Gabriš a i., 1975 a ďalší). Existujú výrazné metabolické rozdiely pri rôznych plemenách hovädzieho dobytku, ktoré sú geneticky podmienené (Holmes a Robinson, 1970). Bondarenko a i. (1977), Bulla a i. (1978) uvádzajú koeficienty opakovateľnosti pre koncentráciu glukózy a fosforu v krvnej plazme býčkov s hodnotami okolo 0,32, resp. 0,42. Bulla a i. (1978) zistili, že opakovateľnosť koncentrácie metabolitov a aktivity jednotlivých plazmatických enzýmov je rôzna a závisí od genetického pôvodu testovaných zvierat. Bulla (in: Antal a i., 1983) konštatuje, že zmeny aktivity plazmatických enzýmov a koncentrácie metabolitov pomerne objektívne vyjadrujú priebeh procesov, ktoré sa uskutočňujú v organizme počas rastu, vývinu a produkcie. Poskytujú cenné informácie o zdravotnom stave, vplyvoch prostredia a adaptačných schopnostiach zvierat. Dokázaná genetická variabilita medzi zvieratami v zložení ich krvných komponentov, telových tekutín a tkanív úzko súvisí s biochemickou, fyziologickou a anatomickou diferenciáciou a premenlivosť týchto charakteristík sa nemôže vysvetľovať len na základe zmien a vplyvov prostredia (Blosser, 1979).

Existujú rozdiely medzi konštitučne a úžitkovo rozdielnymi typmi,

ako to uvádzajú Mácha a i. (1972), Gabriš a i. (1975) a Mazmunder a Spooner [cit. Antal a i., 1983].

Štúdiu cirkadianných zmien v dynamike metabolitov, ale hlavne v dynamike aktivity enzýmov, venovali pozornosť najmä v humánnej medicíne u zdravých alebo chorých ľudí Massarata (1964), Seaman a i. (1965) a ďalší autori, ktorých citujú Hagemester a Unshelm (1968). Dynamiku zmien krvných zložiek krvi kráv sledovali Hagemester a Unshelm (1968) a Unshelm a Rappen (1968) od 8.00 do 18.00 hodiny. Page a i. (1960) sledovali zmeny v krvi v priebehu dňa pri ožiarení slnkom počas pobytu na pastve. Dynamiku krvných zložiek sledovali aj vo vzťahu k veku zvierat od teliat do dospelosti (Bondarenko a i., 1977; Bulla, in: Antal a i., 1983) a ďalší.

V našej práci chceme prispieť k poznaniu cirkadiannej dynamiky niektorých metabolitov v krvi kráv.

MATERIÁL A METÓDA

Od štyroch pokusných dojníc čiernostrakatého plemena, chovaných na ŠM Valaliky, hospodárstvo Haniska, sme odoberali krv z *vena subcutanea abdominis sinistra* v jedn hodinových intervaloch po dobu 24 hodín.

Pokusné dojnice boli zdravé, ustajnené vedľa seba, ošetrované a kŕmené rovnako. Boli v druhej laktácii a dva až tri mesiace po pôrode. 48 hodín pred odberom im boli do podbrušnej žily zavedené kanyly podľa vlastného postupu (Duran a i., 1985). Išlo o dojnice menej výkonné, s odberom vzoriek na vrchole laktácie; kŕmené boli zimným typom kŕmnej dávky na báze kukuričnej siláže s vyrovnaním podľa úžitkovosti.

Odobratá vzorka krvi (15 ml) bola v laboratóriu ihneď spracovaná. Obsah bielkovín sme určili Kjehldahlovou metódou s prepočítacím koeficientom 6,25; obsah popola spaľením do konštantnej hmotnosti, sušiny vysušením pri teplote 105 °C do konštantnej hmotnosti a glukózy Bio-La-testom Lachema.

Výsledky sa spracovali variačne štatisticky s určením 5% intervalu spoľahlivosti.

VÝSLEDKY

Priemerné hodnoty hladiny sledovaných metabolitov v krvi dojníc sú vypočítané z 96 vzoriek krvi získanej v hodinových intervaloch za 24 hodín od štyroch dojníc. Obsah bielkovín je 73,086 g.l⁻¹, glukózy 3,353 mmol.l⁻¹, sušiny 15,877 % a popola 0,878 %. Variabilita je nízka, keď variačný koeficient *v* pre bielkoviny je len 1,36; najvyšší variačný

I. Priemerné hodnoty niektorých metabolitov v krvi dojníc za 24 hodín — The average values of some metabolites in the blood of dairy cows within 24 hours

Ukazovateľ	$\bar{x} \pm s_{\bar{x}}$	<i>s</i>	<i>v</i>	5% interval spoľahlivosti
Bielkoviny g.l ⁻¹	73,086 ± 0,101	0,993	1,36	72,888 ≤ $\bar{x}$ ≤ 73,287
Glukóza mmol.l ⁻¹	3,353 ± 0,014	0,135	4,01	3,225 ≤ $\bar{x}$ ≤ 3,380
Sušina %	15,877 ± 0,087	0,859	5,41	15,706 ≤ $\bar{x}$ ≤ 16,047
Popol %	0,878 ± 0,006	0,063	7,18	0,866 ≤ $\bar{x}$ ≤ 0,890

koeficient je pre popul — 7,18. Tomu zodpovedá aj rozpätie 5% intervalu spoľahlivosti (tab. I).

Obsah bielkovín v krvi dojnic v priebehu 24 hodín kolísal len veľmi málo, a to medzi 73,137 g.l⁻¹ o 15.00 hodine a 72,980 g.l⁻¹ o 14.00 hodine, čo je rozdiel 0,157 g.l⁻¹ (obr. 1). Obsah bielkovín v krvi dojnic v priebehu 24 hodín neprejavoval výraznejšiu dynamiku, pohyboval sa skoro v jednej rovine (tab. II).

U glukózy v krvi sa v priebehu 24 hodín prejavovali náznaky dynamiky, a to s poklesom od 12.00 do 14.00 hodiny, a potom so vzostupom do 1.00 a do 3.00 hodiny a následným klesaním až do 11.00 hodiny (obr. 2). Najvyššia hodnota bola zistená o 12.00 hodine — 3,436 mmol.l⁻¹, najnižšia o 10.00 hodine — 3,311 mol.l⁻¹ (rozdiel 0,127 mmol.l⁻¹) s následným zvýšením do 12.00 hodiny (tab. III).

Obsah sušiny v krvi dojnic v priebehu 24 hodín mal už výraznejšiu dynamiku s nižšími hodnotami v úseku od 3.00 do 12.00 hodiny (obr. 3). Najvyšší obsah sušiny v krvi dojnic bol zistený o 23.00 hodine — 16,495 %, najnižší o 5.00 hodine — 14,942 % (rozdiel je 1,553 %) (tab. IV).

Obsah popola v krvi dojnic stúpal od 12.00 do 24.00 hodiny, kedy dosiahol maxima — 0,945 %, najnižší bol o 13.00 a 4.00 hodine, a to 0,835 % (rozdiel je 0,110 %). Po dosiahnutí maxima nasledoval pokles a potom sa obsah popola pohyboval na nižšej úrovni s náznakom ďalšieho poklesu od 3.00 hodiny (obr. 4). Ani u tohto ukazovateľa nebola dynamika v priebehu 24 hodín výrazná (tab. V). Zdá sa, že ide o náznak paralely s obsahom sušiny v krvi dojnic.

DISKUSIA

Ako uvádzajú Seaman a i. (1965), v krvi ľudí je v priebehu dňa značný rozdiel v obsahu bielkovín. Najnižšie hodnoty zistili o 4.00 hodine, najvyššie o 18.00 hodine. Ide o výraznú dynamiku, ktorá sa opakuje pri opakovaných odberoch. Naproti tomu Massarata (1964) nezistil podstatnejšie rozdiely pri štvorhodinových intervaloch odberu. V našom materiále sa dynamika obsahu bielkovín v krvi kráv neukázala.

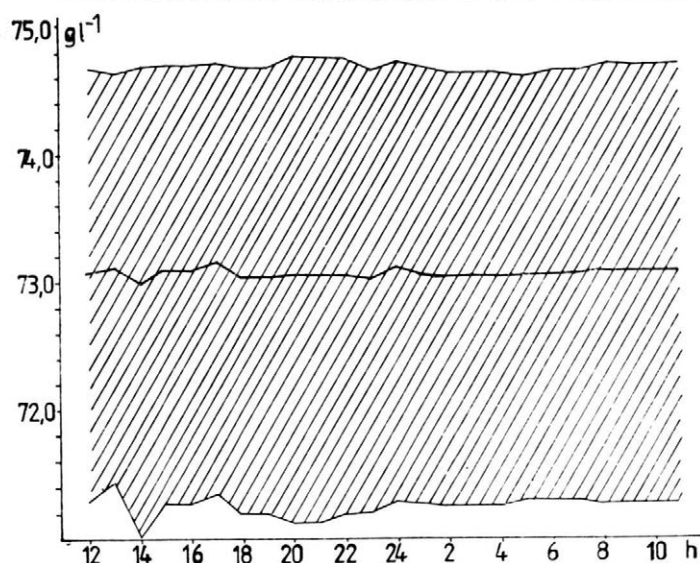
V krvi dojnic v priebehu 24 hodín prejavovala glukóza náznak dynamiky so vzostupom hodnôt odpoľudnia až do nočných hodín a s poklesom ku koncu noci a dopoludnia. Zvýšenie hladiny glukózy v krvi dojnic v nočných hodinách môže súvisieť s nezvyčajným vzrušením pri odbere. Pri štúdiu vplyvu slnečnej radiácie počas pobytu na pastve uvádzajú Page a i. (1960) v dobe slnečného svitu postupný pokles hladiny glukózy. Tiež Holmes a Robinson (1970) uvádzajú dynamické zmeny v obsahu glukózy v krvi zvierat.

Výraznú dynamiku v hladine rôznych minerálnych látok v krvi dojnic zistili pri sledovaní od 8.00 do 18.00 hodiny Unshelm a Rappon (1968) a pre aktivitu enzýmov Hagemester a Unshelm (1968).

Z uvedených výsledkov vyplýva, že pri hodnotení hladiny metabolitov treba brať do úvahy dennú dobu, kedy boli vzorky odoberané, lebo inakšie sa môžu ukázať ťažko vysvetliteľné nezrovnalosti vo výsledkoch.

II. Obsah bielkovín v krvi dojnic v hodinových intervaloch (g.l⁻¹) — Protein content in the blood of dairy cows in hourly intervals (g per litre)

Hodina	$\bar{x} \pm s_{\bar{x}}$	s	v	5% interval spoľahlivosti
12.00	73,080 $\pm$ 0,561	1,122	1,53	71,295 $\leq \bar{x} \leq$ 74,865
13.00	73,140 $\pm$ 0,534	1,068	1,46	71,441 $\leq \bar{x} \leq$ 74,893
14.00	72,970 $\pm$ 0,597	1,195	1,64	71,070 $\leq \bar{x} \leq$ 74,870
15.00	73,100 $\pm$ 0,569	1,137	1,55	71,289 $\leq \bar{x} \leq$ 74,910
16.00	73,100 $\pm$ 0,569	1,137	1,55	71,289 $\leq \bar{x} \leq$ 74,910
17.00	73,137 $\pm$ 0,559	1,117	1,53	71,358 $\leq \bar{x} \leq$ 74,916
18.00	73,042 $\pm$ 0,575	1,150	1,57	71,212 $\leq \bar{x} \leq$ 74,872
19.00	73,042 $\pm$ 0,575	1,150	1,57	71,212 $\leq \bar{x} \leq$ 74,872
20.00	73,062 $\pm$ 0,599	1,199	1,64	71,156 $\leq \bar{x} \leq$ 74,968
21.00	73,062 $\pm$ 0,599	1,199	1,64	71,165 $\leq \bar{x} \leq$ 74,968
22.00	73,075 $\pm$ 0,590	1,181	1,61	71,198 $\leq \bar{x} \leq$ 74,952
23.00	73,042 $\pm$ 0,575	1,150	1,57	71,212 $\leq \bar{x} \leq$ 74,872
24.00	73,112 $\pm$ 0,572	1,145	1,57	71,292 $\leq \bar{x} \leq$ 74,932
1.00	73,080 $\pm$ 0,563	1,126	1,37	71,288 $\leq \bar{x} \leq$ 74,871
2.00	73,055 $\pm$ 0,563	1,126	1,54	71,263 $\leq \bar{x} \leq$ 74,846
3.00	73,055 $\pm$ 0,563	1,126	1,54	71,263 $\leq \bar{x} \leq$ 74,846
4.00	73,055 $\pm$ 0,563	1,126	1,54	71,263 $\leq \bar{x} \leq$ 74,846
5.00	73,067 $\pm$ 0,553	1,107	1,51	71,307 $\leq \bar{x} \leq$ 74,827
6.00	73,087 $\pm$ 0,559	1,118	1,53	71,308 $\leq \bar{x} \leq$ 74,866
7.00	73,087 $\pm$ 0,559	1,118	1,53	71,308 $\leq \bar{x} \leq$ 74,866
8.00	73,100 $\pm$ 0,569	1,137	1,55	71,289 $\leq \bar{x} \leq$ 74,910
9.00	73,100 $\pm$ 0,569	1,137	1,55	71,289 $\leq \bar{x} \leq$ 74,910
10.00	73,100 $\pm$ 0,569	1,137	1,55	71,289 $\leq \bar{x} \leq$ 74,910
11.00	73,100 $\pm$ 0,569	1,137	1,55	71,289 $\leq \bar{x} \leq$ 74,910

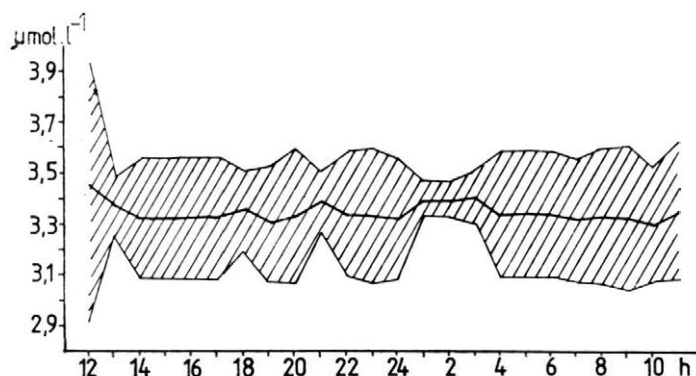


1. Obsah bielkovín v krvi kráv v priebehu 24 hodín — Protein content in the blood of dairy cows within 24 hours

III. Hladina glukózy v krvi dojnic v hodinových intervaloch mmol.l⁻¹ — Glucose level in the blood of dairy cows in hourly intervals in mmol per litre

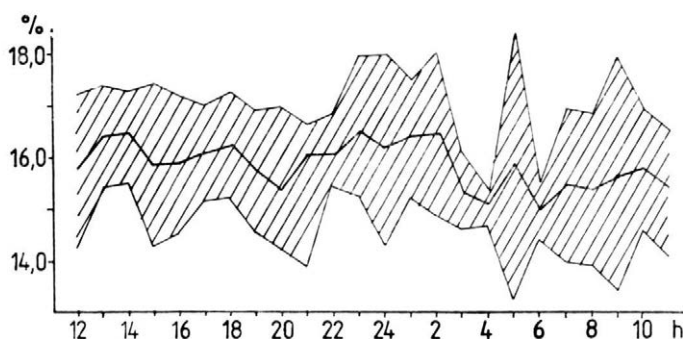
Hodina	$\bar{x} \pm s\bar{x}$	s	v	5% interval spoľahlivosti
12.00	3,438 $\pm$ 0,162	0,325	9,44	2,922 $\leq \bar{x} \leq$ 3,953
13.00	3,370 $\leq$ 0,037	0,074	2,19	3,252 $\leq \bar{x} \leq$ 3,488
14.00	3,329 $\pm$ 0,074	0,148	4,46	3,093 $\leq \bar{x} \leq$ 3,564
15.00	3,329 $\pm$ 0,074	0,148	4,46	3,093 $\leq \bar{x} \leq$ 3,564
16.00	3,330 $\pm$ 0,075	0,150	4,50	3,091 $\leq \bar{x} \leq$ 3,569
17.00	3,330 $\pm$ 0,075	0,150	4,50	3,091 $\leq \bar{x} \leq$ 3,569
18.00	3,356 $\pm$ 0,049	0,098	2,94	3,200 $\leq \bar{x} \leq$ 3,512
19.00	3,311 $\pm$ 0,070	0,139	4,21	3,088 $\leq \bar{x} \leq$ 3,534
20.00	3,341 $\pm$ 0,082	0,163	4,89	3,080 $\leq \bar{x} \leq$ 3,602
21.00	3,396 $\pm$ 0,038	0,077	2,27	3,275 $\leq \bar{x} \leq$ 3,517
22.00	3,347 $\pm$ 0,077	0,154	4,61	3,102 $\leq \bar{x} \leq$ 3,592
23.00	3,341 $\pm$ 0,082	0,163	4,87	3,080 $\leq \bar{x} \leq$ 3,602
24.00	3,329 $\pm$ 0,074	0,148	4,46	3,093 $\leq \bar{x} \leq$ 3,564
1.00	3,404 $\pm$ 0,023	0,047	1,39	3,331 $\leq \bar{x} \leq$ 3,477
2.00	3,404 $\pm$ 0,023	0,047	1,39	3,331 $\leq \bar{x} \leq$ 3,447
3.00	3,414 $\pm$ 0,033	0,066	1,94	3,309 $\leq \bar{x} \leq$ 3,519
4.00	3,347 $\pm$ 0,077	0,154	5,14	3,102 $\leq \bar{x} \leq$ 3,592
5.00	3,349 $\pm$ 0,078	0,156	4,65	3,101 $\leq \bar{x} \leq$ 3,596
6.00	3,347 $\pm$ 0,077	0,154	4,61	3,102 $\leq \bar{x} \leq$ 3,592
7.00	3,329 $\pm$ 0,074	0,148	4,46	3,093 $\leq \bar{x} \leq$ 3,564
8.00	3,341 $\pm$ 0,082	0,163	4,89	3,080 $\leq \bar{x} \leq$ 3,602
9.00	3,336 $\pm$ 0,088	0,177	5,30	3,056 $\leq \bar{x} \leq$ 3,616
10.00	3,311 $\pm$ 0,069	0,139	4,21	3,088 $\leq \bar{x} \leq$ 3,534
11.00	3,359 $\pm$ 0,083	0,167	4,97	3,094 $\leq \bar{x} \leq$ 3,623

2. Obsah glukózy v krvi kráv v priebehu 24 hodín — Glucose content in the blood of dairy cows within 24 hours



IV. Sušina v krvi dojnic v hodinových intervaloch (‰) — Dry matter level in the blood of dairy cows in hourly intervals (‰)

Hodina	$\bar{x} \pm s_{\bar{x}}$	s	v	5% interval spoľahlivosti
12.00	15,742 $\pm$ 0,472	0,944	5,99	14,240 $\leq \bar{x} \leq$ 17,244
13.00	16,405 $\pm$ 0,317	0,634	3,86	15,396 $\leq \bar{x} \leq$ 17,414
14.00	16,445 $\pm$ 0,300	0,599	3,64	15,490 $\leq \bar{x} \leq$ 17,300
15.00	15,850 $\pm$ 0,489	0,979	6,18	14,294 $\leq \bar{x} \leq$ 17,406
16.00	15,875 $\pm$ 0,413	0,825	6,30	14,561 $\leq \bar{x} \leq$ 17,189
17.00	16,082 $\pm$ 0,294	0,587	3,65	15,146 $\leq \bar{x} \leq$ 17,017
18.00	16,232 $\pm$ 0,325	0,649	4,00	15,198 $\leq \bar{x} \leq$ 17,266
19.00	15,737 $\pm$ 0,372	0,745	4,73	14,553 $\leq \bar{x} \leq$ 16,921
20.00	15,360 $\pm$ 0,503	1,007	6,55	13,759 $\leq \bar{x} \leq$ 16,960
21.00	16,030 $\pm$ 0,190	0,380	2,37	15,425 $\leq \bar{x} \leq$ 16,634
22.00	16,045 $\pm$ 0,252	0,504	3,14	15,243 $\leq \bar{x} \leq$ 16,847
23.00	16,495 $\pm$ 0,460	0,920	5,58	15,031 $\leq \bar{x} \leq$ 17,959
24.00	16,192 $\pm$ 0,555	1,110	6,86	14,256 $\leq \bar{x} \leq$ 17,959
1.00	16,375 $\pm$ 0,345	0,690	4,21	15,277 $\leq \bar{x} \leq$ 17,473
2.00	16,452 $\pm$ 0,502	1,004	6,10	14,855 $\leq \bar{x} \leq$ 18,049
3.00	15,320 $\pm$ 0,225	0,450	2,94	14,604 $\leq \bar{x} \leq$ 16,036
4.00	15,007 $\pm$ 0,105	0,210	1,39	14,673 $\leq \bar{x} \leq$ 15,341
5.00	15,842 $\pm$ 0,810	1,621	10,23	13,264 $\leq \bar{x} \leq$ 18,419
6.00	14,942 $\pm$ 0,171	0,342	2,29	14,398 $\leq \bar{x} \leq$ 15,486
7.00	15,442 $\pm$ 0,461	0,922	5,97	13,975 $\leq \bar{x} \leq$ 16,909
8.00	15,380 $\pm$ 0,458	0,916	5,96	13,923 $\leq \bar{x} \leq$ 16,837
9.00	15,657 $\pm$ 0,712	1,423	6,39	13,391 $\leq \bar{x} \leq$ 17,922
10.00	15,777 $\pm$ 0,360	0,720	4,56	14,631 $\leq \bar{x} \leq$ 16,922
11.00	15,355 $\pm$ 0,398	0,796	5,18	14,088 $\leq \bar{x} \leq$ 16,621

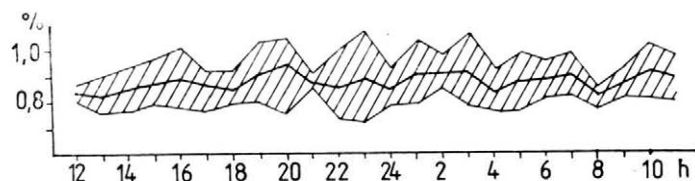


3. Obsah sušiny v krvi kráv v priebehu 24 hodín — Dry matter content in the blood of dairy cows within 24 hours

V. Obsah popola v krvi dojnic v hodinových intervaloch (‰) — Ash content in the blood of dairy cows in hourly intervals (‰)

Hodina	$\bar{x} \pm s_{\bar{x}}$	s	v	5% interval spoľahlivosti
12.00	0,842 $\pm$ 0,010	0,021	2,45	0,810 $\leq \bar{x} \leq$ 0,874
13.00	0,835 $\pm$ 0,022	0,043	5,22	0,765 $\leq \bar{x} \leq$ 0,905
14.00	0,857 $\pm$ 0,027	0,054	6,34	0,771 $\leq \bar{x} \leq$ 0,943
15.00	0,882 $\pm$ 0,029	0,058	6,63	0,790 $\leq \bar{x} \leq$ 0,974
16.00	0,900 $\pm$ 0,037	0,074	8,21	0,782 $\leq \bar{x} \leq$ 1,018
17.00	0,875 $\pm$ 0,034	0,067	7,72	0,767 $\leq \bar{x} \leq$ 0,983
18.00	0,857 $\pm$ 0,020	0,041	4,80	0,793 $\leq \bar{x} \leq$ 0,921
19.00	0,912 $\pm$ 0,036	0,071	7,82	0,797 $\leq \bar{x} \leq$ 1,026
20.00	0,945 $\pm$ 0,061	0,121	12,83	0,751 $\leq \bar{x} \leq$ 1,139
21.00	0,875 $\pm$ 0,009	0,017	1,98	0,846 $\leq \bar{x} \leq$ 0,904
22.00	0,862 $\pm$ 0,043	0,086	9,99	0,725 $\leq \bar{x} \leq$ 0,999
23.00	0,892 $\pm$ 0,056	0,112	12,52	0,714 $\leq \bar{x} \leq$ 1,070
24.00	0,850 $\pm$ 0,024	0,048	5,60	0,774 $\leq \bar{x} \leq$ 0,926
1.00	0,900 $\pm$ 0,038	0,077	8,55	0,779 $\leq \bar{x} \leq$ 1,021
2.00	0,910 $\pm$ 0,021	0,042	4,66	0,843 $\leq \bar{x} \leq$ 0,997
3.00	0,912 $\pm$ 0,043	0,085	9,36	0,775 $\leq \bar{x} \leq$ 1,049
4.00	0,835 $\pm$ 0,025	0,051	6,11	0,755 $\leq \bar{x} \leq$ 0,914
5.00	0,972 $\pm$ 0,034	0,069	7,91	0,764 $\leq \bar{x} \leq$ 0,980
6.00	0,875 $\pm$ 0,023	0,046	5,32	0,802 $\leq \bar{x} \leq$ 0,948
7.00	0,890 $\pm$ 0,026	0,053	5,87	0,807 $\leq \bar{x} \leq$ 0,973
8.00	0,840 $\pm$ 0,025	0,050	5,91	0,760 $\leq \bar{x} \leq$ 0,948
9.00	0,862 $\pm$ 0,018	0,037	4,27	0,805 $\leq \bar{x} \leq$ 0,919
10.00	0,905 $\pm$ 0,032	0,065	7,24	0,801 $\leq \bar{x} \leq$ 1,009
11.00	0,880 $\pm$ 0,028	0,056	6,36	0,791 $\leq \bar{x} \leq$ 0,969

4. Obsah popola v krvi kráv v priebehu 24 hodín — Ash content in the blood of dairy cows within 24 hours



Literatúra

- ANTAL, J. — BULLA, J. — CHRENEK, J. — NOSÁL, V. a kol.: Mäsová úžitkovosť slovenského strakatého dobytku. Bratislava, SAV 1983.
- BLOSSER, T. H.: Physiological bases for genetic improvement in dairy cattle — introductory remarks. J. Dairy Sci., 62, 1979, č. 5, s. 813.
- BONDARENKO, G. A. — GUSEVA, H. I. — PTAŠEVSKAJA, I. V. — VARNOVSKAJA, N. V. a kol.: Nasledujúce urovneň soderžania metabolitov krvi u krupnogo rohatogo skota v različnye vozrastnye periody i sezony goda. Genetika (Moskva), 13, 1977, č. 3, s. 439-450.

BULLA, J. — ANTAL, J. — ZELNÍK, J. — GRANÁT, J. — DOBÁLOVÁ, M.: Morfologické a biochemické vlastnosti tkanív rôznych plemien a krížencov hospodárskych zvierat. [Výskumná správa.] Nitra, Výskumný ústav živočíšnej výroby 1978.

ĐURAN, A. — GABRIŠ, J. — VOJENČIAK, J. — KUCHAROVÁ, K.: Naše poznatky z kanylácie ciev hovädzieho dobytká z *venae subcutaneae abdominis sinistra et dextra*. In: Zbor. XX. zasadnutia sekcie chirurgie, ortopedie a röntgenológie spoločnosti veterinárnych lekárov. Prešov 1985.

GABRIŠ, J. — KUCHAROVÁ, K. — MATTOVÁ, J.: Štúdium vzťahov medzi zložkami krvi a mlieka dojnic z hľadiska diferenciácie produkčných typov. [Výskumná správa.] Košice, Vysoká škola veterinárska 1975.

HAGEMEISTER, H. — UNSHELM, J.: Individuelle, tages- und tageszeitabhängige Schwankungen von Blutbestandteilen beim Rind. 2. Mitteilung. Das Verhalten der Enzymaktivität von GOT, GPT, LDH, MDH, CLDH und alkalische Phosphatase. Zbl. Veter.-Med., R. A, 15, 1968, č. 6, s. 499-509.

HOLMES, J. H. G. — ROBINSON, D. W.: Hereditary muscular hypertrophy in the bovine metabolic response to nutritional stress. J. anim. Sci., 31, 1970, č. 4, s. 776-780.

MÁCHA, J. — DVOŘÁK, J. — POSPÍCHALOVÁ, D. — DOLEŽELOVÁ, M.: Studium hladiny některých enzymů v krevním séru různých plemen skotu a jejich kríženců. Acta Univ. agric. (Brno), 20, 1972, č. 1, s. 99-111.

MASSARATA, S.: Tageschwankungen der Enzymaktivität der Glutamat-oxalacetat-, Glutamat-pyruvat-Transaminasen und Laktodehydrogenase im Serum bei Leberkranken und Gesunden. Klin. Wschr., 42, 1964, č. 3, s. 91-94.

PAGE, H. M. — ERWIN, E. S. — NELMS, G. E.: Effect of solar radiation on variations of blood constituents in cattle. J. Dairy Sci., 43, 1960, č. 1, s. 99-100.

PATTERSON, T. B. — SHRODE, R. R. — KUNKEL, H. D. — LEIGHTON, R. E.: et al.: Variation in certain blood components of holsteins and jersey cows and their relationship to dairy range in rectal temperature and to milk and butterfat production. J. Dairy Sci., 43, 1960, č. 9, s. 1263-1274.

SEAMAN, G. V. F. — ENGEL, R. — SWANK, R. L. — HISSEN, W.: Circadian periodicity in some physiological parameters of circulating blood. Nature, 207, 1965, č. 21, s. 833-835.

SCHULTZE, A. B.: Correlation of certain blood characters in the heifer with milk production ability. J. Dairy Sci., 43, 1960, č. 9, s. 1340-1341.

STAROVEROV, N. A. — PEREVOZINA, K. O. — OKUN', M. I. — TVARDUN, O. O.: O nekotorych osobenostiach v obmene veščestv u laktirujuščich korov pri letnom i zimnom tipach kormlenia i soderžania. Sbor. nauč. Tr. Nauč.-issled. Inst. Životnov., 19, 1955, s. 5-25.

UNSHELM, J. — RAPPEN, W. H.: Individuelle, tages- und tageszeitabhängige Schwankungen von Blutbestandteilen beim Rind. 1. Mitteilung: Das Verhalten der Mineralstoffe Natrium, Kalium, Kalzium, Magnesium und anorganischem Phosphor. Zbl. Veter.-Med., R. A, 15, 1968, č. 5, s. 418-437.

Došlo dňa 29. 9. 1986

ГАБРИШ, Ю. — ДЮРАН, А. (Ветеринарный институт, Кошице): Уровень некоторых метаболитов в крови коров в течение 24 часов. Veter. Med. (Praha), 32, 1987 (7): 399-407.

У четырех чернопестрых коров мы взяли пробы крови из *vena subcutanea abdominis sinistra* в промежуточных интервалах в течение 24 часов. У наблюдаемых элементов крови (содержание белков, глюкозы, зола и сухого вещества) мы не обнаружили выразительную циркадно ритмическую динамику. Множество белков было в течение 24 часов одинаковое. У уровня глюкозы проявились признаки динамики с понижением от 12.00 до 14.00 часов, потом с повышением до 1.00—3.00 часов утра и с последующим понижением после 3.00 часов и дообеденного времени. В содержании сухого вещества в крови дойных коров проявлялась более выразительная динамика с более низкими величинами от 3.00 до 12.00 часов. Содержание зола возрастало от 12.00 до 20.00 часов, потом понижалось.

сухое вещество; зола; глюкоза; белки; циркадно ритмическая динамика

GABRIŠ, J. — ĐURAN, A. (University of Veterinary Medicine, Košice): *The Levels of Some Metabolites in the Blood of Cows within a 24-hour Period*. Veter. Med. (Praha), 32, 1987 (7) : 399-407.

Blood samples were taken from the *vena subcutanea abdominis sinistra* of four Black-Pied Lowland cows in one-hour intervals within a 24-hour period. No significant circadian changes were recorded in the studied blood components (protein, glucose, ash and dry matter contents). The amount of protein remained unchanged during the 24-hour period. Some changes were observed in the level of glucose, with a decrease from 12.00 to 14.00 o'clock, followed by an increase continuing until late at night (1.00 a.m. to 3.00 a.m.); another decline came in the other half of the night and during the forenoon. More pronounced changes were recorded in the content of dry matter in the blood of the cows, with lower values from 3.00 to 12.00 o'clock. Ash content grew from 12.00 to 20.00 o'clock and then it declined. dry matter; ash; glucose; proteins; circadian changes

GABRIŠ, J. — ĐURAN, A. (Veterinärmedizinische Hochschule, Košice): *Niveau einiger Metaboliten im Blut von Kühen im Verlauf von 24 Stunden*. Veter. Med. (Praha), 32, 1987 (7) : 399-407.

Von vier Kühen der Schwarzbunten Rasse entnahmen wir Blutproben aus der *vena subcutanea abdominis sinistra* u. zw. in einstündigen Intervallen im Verlauf von 24 Stunden. Bei den untersuchten Blutkomponenten (Eiweiß-, Glukose, Asche- und Trockensubstanzgehalt) konnten wir keine ausgeprägte circadiane Dynamik feststellen. Die Eiweißmenge blieb während der 24 Stunden unverändert. Beim Glukosespiegel erschienen Anzeichen einer Dynamik, mit einer Senkung zwischen 12.00 und 14.00 Uhr, einer nachfolgenden Steigerung bis in die Nachtstunden (1.00 bis 3.00 Uhr) und einer weiteren Senkung in der zweiten Nachthälfte und vormittags. Die markanteste Dynamik kam in bezug auf den Trockensubstanzgehalt im Blut der Kühe an den Tag u. zw. den niedrigsten Werten zwischen 3.00 und 12.00 Uhr. Der Aschegehalt stieg zwischen 12.00 und 20.00 Uhr, im sich dann zu vermindern.

Trockensubstanz; Asche; Glukose; Eiweißstoffe; circadiane Dynamik

Adresa autorov:

Prof. dr. ing. Juraj Gabriš, DrSc., MVDr. Augustin Đuran, CSc., Vysoká škola veterinárska, Komenského 73, 041 81 Košice

KLINIK DER HUNDEKRANKHEITEN

KLINIKA NEMOCÍ PSŮ

U. Freudiger, E. G. Grünbaum, E. Schimke

VEB Gustav Fischer Verlag, Jena 1986, 1067 s., 684 obr., 68 tab.

Pes je často nepostradatelným pomocníkem člověka a zájem o jeho chov je stále velký. Předpokládaná dvoudílná publikace zcela nově zpracovaného vydání má velký význam v tom, že dokonale a uceleně shrnuje nemoci jednotlivých orgánů, orgánových systémů, infekční onemocnění, postup a techniku vyšetřování a terapie.

První díl v 16 kapitolách pojednává o platných veterinárních předpisech a vyhláškách, o postupu a způsobu vyšetřování, včetně fixační techniky, metodách aplikace léčiv, určování věku. Stručně a jasně jsou popsány druhy a provádění fyzikální terapie s instruktivní fotodokumentací a s uvedením indikací pro její použití. Uceleně a výstižně jsou popsány požadavky na správnou výživu mladých a dospělých zvířat, doplněné přehlednými tabulkami o potřebě živin, minerálií a vitaminů. Velmi cenné je pojednání o dietách při chorobách jednotlivých orgánů a orgánových systémů. Uceleně jsou popsány metody různých způsobů anestézií, přehledně jsou uvedeny druhy používaných anestetik a narkotik pro inhalační a injekční aplikaci, aplikační metody a používané dávky s uvedením délky jejich účinku. Nemalý význam má přehledné pojednání o transfúzi krve a infúzní terapii, včetně konzervace krve a způsobů vyšetření krevní snášenlivosti. Podrobný a instruktivní je popis rentgenové techniky, doplněný četnými nákresey a fotografiemi přístrojového vybavení. Následují způsoby rentgenologického vyšetřování za použití kontrastních látek.

Na obecnou část navazuje zevrubný popis klinických projevů onemocnění a terapeutických postupů podle jednotlivých orgánů, resp. orgánových systémů. V tomto dílu jsou shrnuta onemocnění kůže (včetně nemoci mykotického a parazitárního původu), zrakového a sluchového aparátu, respiračního systému, oběhového systému s postupy a metodami vyšetření, stanovení diagnózy a způsobů terapie. Díl uzavírá samostatná kapitola, která věnuje pozornost patogenezi, diagnostice a terapii šoku.

Ve druhém dílu je v devíti kapitolách popsána klinika, diagnostika a terapie onemocnění trávicího traktu, jater, slinivky břišní, ledvin a močových cest, pohlavních orgánů, centrálního a periferního nervového systému, pohybového aparátu, žláz s vnitřní sekrecí, krve a sleziny, ať již jde o onemocnění zánětlivá, funkční, chirurgická, nádorová, parazitárního původu, o anomálie, malformace aj. Podrobný popis laboratorních vyšetření biochemických nebo parazitologických u těchto onemocnění, jejichž diagnostika provedení takových vyšetření přímo vyžaduje, je neocenitelný pro veterinární praxi. Nemalý význam u psů mají infekční choroby, jejichž klinice, patogenese, etiologii a terapii je věnována náležitá pozornost.

Předkládaná publikace nezapomíná ani na velmi často u psů se vyskytující intoxikace, jejichž klinika a terapie je vhodně doplněna přehlednou tabulkou jedů, jejich toxických účinků a způsobů léčby vhodnými antidoty. V další tabulce jsou uvedena antidota, jejich používané dávky a způsoby aplikace.

V poslední kapitole je uveden přehled terapeutik, jednak členěných do skupin podle účinku, jednak řazených abecedně podle chemického složení s uvedením komerčních názvů, pod kterými jsou uvedeny v NDR a NSR, dávek, způsobů aplikace a jednotlivých skupin podle účinků.

Tato publikace je doplněna bohatou a velmi názornou černobílou a barevnou fotodokumentací a svým podrobným a uceleným zpracováním chorob psů se stává vítanou a nepostradatelnou příručkou veterinárních lékařů zejména v ošetrovárnách a veterinárních nemocnicích.

MVDr. Václav Kabelík

VYUŽITÍ BIO-LA-TESTU LACHEMA KE STANOVENÍ MOČOVINY V MLÉCE

J. Zelený, J. Šichová

ZELENÝ, J. — ŠICHOVÁ, J. (Okresní veterinární zařízení, Klatovy): *Využití Bio-La-testu Lachema ke stanovení močoviny v mléce*. Veter. Med. (Praha), 32, 1987 (7) : 409-415.

Zkoumali jsme obsah močoviny v mléce jako ukazatele výživy dojníc. K analýze je možné použít plnotučné mléko, v němž jsou hodnoty o 5,96 % nižší než v mléce odtučněném (tuto skutečnost je nutné mít na zřeteli při interpretaci výsledků). Plnotučné mléko může být deproteinováno do 24 hodin po odběru za předpokladu, že bylo již po čtyřech hodinách od dojení uskladněno v chladničce při teplotě 4 °C. Potom pokles močoviny není větší než 4 %. Ze srovnání koncentrace močoviny v mléce získaném odstředivkem nebo ze směsných vzorků nebyly zjištěny výrazné rozdíly. Nedoporučujeme odebírat vzorky na konci dojení, protože v této fázi je množství močoviny menší. Koncentrace močoviny v bazénovém vzorku odpovídá průměrné hodnotě koncentrace močoviny v mléce u dojníc ve stáji.

dojnice; plnotučné mléko; deproteinace

Stav mezi močovinou v krevním séru a nutriční hodnotou krmiv sledovali Lebeda a Přikrylová (1975). Lebeda (1976) uvádí, že koncentrace močoviny v krevním séru a v moči se snižuje s rozšířeným úživným poměrem živin. Na zvýšenou koncentraci močoviny v krevním séru při zvýšeném příjmu proteinů upozornili Váradý aj. (1967). Zjistili, že mezi močovinou v krvi a močovinou v moči existuje významná korelace $r_{xy} = 0,52$. Tuto závislost později potvrdili Vojtíšek aj. (1983) a současně doplnili i významné závislosti mezi močovinou v krvi a v syrovátce mléka $r_{xy} = 0,68$. Vliv restrinkce živin s následnou realimentací živin na obsah močoviny v mléce sledovali Kirchgessner aj. (1985). Při dostatečném příjmu proteinů a energie se množství močoviny pohybuje kolem 3,33 mmol.l⁻¹ mléka. Tyto výsledky odpovídají výsledkům, ke kterým dospěli Erbersdobler a Zucker (1980), cit. Kirchgessner aj. (1985). Na základě těchto korelací doporučili Gfrörer a Koch (1984) v pracovních postupech semikvantitativní metodu stanovení močoviny při úpravě krmných dávek. Jak uvádějí Kirchgessner aj. (1985), lze úroveň energie v krmné dávce posuzovat podle celkového proteinu v mléce, protože ten se při nedostatku energie významně snižuje. Změny obsahu močoviny v mléce v návaznosti na množství proteinů a energie v krmné dávce potvrzují i další autoři (Piatkowski aj., 1981; Erbersdobler a Zucker, 1980, oba cit. Kirchgessner aj., 1985).

Ke stanovení obsahu močoviny v mléce používali Vojtíšek aj. (1982) metody mikrodifúze ve speciálně jimi upravené zkumavce. Kirchgessner aj. (1985) použili semikvantitativní test pro močovinu firmy Boehringer. Enzymatický test Reflotest-Urea-Verfahren téže firmy použili Gfrörer a Koch (1984) jako kontrolní test při stanovení močoviny v mléce indikátorovými papírky Azostix R. Oltner aj. (1985) použili k analýze mikrodifúze po rozkladu močoviny ureázou v alkoholickém prostředí; čpavek s indikátorem vyvolává zbarvení, jehož intenzita se měří při 590 nm.

Ke konzervaci mléka doporučili Oltner aj. (1985) 2bromo-2nitro-1,3diol. Erbersdobler a Zucker (1980) používali ke konzervaci azid sodný a doporučovali, stejně jako Kirchgessner aj. (1985), vzorky analyzovat teprve po odtučnění a deproteinaci.

Na základě uvedených poznatků jsme se rozhodli prověřit Bio-La-test, běžně používaný ke stanovení močoviny v krvi a moči, pro stanovení močoviny v mléce. Současně jsme prověřovali, jak jsou hodnoty močoviny v mléce ovlivněny způsobem odběru vzorků, uskladněním a přítomností tuku.

MATERIÁL A METODY

Při odběru mléka z ranního dojení jsme zachovávali tento postup:

- a) před zahájením dojení byly odebrány vzorky odstříkem z jednotlivých čtvrtí (vzorek č. 1 LP, č. 2 PP, č. 3 LZ, č. 4 PZ);
- b) na začátku dojení byl odebrán směsný čtvrtkový vzorek (vzorek č. 5);
- c) na konci dojení byl znovu odebrán směsný čtvrtkový vzorek (vzorek č. 6);
- d) z konve byl odebrán průměrný vzorek z celkového nádoje (vzorek č. 7);
- e) nakonec byl odebrán bazénový vzorek z celkového nádoje ve stáji (vzorek č. 8).

K vlastní analýze jsme použili vzorky plnotučného mléka. U vzorků z celkového nádoje jsme zároveň navíc analyzovali mléko odtučněné centrifugací při 3000 ot/min. U vzorků z celkového nádoje jsme sledovali vliv doby uskladnění na množství močoviny v mléce. Proto jsme provedli deproteinaci a analýzu těchto vzorků:

1. do čtyř hodin po odběru (uskladnění vzorků při pokojové teplotě);
2. do 24 hodin po první analýze (uskladnění vzorků v chladničce při teplotě 4 °C);
3. do 48 hodin po první analýze (uskladnění vzorků v chladničce při teplotě 4 °C);
4. do čtyř hodin po odběru, ale supernatant plnotučného mléka byl zpracován po 24 a 48 hodinách uskladnění v chladničce při teplotě 4 °C.

Mléko bylo odebráno ve třech chovech celkem od 66 zvířat během měsíce května. V tomto období měla výživa dojníc charakter přechodné krmné dávky, složené z pastvy v kombinaci se zeleným krmem. V této krmné dávce byl zjištěn nadbytek dusíkatých látek. Celkem jsme analyzovali 912 vzorků mléka.

K vlastní analýze jsme použili Bio-La-test ke stanovení močoviny v krevním séru. Doporučený postup byl zachován s výjimkou deproteinace, při které jsme použili 10% kyselinu trichlóroctovou.

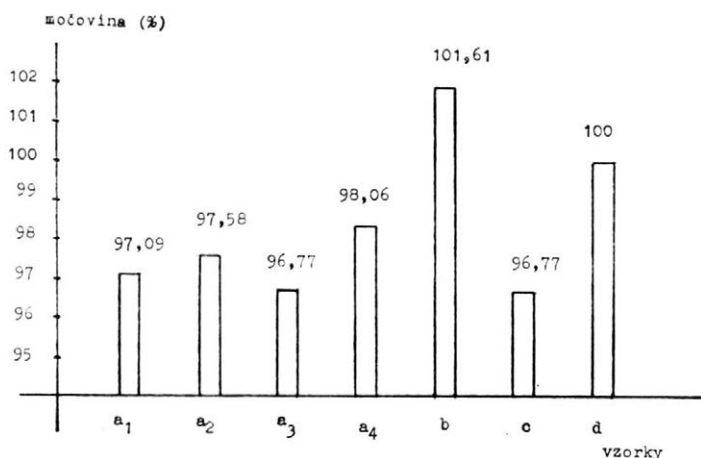
VÝSLEDKY

Z tab. I i z obr. 1 je patrné, že způsob odběru vzorků se na obsahu močoviny výrazně neprojevil. Korelační koeficient jednotlivých vzorků k celkovému nádoji přesahuje 0,82. Maximální rozdíl mezi obsahem mo-

I. Průměrné množství močoviny ve vzorcích mléka ($n = 66$) při různém odběru vzorků mléka a jeho vztah k množství močoviny celkového nádoje — The average amount of urea in milk samples ($n = 66$) recorded at different milk sampling terms and its relation to the content of urea in the total milk yield

Označení vzorku	Levá přední čtvrt	Pravá přední čtvrt	Levá zadní čtvrt	Pravá zadní čtvrt	Směsný čtvrtový vzorek na začátku dojení	Směsný čtvrtový vzorek na konci dojení	Vzorek z celkového nádoje
	a_1	a_2	a_3	a_4	b	c	d
Průměrné hodnoty močoviny v mmol.l^{-1} $\bar{x}$	6,02	6,05	6,00	6,08	6,30	6,00	6,20
S_x	1,11	1,01	1,00	1,01	1,14	0,92	1,06
Korelační koeficient r_{xy} $y = d$ $x = a \text{ až } c$	0,87	0,87	0,88	0,90	0,85	0,86	—

1. Procentuální podíl průměrného množství močoviny u různě odebraných vzorků z množství močoviny v celkovém nádoji — The percent proportion of the average amount of urea in samples taken in different ways in the urea content of the total milk yield



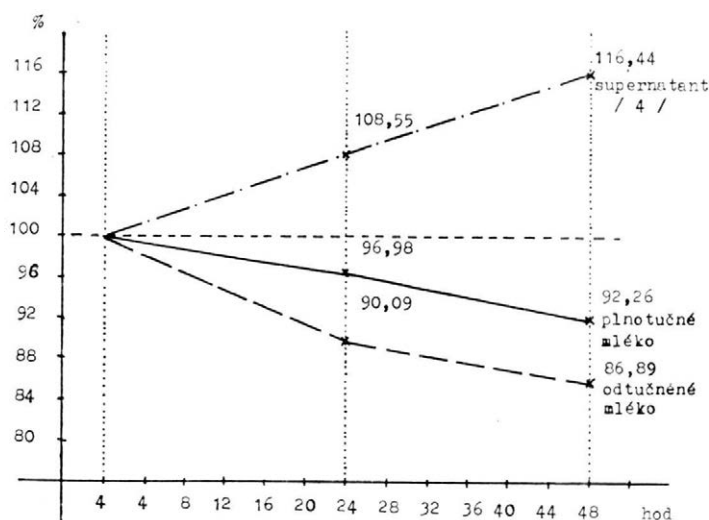
čoviny v celkovém nádoji a ve vzorcích $0,20 \text{ mmol.l}^{-1}$ (3,23 %) byl zjištěn u směsného vzorku na konci dojení. Rozdíly hodnot močoviny mezi jednotlivými čtvrtěmi byly minimální — $0,08 \text{ mmol.l}^{-1}$ (1,29 %).

Při porovnání koncentrace močoviny v 54 vzorcích plnotučného mléka a v 54 vzorcích mléka odtučněného, vyšetřených do čtyř hodin po odběru, jsme zjistili, že v plnotučném mléce jsou hodnoty močoviny o $0,37 \text{ mmol.l}^{-1}$ (5,96 %) nižší než v mléce odtučněném. Zákonitost tohoto poklesu je vyjádřena vysokou hodnotou korelačního koeficientu — 0,97. Vliv různé doby skladování je vyjádřen v tab. II a obr. 2.

Považujeme-li koncentraci močoviny zjištěnou v mléce do čtyř hodin po odběru za 100 %, dochází po 24 a 48 hodinách uskladnění v chlad-

II. Změny množství močoviny vlivem uskladnění a přehled korelačních koeficientů r_{xy} (x = množství močoviny po uskladnění v chladničce za 24 a 48 hodin, y = množství močoviny zjištěné do čtyř hodin po odběru) — Changes in the amount of urea caused by storage and a survey of correlation coefficients r_{xy} (x = amount of urea after 24 and 48 hours of storage in refrigerator, y = amount of urea recorded within four hours after sampling)

Vzorky mléka		Doba a způsob uskladnění		
		při pokojové teplotě 4 h	při teplotě 4 °C 24 h	při teplotě 4 °C 48 h
Plnotučného	močovina v mmol.l ⁻¹	5,95	5,77	5,36
	r_{xy}	—	0,83	0,79
Odtučněného	močovina v mmol.l ⁻¹	6,33	5,84	5,50
	r_{xy}	—	0,89	0,21
Supernatant	močovina v mmol.l ⁻¹	4,44	4,82	5,17
	r_{xy}	—	0,56	0,63



2. Procentuální změny množství močoviny při různé době uskladnění (100 % odpovídá množství močoviny zjištěnému do čtyř hodin po odběru) — The percent changes in the amount of urea after different times of storage (100 % corresponds to the amount of urea determined within four hours after sampling)

niče k jejímu postupnému poklesu jak u mléka plnotučného, tak i u mléka odtučněného. Při uskladnění supernatantu plnotučného mléka se však množství močoviny za 24 a 48 hodin zvyšuje.

Při porovnání obsahu močoviny v bazénovém vzorku s průměrným obsahem močoviny v mléce reprezentativní skupiny 12 dojek ve stáji jsme zjistili, že v bazénovém vzorku byl o 0,19 mmol.l⁻¹ vyšší. Maximální rozdíl mezi hodnotou v jednotlivých vzorcích a v bazénovém vzorku byl 0,53 mmol.l⁻¹.

Skutečnost, že močovina v mléce je vhodným a doporučeným ukazatelem příjmu a využití dusíkatých látek a energie (Erbersdobler a Zucker, 1980, Kirchgessner aj., 1983, 1985; Vojtíšek aj., 1983), vyvolává potřebu jejího semikvantitativního stanovení. Vzhledem k tomu, že využití indikátorových papírků (Gfrörer a Koch, 1984) nebo testů firmy Boeringer (Kirchgessner aj., 1983) pro stanovení močoviny v mléce je zatím nedostupné, je nutné využít dostupných testů, mezi něž v ČSR patří Bio-La-test pro stanovení močoviny v krevním séru a moči, vyráběný n. p. Lachema Brno. Ze zkušeností s použitím tohoto testu pro stanovení močoviny v krvi a moči (Lebeda a Přikrylová, 1975) je patrné, že se jedná o test snadno proveditelný, nevyžadující speciální zařízení v laboratoři, s nímž lze dosáhnout dostatečné přesnosti. Jeho použití pro stanovení močoviny v mléce vyžaduje širší prověření, což bylo předmětem této práce.

Vzhledem k tomu, že jsme v pracích zabývajících se stanovením močoviny v mléce nenašli údaje o optimálním způsobu odběru vzorků, vyvodili jsme z výsledků uvedených v tab. I závěry, že při zjišťování koncentrace močoviny při odběru z ranního dojení v podstatě nezáleží na tom, zda je vzorek odebírán odstříkem z jednoho struku, jako směsný vzorek nebo jako vzorek z celkového nádoje. Pouze u směsného čtvrtového vzorku na konci nádoje je nutné počítat s tím, že se hodnota močoviny zvýší. Tento jev vysvětlujeme tím, že při zpracování plnotučného mléka je obsah močoviny nižší než u mléka odtučněného (tab. II). Je všeobecně známo, že poslední podíly vydojeného mléka jsou bohatší na tuk. Naše zjištění, že je možné získat spolehlivé výsledky i z mléka získaného odstříkem, umožňuje zařadit stanovení koncentrace močoviny v mléce jako další doplňující ukazatel metabolického profilu. Tento ukazatel se většinou určuje mimo dojení v dopoledních hodinách. Dále není nutné měnit techniku dojení ve stáji s dojením do potrubí jako při odběru z celkového nádoje. Z našich výsledků však zatím nelze vyvodit, do jaké míry se budou hodnoty močoviny zjištěné v dopoledních hodinách po ranním vydojení rovnat hodnotám močoviny v mléce odebraném při dopoledním dojení (Vojtíšek aj., 1983).

V literatuře se setkáváme s údaji o stanovení močoviny v odtučněném mléce. Pro urychlení analýzy a vzhledem k dopravě vzorků se však zdá být výhodnější zpracování plnotučného mléka. Při vyšetření duplikátů plnotučného mléka jsme zjistili podobné laboratorní výsledky, takže přítomnost tuku nezpůsobovala chybu metody. Proto jsme mohli přistoupit k porovnání vzorků mléka plnotučného a mléka odtučněného. Skutečnost, že plnotučné mléko má při stejných podmínkách hodnoty o 5,96 % trvale nižší, nám umožňuje srovnávat hodnoty zjištěné v plnotučném mléce s údaji jiných autorů po odečtení zákonitého poklesu. Jedním z faktorů, které nejvíce zkreslují hodnoty močoviny v mléce, je její rozklad pod vlivem ureázové aktivity. V důsledku toho se názory na konzervaci vzorků a dobu zpracování značně liší. Z grafického vyjádření poklesu množství močoviny (obr. 2) však vyplývá, že při skladování materiálu při teplotě 4 °C do 24 hodin nepřesáhne pokles u plnotučného mléka 0,18 mmol.l⁻¹, tj. 3,02 %, a významně se neodlišuje od hodnot zjištěných při deproteinaci v den odběru. Vzhledem k tomuto nálezu je

možné zpracovávat mléko uskladněné v chladničce až druhý den po odběru, což umožňuje, aby vzorky odebírali a odesílali do laboratoře i chovatelé. Nedoporučujeme však uskladňovat vzorky až do třetího dne, protože obsah močoviny v nich zřetelně klesá.

Minimální rozdíly v hodnotách močoviny ve vzorcích mléka získaných od reprezentativní skupiny dojnic ve stáji a z bazénového vzorku umožňují využití i bazénových vzorků, což je dalším přínosem pro skříňkové hodnocení skutečného stavu příjmu a využití dusíkatých látek a energie.

Poděkování

Za pomoc při zpracování materiálu děkujeme doc. ing. RNDr. Vlastě Kroupové, CSC.

Literatura

- GFRÖRER, F. — KOCH, G.: Bestimmung des Milchlarnstoffgehalts-Suchtest mit Teststäbchen. Schule Berat., 1984, č. 10, s. IV-6-IV-9.
- KIRCHGESSNER, M. — DORA, A. — ROTH-MAIER, J. — RÖHRMOSER, G.: Harnstoffgehalte in Milch von Kühen mit Energie- bzw. Proteinmangel und anschließender Realimentation. Z. Tierphysiol. Tierernähr. Futterm.-Kde, 53, 1985, č. 5, s. 264-270.
- LEBEDA, M.: Výskyt, příčiny, diagnostika acidobazických poruch a jejich vztah k saturaci potřeby stravitelných dusíkatých látek a energie. In: Zbor. Ref. Seminár o metabolických poruchách u vysokoproduktívnych dojnic. Ivanka pri Dunaji 1976, s. 30-40.
- LEBEDA, M. — PŘIKRYLOVÁ, J.: Močovina séra a moči jako ukazatel krytí spotřeby SNL a kalorických živin. Výťah z přednášky. Pardubice, ÚVO 1975.
- OLTNER, R. — BENGTSOON, S. — LEARSSON, K.: Determination of urea in cows milk by flow injection analysis. J. clin. biochem. lab. Sci., 4, 1985, č. 1-3, s. 79.
- Patent ČSSR 222 538. VOJTÍŠEK, B. — HALA, S. — URBANOVÁ, J.: Zkumavka pro mikrodifúzi. 1982.
- VÁRADY, J. — BOĎA, K. — TOMÁŠ, J. — HAVASSY, I. — BAJO, M.: Vztah bachorového clearance močoviny na úrovni urey v krvi k danému množství vyloučené močoviny močou a aminoacidémií. Veter. Med. (Praha), 12, 1967, č. 7, s. 347-354.
- VOJTÍŠEK, B. a kol.: Metody hodnocení zdravotního stavu ve velkovýrobě. [Závěrečná zpráva.] Brno, Výzkumný ústav veterinárního lékařství 1983.

Došlo dne 18. 9. 1986

ЗЕЛЕНЫ, Й. — ШИХОВА, Й. (Районный ветеринарный пункт, Клатовы): **Применение Bio-La-теста Lachema к установлению мочевины в молоке.** Veter. Med. (Praha), 32, 1987 (7): 409-415.

Мы исследовали содержание мочевины в молоке, как показателя питания дойных коров. Для анализа можно взять цельное молоко, в котором имеются ценности на 5,96% ниже, чем в молоке обезжиренном (эту действительность необходимо учитывать во время интерпретации результатов). Цельное молоко может быть депротеиновано до 24 часов после отбора, при условии, что было уже в течение четырех часов от доения уложено в холодильник при температуре 4 °C. Потом понижение мочевины не больше, чем 4%. Из сравнения концентрации мочевины в молоке полученном сцеживанием или из смешанных проб не были обнаружены значительные отличия. Не рекомендуем взятие проб молока в конце доения, потому, что в этой фазе количество мочевины меньше. Концентрация мочевины в бассейновой пробе отвечает приблизительно величине концентрации мочевины в молоке у дойных коров в коровнике.

дойные коровы; цельное молоко; депротеинация

ZELENÝ, J. — ŠÍCHOVÁ, J. (District Veterinary Station, Klatovy): *Using the Bio-La-Test Lachema for the Determination of Urea in Milk*. Veter. Med. (Praha), 32, 1987 (7) : 409-415.

The content of urea in milk was studied as a parameter of dairy cow nutrition. It is possible to use for the analysis whole milk where the values are lower by 5.96 % than in defatted milk (this fact must be borne in mind when the results are interpreted). Protein can be removed from whole milk within 24 hours after sampling provided that it was placed in a refrigerator within four hours from milking to be stored there at 4 °C. In such a case the decrease in urea level is not greater than 4 %. No significant differences were found between urea concentration in milk collected by stripping and that in bulk milk. It is not recommended to take samples at the end of milking because such milk contains less urea. Urea concentration in the bulk milk samples corresponds to the average urea concentration in the milk samples taken from dairy cows in the stable.

dairy cows; whole milk; deproteinization

ZELENÝ, J. — ŠÍCHOVÁ, J. (Kreis-veterinäreinrichtung, Klatovy): *Anwendung des Bio-La-Tests zur Bestimmung von Harnstoff in der Milch*. Veter. Med. (Praha), 32, 1987 (7) : 409-415.

Wir untersuchten den Harnstoffgehalt in der Milch als Kenngröße des Ernährungszustands von Milchkühen. Zur Analyse kann Vollmilch verwendet werden, in der die Werte um 5,96 % niedriger liegen als in Magermilch (diese Tatsache ist bei der Interpretation der Ergebnisse zu beachten!). Die Vollmilch kann bis 24 Stunden nach dem Melken deproteiniert werden, unter der Voraussetzung, daß die Milch bereits ab vier Stunden nach dem Melken in einem Kühlschrank mit 4 °C aufbewahrt wurde. Dann beträgt die Reduktion des Harnstoffs nicht mehr als 4 %. Aus Vergleichen der Harnstoffkonzentration in durch Abspritzen oder aus Mischproben (Tankproben) gewonnener Milch wurden keine beträchtlichen Unterschiede festgestellt. Es wird von Probeentnahmen gegen Ende des Melkvorgangs abgeraten, da die Harnstoffmenge in dieser Phase geringer ist. Die Harnstoffkonzentration in der Tankprobe entspricht dem Durchschnittswert der Harnstoffkonzentration in der Milch der Milchkühe im Stall.

Milchkühe; Vollmilch; Deproteination

Adresa autorů:

MVDr. Jiří Zelený, Jiřina Šichová, Okresní veterinární zařízení, Gorkého 462 II, 339 11 Klatovy

Vybrané nejnovější tituly z oboru veterinární medicína ve fondu ÚZLK

- AASTED, B.: Aleutian disease of mink. Virology and immunology.
Copenhagen 1985. D 70.257/10
- AHNE, W.: Grundriss der Zoologie für Tiermediziner.
Pareys Studentexte 50.
Berlin 1986. D 65.241/50
- AVROROV, V. N.: Technologičeskij travmatizm životnych i jeho profilaktika v specializirovannyh chozjajstvach promyšlennogo tipa.
Voroněž 1985. E 44.372
- Bergey's Manual of systematic bacteriology. Vol. 2.
Baltimore 1986. C 29.514/2
- BUSCH, W.: Zuchthygienische Kontrolle bei Nutztieren.
Jena 1987. E 45.763
- Grundriss der Staatsveterinärkunde.
Jena 1986. D 78.608
- HATLAPA, M. M.: Die Praxis der Wildtierimmobilisation.
Berlin - Hamburg 1982. D 74.889
- KARLSON, B. M.: Regeneracija.
Moskva 1986. D 79.114

ÚČINKY POLYCHLOROVANÝCH BIFENYLŮ (DELORU 103, 105 A 106) V KRMIVU NA ZDRAVÍ MLADÝCH PRASAT

M. Dvořák, M. Neumannová

DVOŘÁK, M. — NEUMANNOVÁ, M. (Výzkumný ústav veterinárního lékařství, Brno): *Účinky polychlorovaných bifenyly (Deloru 103, 105 a 106) v krmivu na zdraví mladých prasat*. Veter. Med. (Praha), 32, 1987 (7) : 417-428.

V pěti pokusech u 71 selat a mladých běhounů byly testovány toxické účinky polychlorovaných bifenyly (PCB), přidávaných pokusným skupinám do kompletních krmných směsí ve formě přípravku Delor 103, 105 nebo 106 (Chemko, Strážske). Příjem těchto bifenyly po dobu 14 až 21 dní v množství 100 až 250 mg . kg⁻¹ krmiva negativně neovlivnil zdravotní stav, produkční ukazatele ani koncentraci celkové bílkoviny, albuminu, globulinu, močoviny, glukózy a cholesterolu v krevním séru. Jako biologicky nejaktivnější se projevoval Delor 105, jehož příjem zvyšoval relativní hmotnost jater, snižoval sérovou hladinu hormonů štítné žlázy a kortikosteroidů. Jestliže odstavená selata přijímala 26 dní startér s přidavkem 1 mg směsi Delor 105 na kilogram, což odpovídá značné přirozené kontaminaci PCB, nejen že nebyly zjištěny negativní účinky, ale zvířata měla stimulovaný růst a lépe využívala krmivo. Výsledky prokazují relativní odolnost mladých prasat vůči toxickému působení PCB.

kontaminace krmiv; toxicita; selata; látkový metabolismus; hormony

Polychlorované bifenyly (PCB) se staly v důsledku dlouhodobého širokého užívání v různých průmyslových oblastech pro svoji mimořádnou perzistenci a odolnost vůči biologické degradaci jedním z nejtíživějších problémů znečištění prostředí. Byly vyráběny ve směsích s různým obsahem chlóru v tisícitunových kvantech v mnoha zemích, v ČSSR pod obchodním názvem Delor, v USA pod označením Aroclor. Akutní toxicita těchto halogenovaných aromatických uhlovodíků není — s výjimkou některých izomérů — vysoká. Vzhledem k rozšířenému až ubikvitárnímu výskytu a zvyšující se koncentraci v potravním řetězci jsou obávanější dlouhodobé účinky malých dávek PCB, které se ve tkáních kumulují a mohou se projevovat narušením zdraví a reprodukce.

V citlivosti vůči toxickým účinkům PCB jsou mezi živočišnými druhy extrémní difference. Poněvadž jsou spolu s nimi nacházena stopová množství dibenzofuranů, popřípadě dibenzodioxinů, jsou někdy udávány účinky celé této skupiny uhlovodíků. Obecně ovlivňují reprodukci, potlačují imunitní odpověď, u laboratorních hlodavců působí tumory, vyvolávají jaterní porfyrii a u kuřat edémové onemocnění. U primátů, králíků, koní, skotu a neosrstěných myší mohou vytvářet kožní erupce, označované u lidí jako chlórakné. Z fyziologických projevů změněných po příjmu PCB je významná indukce jaterních enzymů a atrofie thymu (S a f e, 1984;

Kim brough, 1985; Tiernan, aj., 1985). Podle účinků PCB, zjišťovaných u různých živočišných druhů, jsou velmi vnímavé opice rhesus; u samice se po příjmu diety s 25 mg Arocloru 1248 v kilogramu projeví během čtyř týdnů intoxikace vyznačující se ztrátou srsti, kožními lézemi, úbytkem tělesné hmotnosti, později poruchami koncepce (Norback a Barsotti, 1977). U člověka jsou nejčastější okulodermatologické nálezy (Fischbein aj., 1985); jeho relativní vnímavost k PCB ve srovnání s opicemi však není známa (Rogan aj., 1986). U krysu bylo počínaje dávkou 50 mg PCB na kilogram živé hmotnosti zaznamenáno snižování tělesné hmotnosti a od 10 mg $\cdot$ kg⁻¹ zvýšení relativní hmotnosti jater (Baumann aj., 1983). Obdobné příznaky chřadnutí byly pozorovány také u norků, u nichž redukce tělesné hmotnosti a přijímané potravy začínají již druhý týden a hynutí třetí týden při hladině 23 mg Arocloru 1254 na kilogram (Aulerich aj., 1986). U kuřecích brojlerů je za toxické považováno již 10 až 20 mg Arocloru 1254 na kilogram krmiva (Hansen aj., 1976a).

Podávání PCB prasatům ukázalo nepříznivý účinek na reprodukční funkce kanců, prasnic i prasniček (Platonow aj., 1972; Hansen aj., 1975; Kačmár aj., 1985), neprojevovalo se však jednoznačně u selat a běhounů. Jak uvádějí Platonow a Geissinger (1973), Platonow aj. (1976) a Guoth aj. (1984), nebyl tělesný růst ani využitelnost krmiva po aplikaci Arocloru 1254, popřípadě Deloru 105 u selat a běhounů negativně ovlivněn. Naproti tomu v jiném pokusu při zkrmování 20 mg Arocloru 1242 nebo 1254 na kilogram krmiva byl růst prasat redukován (Hansen aj., 1976b). Ani poznatky o účincích na hmotnost jater a o výskytu patologických nálezů nejsou jednotné.

V dostupné literatuře nejsou údaje o tom, jaké množství PCB v krmných směsích pro prasata lze považovat za přípustné bez ohrožení jejich zdraví, produkce a bez nebezpečí přetrvávání a výskytu hygienicky nadlimitních reziduí PCB v tuku při jatečném zpracování. V této studii jsou zjišťovány účinky PCB přidávaných do krmiva ve formě směsí Delor 103, 105 a 106 na zdraví, produkční a vybrané metabolické a endokrinní ukazatele u selat a mladých běhounů. Tyto skupiny prasat jsme zvolili proto, že kompletní krmné směsi pro ně určené obsahují ze všech směsí vyráběných pro prasata nejvíce rybích a masokostních mouček, jejichž kontaminace uvedenými xenobiotiky bývá mnohem větší a častější než u rostlinných komponent (Gajdůšková aj., 1985; Herzig aj., 1985).

MATERIÁL A METODY

Bylo použito celkem 71 mladých prasat bílého ušlechtilého plemene, pocházejících z devíti vrhů, narozených a chovaných ve stájích VÚVeL v průběhu dvou let. Selata byla odstavována od prasnice ve čtyřech týdnech věku a byla umístěna v kotelích se slamnatou podestýlkou; měla stálou nabídku sypkého startéru ČOS 2 a vody. Také starší zvířata byla komerčními kompletními směsmi krmena *ad libitum*. Příznaky infekčních nebo parazitárních chorob se u nich neprojevovaly. Pokusné a kontrolní skupiny se skládaly ze sourozenců jednotlivých vrhů a byly tvořeny s přihlédnutím k pohlaví a tělesné hmotnosti. Četnost skupin a počáteční tělesnou hmotnost udává tab. I. Po ukončení příjmu směsí Delor byla zvířata, pokud není uvedeno jinak, usmrcena.

K testování vnímavosti prasat jsme použili komerční směsi PCB, vyráběné v n. p. Chemko Strážske pod označením Delor 103, Delor 105 a Delor 106. Děkujeme

I. Charakteristika pokusů, počáteční hmotnost prasat a její přírůstek, spotřeba krmiva a přípravku Delor u pokusných a kontrolních skupin — Characteristics of the trials, the initial weight of the pigs and their weight gain, consumption of feed and Delor preparation by the experimental and control groups

Pokus	Delor v krmivu			Počet zvířat	Počáteční hmotnost kg	Celkový přírůstek kg	Spotřeba		
	č.	mg. .kg ⁻¹	dny				krmiva		Deloru
							g.den ⁻¹	g.kg ⁻¹ b	mg na zvíře
1	103, 105	250	14	6	7,88 ± 0,36	2,12 ± 0,19	399	2634	1395
		—		6	8,12 ± 0,38	2,18 ± 0,31	411	2638	—
2	103, 106	200	21	8	29,50 ± 2,19	10,31 ± 0,66	1429	2910	6000
		—		8	29,00 ± 2,11	9,81 ± 0,36	1399	2994	—
3	103	100	21	8	8,22 ± 0,31	5,11 ± 0,58	446	1838	937
		—		8	8,21 ± 0,26	5,08 ± 0,57	494	2042	—
4	105	100	21	8	8,65 ± 0,68	4,85 ± 0,38	423	1835	887
		—		8	8,90 ± 0,54	4,90 ± 0,37	452	1938	—
5	105	1	26	6	10,17 ± 0,60	13,66 ± 0,53	897	1707	23
		—		5	10,28 ± 0,51	10,84 ± 0,76 ^a	792	1900	—

^a — rozdíl mezi pokusnou a kontrolní skupinou průkazný ($P < 0,05$)

^b — spotřeba na kg přírůstku tělesné hmotnosti

ing. P. Lišhákovi, CSc., že nám je přenechal, když byla výroba v roce 1984 zastavena. Směsi Delor byly přimíchány do krmiva prostřednictvím premixů, do kterých byly zapracovány, u směsi Delor 106 po předchozím rozpuštění v acetonu a jeho následném odpaření. Účinky PCB jsme sledovali v pěti pokusech:

V prvním pokusu byla selata krmena počínaje dnem odstavu od prasnice po dobu 14 dní startérem ČOS 2, obsahujícím 250 mg Deloru 103 nebo 105 v kilogramu (3 + 3 selata).

Ve druhém pokusu byli běhouni od tří měsíců po narození krmeni tři týdny kompletní směsí A 1 s obsahem 200 mg Deloru 103 nebo 106 v kilogramu (4 + 4 běhouni). Jedno ze zvířat vystavených působení přípravku Delor 103 a dvě ze zvířat, která přijímala Delor 106, byla poražena spolu s kontrolou za měsíc od doby, kdy bylo podávání PCB ukončeno.

Ve třetím pokusu byla selata krmena, počínaje dnem odstavu, po 21 dní startérem ČOS 2 obsahujícím 100 mg směsi Delor 103 v kilogramu.

Ve čtvrtém pokusu byla selata krmena 21 dní, počínaje dnem odstavu, startérem ČOS 2 obsahujícím 100 mg směsi Delor 105 v kilogramu. Jedno pokusné prase bylo poraženo za 28 dní a po jednom ze zvířat pokusných a kontrolních bylo poraženo za čtyři měsíce po ukončeném podávání PCB; v této době byla tato prasata krmena kompletními směsmi A 1 a A 2.

V pátém pokusu byl selatům do startéru ČOS, počínaje dnem odstavu, po dobu 26 dní podáván pouze 1 mg směsi Delor 105 na kilogram. Bezprostředně po tom, co podávání PCB skončilo, bylo usmrceno po jednom zvířeti z pokusné i kontrolní skupiny. Zbývající zvířata, krmená směsmi A 1 a A 2, byla poražena o tři měsíce později.

U prasat byl sledován zdravotní stav, spotřeba krmiva, opakovaně byla vážena a byla jim v ranních hodinách bez předchozího omezení příjmu potravy odebrána krev z *v. cava cran.* pro biochemické vyšetření séra. Byla stanovena kon-

centrace celkové bílkoviny, močoviny a glukózy použitím Bio-La-testů (Lachema, Brno), albuminu metodou, kterou popsal Rodkey (1965), celkového cholesterolu metodou, kterou uvedli Pearson aj. (1953). V krevním séru, uchovávaném při teplotě -20°C , byla v pokusech 1 až 4 stanovena koncentrace celkového tyroxinu (T_4) a celkového trijódtyroninu (T_3) při použití souprav RIA-testů vyráběných Ústavem radioekologie a využitia jadrovej techniky v Košicích. Ve čtvrtém pokusu byla koncentrace sérových kortikosteroidů určena spektrofotometricky (Raszyk a Dvořák, 1976). Po usmrcení prasat byly zjišťovány patologické změny, aktuální a relativní hmotnost jater a ledvin.

Výsledky jsou uváděny v aritmetických průměrech se střední chybou průměru. Statistická průkaznost rozdílů byla vypočtena použitím Studentova t -testu.

VÝSLEDKY

Toxické účinky obchodních směsí PCB nebyly klinicky zjištěny ani v jednom pokusu. Zvláštní pozornost byla věnována možnému výskytu kožních eflorescencí charakteru akné a pigmentací nacházených u lidí a dermatitid působících intravitální vady vepřových kůží. Tyto poruchy nebyly prokázány. Zdravotní stav při pokusech nebyl zjevně narušen. Dokumentují to i ukazatele užítkovosti a látkového metabolismu.

Přírůstky tělesné hmotnosti nebyly příjmem PCB v dávce 100 až 260 mg na kilogram krmiva negativně ovlivněny. Při použití směsí Delor 103 nebo Delor 106 u běhounů a Delor 103 u odstavených selat byly přírůstky poněkud větší, při aplikaci směsí Delor 103 nebo 105 v dávce 250 mg na kilogram krmiva a Delor 105 v dávce 100 mg na kilogram krmiva byly nepatrně nižší než u kontrolních skupin (tab. I). Překvapivý je účinek 1 mg směsí Delor 105 na kilogram krmiva, neboť tento přídavek stimuloval růst selat po odstavu a průkazně ($P < 0,05$) pozitivně ovlivnil jejich celkový přírůstek (pokus 5). Ani u prasat sledovaných ještě po ukončeném podávání PCB se neprojevovaly pozdní důsledky; růst pokusných kusů byl neprůkazně lepší než růst kusů kontrolních.

Po usmrcení zvířat nebyly zjištěny patologicko-anatomické změny. Vážení jater a ledvin v den ukončení příjmu směsí Delor ukázalo malé rozdíly v hmotnosti těchto orgánů mezi pokusnými a kontrolními skupinami (tab. II). S výjimkou třetího a pátého pokusu byla jejich relativní hmotnost účinkem PCB neprůkazně zvýšená. Nejvíce tomu tak bylo ve čtvrtém pokusu, ve kterém selata za 21 den přijala v průměru na jednotlivce 887 mg směsí Delor 105. Při větším příjmu, ale trvajícím pouze 14 dní, byly rozdíly nepatrné. Delor 103 neprůkazně zvýšil relativní hmotnost jater a ledvin při vysokém příjmu ve druhém pokusu, ne však při nižším dávkování v pokusu třetím. Nebyly zjištěny rozdíly mezi skupinami u prasat zařazených do druhého, čtvrtého a pátého pokusu za jeden až čtyři měsíce po ukončeném příjmu směsí Delor.

Přídavek směsí Delor v dávce 100 až 250 mg na kilogram krmivo selatům nezchutňoval. Jeho spotřeba na kus a den byla u pokusných selat poněkud menší než u kusů kontrolních. U pokusných běhounů však byla nepatrně větší (tab. I). Výrazně větší byla denní spotřeba startéru s přídavkem pouze 1 mg $\cdot \text{kg}^{-1}$ (pokus 5). Využití krmiva s přídavkem PCB bylo vždy lepší. Nejmenší spotřeba krmiva na kilogram přírůstek tělesné hmotnosti byla u selat přijímajících startér s 1 mg směsí Delor 105 v kilogramu — byla o 12 % nižší než u příslušných kontrol (tab. I). V ostatních pokusech nebyly parametry užítkovosti v relaci s celkovým příjmem směsí Delor na zvíře. Ve skupinách selat se průměrný pří-

II. Hmotnost prasat, aktuální a relativní hmotnost jater a ledvin u pokusných a kontrolních skupin po ukončeném podávání polychlorovaných bifenylů — The weights of the pigs, the actual and relative weight of liver and kidneys in the experimental and control groups after the termination of administration of polychlorinated biphenyls

Pokus	Příjem Deloru	Prase ^a kg	Játra g	Játra g/kg	Ledviny g	Ledviny g/kg
1	103, 105	10,00 ± 0,46	279,8 ± 13,2	28,0 ± 0,8	54,9 ± 3,8	5,50 ± 0,41
	—	10,30 ± 0,61	285,3 ± 18,3	27,7 ± 1,3	55,0 ± 1,7	5,34 ± 0,33
2	103, 106	39,81 ± 2,56	1006,0 ± 84,1	25,0 ± 0,8	194,6 ± 19,2	4,28 ± 0,08
	—	38,81 ± 2,14	890,0 ± 71,1	22,7 ± 0,8	156,0 ± 12,3	3,76 ± 0,21
3	103	13,33 ± 0,70	383,0 ± 11,6	30,2 ± 1,5	66,4 ± 4,8	4,98 ± 0,18
	—	13,29 ± 0,59	397,0 ± 26,8	31,7 ± 1,6	67,1 ± 5,0	5,04 ± 0,21
4	105	13,50 ± 0,93	459,0 ± 25,3	34,0 ± 1,3	73,5 ± 7,0	5,44 ± 0,25
	—	13,80 ± 0,57	412,8 ± 21,4	30,0 ± 1,1	67,2 ± 4,9	4,87 ± 0,21
5	105	23,83 ± 0,95	776,0	30,8	124,0	4,92
	—	21,12 ± 1,10	781,0	31,5	131,0	5,28

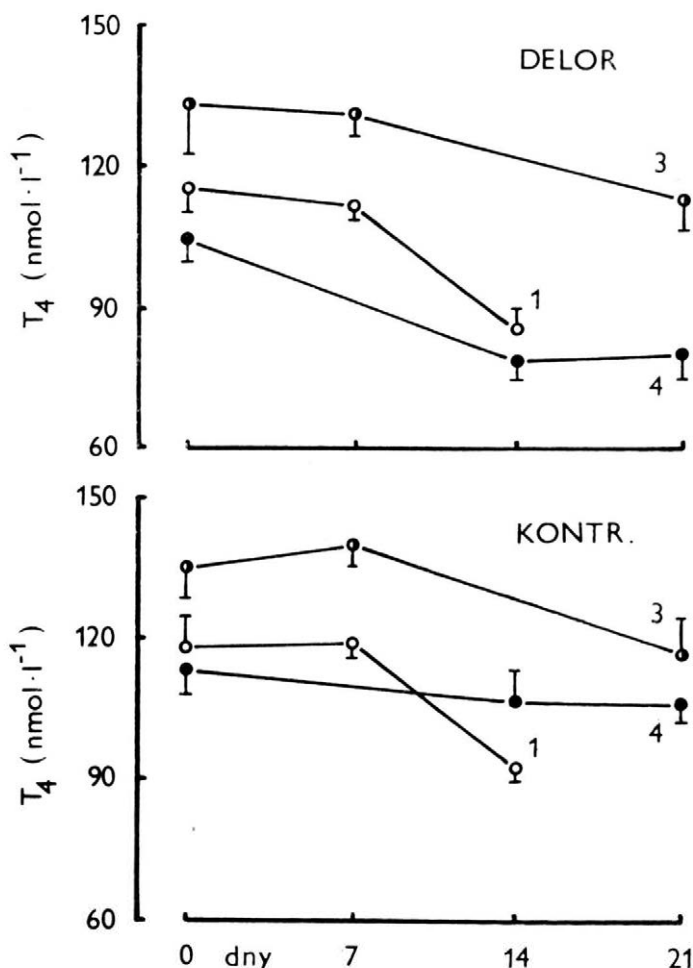
^a — počet zvířat vážených je v souladu s počtem usmrcených pouze v pokuse 1

jem PCB pohyboval od 887 do 1395 mg, u běhounů činil 6000 mg (tab. I).

Koncentrace hormonů štítné žlázy se u selat po odstavu snižovala ve srovnání s výchozí hodnotou často průkazně, a to jak u pokusných, tak u kontrolních skupin (obr. 1 a 2). Hladiny těchto hormonů u selat při ukončeném příjmu směsi Delor však byly vždy nižší a snižovaly se rychleji než u kontrol. Průměrná koncentrace T₄ u kontrol neklesla pod 90 nmol.l⁻¹, kdežto ze tří pokusných skupin tomu tak bylo u dvou. Rozdíly mezi skupinami byly ve čtvrtém pokusu statisticky průkazné ($P < 0,05$ a $0,01$) 14. a 21. den. Podobně tomu bylo u koncentrace T₃, jehož průměrné konečné hodnoty u selat při ukončeném příjmu PCB klesly pod 2,0 nmol.l⁻¹, kdežto ze tří kontrolních skupin tomu tak bylo jen u jedné. K největšímu snížení T₃ došlo v prvním a ve čtvrtém pokusu, v nichž selata přijímala směs Delor 105. Rozdíly mezi skupinami však nedosáhly statistické průkaznosti.

U běhounů (pokus 2) se koncentrace hormonů štítné žlázy v průběhu 21 dní podstatně neměnila. U pokusné skupiny byla koncentrace celkového tyroxinu, včetně výchozí, vždy neprůkazně nižší než u skupiny kontrolní. Podobná situace byla i u celkového trijódtyroninu, s tou výjimkou, že za sedm dní po začátku pokusu se hladina u kontrol průkazně snížila ($P < 0,05$), ale pouze přechodně, kdežto u pokusných prasat byl pokles ve srovnání s výchozí hodnotou trvale průkazný ($P < 0,01$ nebo $0,05$).

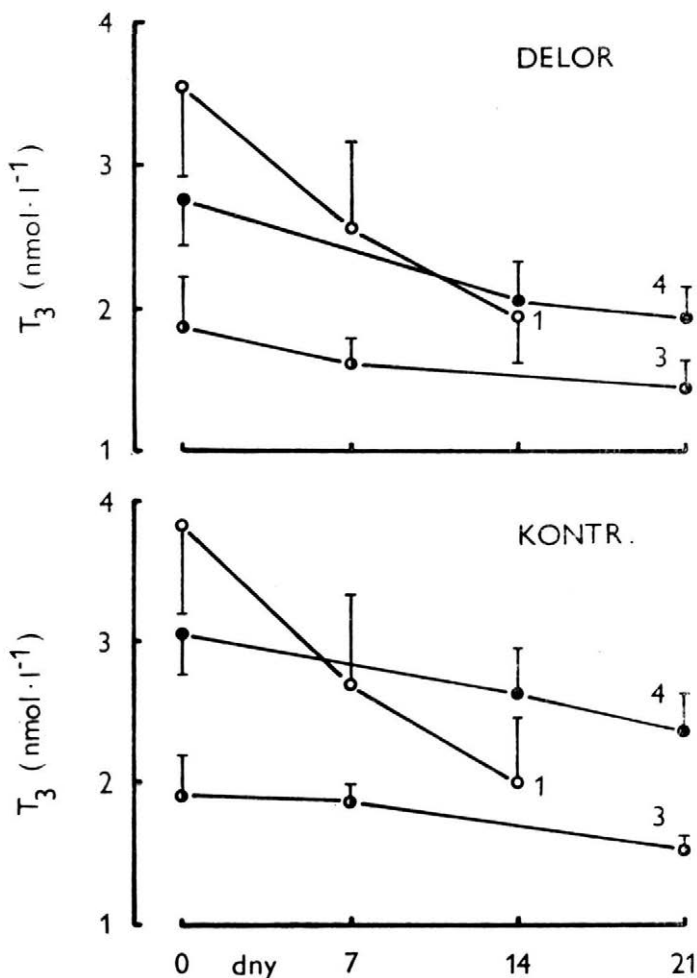
Sledováním koncentrace kortikosteroidů v krevním séru odstavených selat čtvrtého pokusu byl prokázán supresivní účinek směsi Delor 105. Jejich hladina 14. a 21. den byla u kontrolních zvířat 339 ± 37 a 430 ± 16 nmol.l⁻¹, v tutéž dobu u pokusných 311 ± 25 a 347 ± 28 nmol.l⁻¹.



1. Koncentrace thyroxinu v krevním séru selat přijímajících s krmivem Delor 103 nebo 105 (pokus 1), Delor 103 (pokus 3) a Delor 105 (pokus 4) a u skupin kontrolních (to-
tožně označených) — Thyroxine concentration in the blood serum of the piglets consuming, in their feed, Delor 103 or 105 (trial 1), Delor 103 (trial 3) and Delor 105 (trial 4) and in the control groups (trials denoted as above)

Koncentrace glukózy, cholesterolu, močoviny, celkové bílkoviny, albuminu a z předcházejících vypočteného globulinu, zjišťovaná v sedmi-denních nebo 14denních intervalech, se v séru selat za 21 den po od-stavu výrazně měnila. S výjimkou močoviny a albuminu se snižovala, většinou průkazně. Změny probíhaly v podstatě stejně u skupin pokus-ných jako kontrolních, ani v jednom případě nebyly mezi nimi rozdíly statisticky průkazné. Přesto často vyšší hladiny cholesterolu, celkové bíl-koviny a albuminu a nižší hladiny močoviny, zjišťované v průběhu podá-vání PCB nebo při jeho ukončení (tab. III), ve srovnání s týmiž ukazateli kontrolních selat nesvědčí pro nepříznivé účinky vysokých dávek směsí Delor na látkový metabolismus. V pátém pokusu, u selat, jejichž růst byl obsahem 1 mg směsi Delor 105 v kilogramu startéru stimulován, byla 26. den zjištěna i vyšší hladina globulinu ($12,7 \pm 1,6$ proti $11,7 \pm 0,6$ g . l⁻¹ u kontrol). Podobně tomu bylo ve třetím pokusu. U běhounů (pokus 2) byly vývojové změny sledovaných ukazatelů méně výrazné než u selat a lze je charakterizovat mírným zvyšováním koncentrace celkové bílko-viny, albuminu, globulinu a glukózy a kolísáním cholesterolu a močo-viny. Rozdíly mezi pokusnou a kontrolní skupinou byly velmi malé (tab. III) a nepotvrzovaly negativní působení PCB.

2. Koncentrace trijód-tyroninu v krevním séru selat přijímajících s krmivem Delor 103 nebo 105 (pokus 1), Delor 103 (pokus 3) a Delor 105 (pokus 4) a selat kontrolních skupin (totožně označených) — The concentration of triiodothyronine in the blood serum of piglets given feed containing Delor 103 or 105 (trial 1), Delor 103 (trial 3) and Delor 105 (trial 4) and in the control piglets (trials denoted as above)



DISKUSE

Vzhledem k ubikvitárnímu a persistujícímu výskytu PCB v životním prostředí a k jejich kumulaci v živočišných tkáních je třeba brát v úvahu jejich obsah v krmných směsích i v případech, kdy nedošlo k mimořádné kontaminaci havarijního charakteru nebo lokálního významu. Je to nutné pro udržení zdraví nejen hospodářských zvířat, ale především člověka konzumujícího jejich produkty. Množství reziduí PCB v tkáních lidí se stále zvyšuje (Holt aj., 1986; Focardi aj., 1986). Za hlavní zdroj PCB pro lidskou populaci jsou pokládány ryby (Kimbrough, 1985) a lze usuzovat, že také maso a tuk těchto zvířat, která ryby nebo rybí moučku přijímala jako krmivo. To jsou u nás především prasata a drůbež. Gajdůšková aj. (1985) proto doporučili jako největší přípustné množství PCB v rybích a ostatních živočišných moučkách používaných k výrobě krmných směsí pro drůbež $0,5 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$.

Výsledky dosažené v pátém pokusu, ve kterém zkrmování 1 mg směsi Delor 105 v kilogramu nemělo negativní účinky ani na jeden ze sledovaných parametrů, by dovolovalo použít k výrobě této krmné směsi rybí moučku poměrně silně kontaminovanou PCB. Ovšem bylo by to za před-

III. Koncentrace ukazatelů látkového metabolismu v krevním séru pokusných a kontrolních prasat po ukončeném podávání přípravků Delor — Concentration of the parameters of metabolism in the blood serum of the experimental and control pigs after the termination of administration of polychlorinated biphenyls

Pokus	Skupina	Glukóza mmol.l ⁻¹	Cholesterol mmol.l ⁻¹	Močovina mmol.l ⁻¹	Celková bílkovina g.l ⁻¹	Albumin g.l ⁻¹
1	PCB	5,22 ± 0,23	2,13 ± 0,18	5,31 ± 0,49	43,7 ± 0,65	28,9 ± 0,49
	kontrola	4,97 ± 0,22	2,26 ± 0,25	5,48 ± 0,47	43,6 ± 1,06	27,4 ± 0,82
2	PCB	6,05 ± 0,44	2,94 ± 0,10	5,96 ± 0,31	53,0 ± 1,59	28,2 ± 0,42
	kontrola	6,10 ± 0,49	2,73 ± 0,14	6,40 ± 0,28	53,4 ± 1,71	27,8 ± 1,13
3	PCB	5,61 ± 0,24	2,18 ± 0,12	5,93 ± 0,27	44,0 ± 0,67	29,0 ± 1,24
	kontrola	5,70 ± 0,16	2,21 ± 0,17	6,18 ± 0,39	42,9 ± 1,10	29,0 ± 0,99
4	PCB	5,71 ± 0,22	2,34 ± 0,23	5,28 ± 0,35	41,7 ± 1,24	30,6 ± 1,49
	kontrola	5,80 ± 0,29	2,08 ± 0,18	5,73 ± 0,24	40,4 ± 0,53	28,6 ± 1,13
5	PCB	5,54 ± 0,31	2,11 ± 0,08	4,76 ± 0,34	42,7 ± 0,64	30,0 ± 1,24
	kontrola	5,41 ± 0,28	2,00 ± 0,08	4,79 ± 0,21	41,4 ± 0,47	29,7 ± 0,60

pokladu, že jejich rezidua v jatečném produktu nebudou přesahovat hygienický limit daný pro potraviny. Vyšší přírůstky tělesné hmotnosti selat v pátém pokusu a vyšší využitelnost krmiva jsou v souladu s působením PCB stimulačním růst, již dříve pozorovaným v nižších koncentracích u prasat (Platonow aj., 1976; Guoth aj., 1984).

Při poznávání toxicity PCB u prasat bylo třeba věnovat pozornost účinkům vysokých hladin směsi Delor, jaké se při přirozené kontaminaci krmiv snad mohou vyskytnout jen zcela výjimečně. Jejich narušování zdraví a užitkovosti nebylo zjevné. Nebyl pozorován ani jeden z klinických symptomů popsaných u jiných živočišných druhů. Po usmrcení nebyly zjištěny patologicko-anatomické změny. Relativní hmotnost jater a ledvin byla zřetelně, ale neprůkazně zvýšená u selat jen za 21 den po celkovém příjmu 887 mg směsi Delor 105 na zvíře a u běhounů za 21 den po celkovém příjmu 6 g směsi Delor 103 a 106 na zvíře. Vzhledem k tomu, že byl pozorován vztah mezi zvýšením hmotnosti jater a toxicitou PCB (Yagi aj., 1985), je třeba posuzovat tento symptom kriticky v tom smyslu, že PCB v použitých obchodních směsích Delor mohou být v závislosti na množství a trvání příjmu i u mladých prasat toxické. Ve srovnání např. s výsledky u krys (Baumann aj., 1983), u nichž nižší dávky PCB zvýšily relativní hmotnost jater na dvojnásobek hodnoty u kontrol, však lze mladá prasata považovat k působení těchto xenobiotik za relativně odolná.

Dalším příznakem, který může signalizovat toxické účinky, je snížení hladin cirkulujících hormonů štítné žlázy. Podobně jako u zjišťované koncentrace celkové bílkoviny, albuminu, globulinu, močoviny, glukózy a cholesterolu v krevním séru, dochází po odstavu selat i u koncentrace celkového tyroxinu (T₄) a celkového trijódtyroninu (T₃) k vývojovým změnám (Dvořák a Neumannová, 1986), které mohou znesnad-

ňovat hodnocení. Ve srovnání s kontrolními skupinami však byly po příjmu PCB pozorovány často nižší hladiny T₄ a T₃. Pouze po příjmu 100 mg směsi Delor 105 na kilogram krmiva nabyly rozdíly u T₄ průkaznosti. Obdobný stav, spojený s ultrastrukturálními lézemi folikulárních buněk štítné žlázy, byl pozorován po příjmu přípravku Aroclor 1254 u krys (Collins aj., 1977). PCB zřejmě mění interakce mezi T₄, T₃ a transportním proteinem, na kterých závisí udržení normálního tyroidálního stavu. Projevuje se vztah mezi toxicitou, specifickou strukturou jednotlivých PCB a jejich vazebnou aktivitou k prealbuminu, hlavnímu proteinu, který v cirkulaci váže T₄ (Rickenbacher aj., 1986). Hypotyreoidóza je také považována za odpověď organismu, která zmírňuje toxické účinky chemikálií (Rozman aj., 1985). Snížení koncentrace T₄, popřípadě T₃ u selat a běhounů po příjmu PCB bylo malé, bez vlivu na tělesný růst. Nelze je ztotožňovat s tzv. syndromem nízkého T₄ a T₃ netyreoidálního původu, který může být doprovázen zvýšenou úmrtností (Zucker aj., 1985). Podstatně větší pokles koncentrace T₃ v séru spolu s projevy edémové nemoci kuřat byl zjištěn po zkrmování směsi Delor 105 (Herzig aj., 1985).

Působením směsi Delor 105 u selat ve čtvrtém pokuse se snížila i koncentrace kortikosteroidů v krevním séru, pravděpodobně v důsledku zvýšené aktivity jaterních enzymů metabolizujících cizorodé látky. Silný indukční účinek PCB na jaterní mikrozomální oxidázy se smíšenou funkcí byl opakovaně prokázán, stejně jako působení toxického pentachlorbifenyly na poruchy homeostáze steroidů (Yoshimura aj., 1985). Snížení sérových kortikosteroidů u selat bylo zjištěno již dříve působením induktoru mikrozomálních enzymů fenobarbitálu (Raszyk a Dvořák, 1976).

Z účinků směsí PCB použitých v relativně vysokých dávkách ve čtyřech pokusech u mladých prasat se vzhledem k negativním odchylkám sledovaných parametrů výrazněji projevovat účinek směsi Delor 105 než směsí Delor 103 nebo 106. Delor 105 lze pokládat za biologicky aktivnější a pravděpodobně také toxičtější. Obsahuje vícechlórované bifenyly, které jsou v prostředí vzhledem ke své vysoké persistenci v současné době převážně zjišťovány (Focardi aj., 1986). Údaje o obsahu PCB v rybích a masokostních moučkách jsou zatím omezené; při poměrně malém počtu vyšetření u nás nepřesáhla kontaminace krmných směsí 0,1 mg na kilogram (Lohniský aj., 1984). Taková koncentrace není pro zdraví prasat, snad s výjimkou jejich reprodukce, závadná. Na základě našich poznatků (i dosud nepublikovaných) lze usuzovat, že rybí moučky kontaminované PCB, nepřijatelné k přípravě krmných směsí pro drůbež (Gajdůšeková aj., 1985), by mohly být využity ve výživě mladých prasat.

Literatura

- AULERICH, R. J. — RINGER, R. K. — SAFRONOFF, J.: Assessment of primary vs. secondary toxicity of Aroclor 1254 to mink. Arch. envir. Contam. Toxicol., 15, 1986, s. 393-399.
- BAUMANN, M. — DEML, E. — SCHÄFFER, E. — GREIM, H.: Effects of polychlorinated biphenyls at low dose levels in rats. Arch. envir. Contam. Toxicol., 12, 1983, s. 509-515.
- COLLINS, W. T. — CAPEN, CH. C. — KASZA, L. — CARTER, C. — DARLEY, R. E.: Effect of polychlorinated biphenyls on the thyroid gland of rats. Amer. J. Path., 89, 1977, s. 119-130.

- DVOŘÁK, M. — NEUMANNOVÁ, M.: Růst odstavených selat a hladina jodtyroninů v krevním séru při působení tyreoaktivních látek. *Veter. Med. (Praha)*, 31, 1986, s. 265-276.
- FISCHBEIN, A. — RIZZO, J. N. — SOLOMON, S. J. — WOLFF, M. S.: Oculo-dermatological findings in workers with occupational exposure to polychlorinated biphenyls (PCBs). *Brit. J. Indust. Med.*, 42, 1985, s. 426-430.
- FOCARDI, S. — FOSSI, C. — LEONZIO, C. — ROMEI, R.: PCB congeners, hexachlorobenzene, and organochlorine insecticides in human fat in Italy. *Bull. envir. Contam. Toxicol.*, 36, 1986, s. 644-650.
- GAJDŮSKOVÁ, V. — MASEK, J. — MALÍKOVÁ, M. a kol.: Problematika drůbeže z hlediska cizorodých látek. [Výzkumná zpráva.] Brno, Výzkumný ústav veterinárního lékařství 1985. 41 s.
- GUOTH, J. — KAČMÁR, P. — TELEHA, M. — VASIL, M.: Vplyv polychlórovaných bifenylov (PCB) na aktivitu pečenevej anilínhydroxylázy a na niektoré metabolické parametre krvi prasiat. *Veter. Med. (Praha)*, 29, 1984, s. 29-38.
- HANSEN, L. G. — BYERLY, C. S. — METCALF, R. L. — BEVILL, R. F.: Effect of polychlorinated biphenyl mixture on swine reproduction and tissue residues. *Amer. J. veter. Res.*, 36, 1975, s. 23-26.
- HANSEN, L. G. — BEAMER, P. D. — WILSON, D. V. — METCALF, R. L.: Effect of feeding polychlorinated biphenyls to broiler cockerels in three dietary regimes. *Poult. Sci.*, 55, 1976a, s. 1084-1088.
- HANSEN, L. G. — WILSON, D. W. — BYERLY, C. S.: Effects on growing swine and sheep of two polychlorinated biphenyls. *Amer. J. veter. Res.*, 37, 1976b, s. 1021-1024.
- HERZIG, I. — TOULOVÁ, M. — PÍSAŘIKOVÁ, B. a kol.: Etiologie a prevence edémové nemoci drůbeže. [Výzkumná zpráva.] Brno, Výzkumný ústav veterinárního lékařství 1985. 48 s.
- HOLT, R. L. — CRUSE, S. — GREER, E. S.: Pesticide and polychlorinated biphenyl residues in human adipose tissue from northeast Louisiana. *Bull. envir. Contam. Toxicol.*, 36, 1986, s. 651-655.
- KAČMÁR, P. — GUOTH, J. — HRUŠKA, K. — TELEHA, M. — VASIL, M.: Dynamika exogénneho progesterónu v krvi prasiat zafažených polychlórovanými biphenylmi (PCB). *Veter. Med. (Praha)*, 30, 1985, s. 323-330.
- KIMBROUGH, R. D.: Laboratory and human studies on polychlorinated biphenyls (PCBs) and related compounds. *Envir. Hlth Perspect.*, 59, 1985, s. 99-106.
- LOHNISKÝ, J. — TEPER, I. — BIEN, R. — DOBIÁŠ, J.: Mykotoxiny a rezidua cizorodých látek v surovinách a krmných směsích, jejich původ, vliv na produkční účinnost, zdravotní stav zvířat a kvalitu finálního výrobku. [Výzkumná zpráva.] Pečky, Výzkumný ústav krmivářského průmyslu a služeb 1984. 151 s.
- NORBACK, D. H. — BARSOTTI, D. A.: Effect of polychlorinated biphenyls in nonhuman primates. *Fed. Proc. (Fed. Amer. Soc. exp. Biol.)*, 36, 1977, s. 396.
- PEARSON, S. — STERN, S. — MCGAVACK, T. H.: A rapid accurate method for the determination of total cholesterol in serum. *Analyt. Chem.*, 25, 1953, s. 813-814.
- PLATONOW, N. S. — GEISSINGER, H. D.: Distribution and persistence of polychlorinated biphenyls (Aroclor 1254) in growing piglets. *Veter. Rec.*, 93, 1973, s. 287-288.
- PLATONOW, N. S. — LIPTRAP, R. M. — GEISSINGER, H. D.: The distribution and excretion of polychlorinated biphenyls (Aroclor 1254) and their effect on urinary gonadal steroid levels in the boar. *Bull. envir. Contam. Toxicol.*, 7, 1972, s. 358-365.
- PLATONOW, N. S. — MEADS, E. B. — LIPTRAP, R. M. — LOTZ, F.: Effects of some commercial preparations of polychlorinated biphenyls in growing piglets. *Can. J. comp. Med.*, 40, 1976, s. 421-428.
- RASZYK, J. — DVOŘÁK, M.: Účinek glukózy a fenobarbitalu na koncentraci 11-hydroxykortikosteroidů v krevní plazmě selat. *Veter. Med. (Praha)*, 21, 1976, s. 61-68.
- RICKENBACHER, U. — McKINNEY, J. D. — OATLEY, S. J. — BLAKE, C. C. F.: Structurally specific binding of halogenated biphenyls to thyroxine transport protein. *J. med. Chem.*, 29, 1986, s. 641-648.
- RODKEY, F. L.: Direct spectrophotometric determination of albumin in human serum. *Clin. Chem.*, 11, 1965, s. 478-487.
- ROGAN, W. J. — GLADEN, B. C. — McKINNEY, J. D. — CARRERAS, N. — HARDY, P. — THULLEN, J. — TINGELSTAD, J. — TULLY, M.: Polychlorinated biphenyls (PCBs) and dichlorodiphenyl dichloroethene (DDE) in human milk: effects of maternal factors and previous lactation. *Amer. J. publ. Hlth*, 76, 1986, s. 172-177.

ROZMAN, K. — ROZMAN, T. — SCHEUFLER, E. — PAZDERNIK, T. — GREIM, H.: Thyroid hormones modulate the toxicity of 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin (TCDD). *J. Toxicol. envir. Hlth*, 16, 1985, s. 481-491.

SAFE, S.: Polychlorinated biphenyls (PCBs) and polybrominated biphenyls (PBBs): Biochemistry, toxicology and mechanism of action. *CRC Crit. Rev. Toxicol.*, 13, 1984, s. 319-395.

TIERNAN, T. O. — TAYLOR, M. L. — GARRETT, J. H. — Van NESS, G. F. — SOLCH, J. G. — WAGEL, D. J. — FERGUSON, G. L. — SCHECTER, A.: Sources and fate of polychlorinated dibenzodioxins, dibenzofurans and related compounds in human environments. *Envir. Hlth Perspect.*, 59, 1985, s. 145-158.

YAGI, N. — KAMOHARA, K. — ITOKAWA, Y.: Effect of difference in diet composition on the toxicity of polychlorinated biphenyls. *Bull. envir. Contam. Toxicol.*, 34, 1985, s. 709-714.

YOSHIMURA, H. — YOSHIHARA, S. — KOGA, N. — NAGATA, K. — WADA, I. — KUROKI, J. — HOKAMA, Y.: Inductive effect on hepatic enzymes and toxicity of congeners of PCBs and PCDFs. *Envir. Hlth Perspect.*, 59, 1985, s. 113-119.

ZUCKER, A. R. — CHERNOW, B. — FIELDS, A. I. — HUNG, W. — BURMAN, K. D.: Thyroid function in critically ill children. *J. Pediat.*, 107, 1985, s. 552-554.

Došlo dne 8. 12. 1986

ДВОРЖАК, М. — НЕУМАННОВА, М. (Научно-исследовательский институт ветеринарной медицины, Брно): Действия полихлорированных бифенилов (Делора 103, 105 и 106) в кормлении на здоровье молодых поросят. *Veter. Med. (Praha)*, 32, 1987 (7) : 417-428.

В пяти опытах у 71 поросенка и бегунков были тестованы токсические действия полихлорированных бифенилов (PCB) придаваемых исследуемым группам в комплекты кормовые смеси в форме средств Делор 103, 105 или 106 (Хемко, Стражске). Применение PCB в течение 14—21 дней в количестве 100—250 мг/кг кормления отрицательно не повлияло на состояние здоровья, продуктивные показатели и концентрацию общего белка, альбумина, глобулина, мочевины, глюкозы и холестерина в сыворотке крови. Как биологически наиболее активный проявился Делор 105, применение которого повышало релятивную массу печени, понижало сывороточный уровень гормонов щитовидной железы и кортикостероидов. Когда отнятые от матери поросята принимали 26 дней стартер с добавлением 1 мг средства Делор 105 на килограмм, что отвечает значительной естественной контаминации PCB, то не нашлись отрицательные действия, у животных был стимулирован рост и они лучше принимали корм. Результаты доказывают релятивную сопротивляемость организма молодых поросят к токсическому действию PCB.

контаминация питания; токсичность; поросята; обмен веществ; гормоны

DVOŘÁK, M. — NEUMANNOVÁ, M. (Veterinary Research Institute, Brno): *The Effects of Polychlorinated Biphenyls (Delor 103, 105 and 106) in Feed on the Health Condition of Young Pigs*. *Veter. Med. (Praha)*, 32, 1987 (7) : 417-428.

Five trials involving 71 piglets and young porkers were conducted to test the toxic action of polychlorinated biphenyls (PCB) added to the complete feed mixtures as Delor 103, 105 or 106 (manufactured by Chemko Strážske) administered to the experimental groups. The intake of these biphenyls for 14 or 21 days at rates from 100 to 250 mg per kg of feed had no adverse effect on the health condition, production parameters and concentration of total protein, albumin, globulin, urea, glucose and cholesterol in blood serum. Delor 105 had the highest biological effectiveness: its intake increased the relative weight of liver, reduced the serum level of thyroid hormones and corticosteroids. When the weaned piglets consumed a starter feed with an addition of 1 mg of Delor 105 per kg (corresponding to a high natural PCB contamination) for 26 days, no adverse effect was recorded and, on the contrary, the growth of the animals was stimulated and their feed utilization was better. The results suggest that the young pigs are comparatively resistant to the toxic action of PCB.

feed contamination; toxicity; piglets; metabolism; hormones

DVOŘÁK, M. — NEUMANNOVÁ, M. (Forschungsinstitut für Veterinärmedizin, Brno): *Auswirkungen von polychlorierten Biphenylen (Delor 103, 105 u. 106) im Futter auf den Gesundheitszustand junger Schweine*. Veter. Med. (Praha), 32, 1987 (7) : 417-428.

In fünf Versuchen mit 71 Ferkeln und jungen Läufern testeten wir die toxischen Wirkungen polychlorierter Biphenyle (PCB), die den Versuchsgruppen in Form des Präparats Delor 103, 105 oder 106 (Hersteller Chemko, Strážske) dem Komplexfutter beigefügt wurden. Die Aufnahme dieser Biphenyle für die Dauer von 14 bis 21 Tagen in Mengen von 100 bis 250 mg . kg⁻¹ Futter hatte keinen negativen Einfluß auf den Gesundheitszustand, auf die Produktionskenngrößen sowie auf die Gesamteiweiß-, Albumin-, Globulin-, Harnstoff-, Glukose- und Cholesterinkonzentrationen im Blutserum. Am biologisch aktivsten erwies sich Delor 105, dessen Aufnahme die relative Lebermasse erhöhte, den Serumspiegel der Schilddrüsenhormone und der Kortikosteroide herabsetzte. Falls abgesetzte Ferkel 26 Tage lang einen Futterstarter mit Beigabe von 1 mg Delor 105 je 1 kg aufnahmen, was etwa der beträchtlichen natürlichen Kontamination durch PCB entspricht, wurden nicht nur keine negativen Auswirkungen beobachtet, sondern es war eine Wachstumsstimulation und eine bessere Futterverwertung zu verzeichnen. Die Ergebnisse weisen eine relative Widerstandsfähigkeit von jungen Schweinen gegenüber der toxischen Wirkung von PCB nach.

Futtermittelkontamination; Toxizität; Ferkel; Stoffwechsel; Hormone

•

Adresa autorů:

MVDr. Miroslav Dvořák, CSc., RNDr. Milada Neumannová, Výzkumný ústav veterinárního lékařství, Hudcova 70, 621 32 Brno

FENYLPROPANDIOL A DIETYLTOLUAMID, NOVÝ REPELENTNÍ PŘÍPRAVEK K OCHRANĚ HOSPODÁŘSKÝCH ZVÍŘAT

J. Říha, J. Minář, K. Janeš, A. Vlček, V. Renda

ŘÍHA, J. — MINÁŘ, J. — JANEŠ, K. — VLČEK, A. — RENDA, V. (Výzkumný ústav veterinárního lékařství, Brno; Institut hygieny a epidemiologie, Praha; Tukový průmysl, koncern. Výzkumný ústav, Praha; Státní veterinární ústav, Gottwaldov): *Fenylpropandiol a dietyltoluamid, nový repelentní přípravek k ochraně hospodářských zvířat*. Veter. Med. (Praha), 32, 1987 (7) : 429-434.

V provozních podmínkách zemědělského závodu byla zkoušena směs repelentů 2-fenyl propandiol 1,3 a N,N'-diethyl-m-toluamid v poměru 1 : 1 u pasených dojníc plemene české strakaté. Pokus byl proveden v srpnu 1984 a trval 27 dní. Směs obou repelentů byla v 10% vodní emulzi třináctkrát aplikována na zvířata v 48hodinových intervalech. U ošetřených dojníc jsme nepozorovali nalétávání a bodání obtížným a krev sajícím dvoukřídlym hmyzem (ovádi, muchničky, komáři, pakomárci, synbovilní mouchy). Ekonomická účinnost repelentní směsi se projevila u ošetřených dojníc zvýšením dojivosti o 4,53 %. Také produkce mléčného tuku byla o 4,70 % vyšší než u dojníc neošetřených. Výroba 2-fenyl propandiolu 1,3 byla zahájena v roce 1986 v koncernovém podniku Tukový průmysl, závod Astrid, Praha (ČSSR), pod obchodním názvem fenylpropandiol.

Tabanidae; Simuliidae; Culicidae; Ceratopogonidae; repelentní účinek; ekonomická efektivnost

Situace ve vývoji ochranných prostředků proti dvoukřídleému hmyzu sajícímu krev je stále složitější s ohledem na zvýšené požadavky na ochranu životního prostředí i lidského zdraví, neboť některé insekticidy mohou zanechávat rezidua. Proto jsou v posledních letech namísto insekticidů v některých zemích preferovány prostředky, které tento hmyz odpuzují.

Množí se důkazy o nepříznivém působení dvoukřídleého obtížného a krev sajícího hmyzu na užitkovost hospodářských zvířat. Není-li dobytek chráněn, snižuje tento hmyz přírůstky živé hmotnosti (Říha aj., 1981; Quisenberry, 1984), produkci mléka a mléčného tuku (Miller aj., 1973; Říha aj., 1979; Schmidtmann aj., 1984) i pracovní výkon tažných koní (Říha aj., 1983). Mnozí autoři např. prokázali, že bodalka stájová (*Stomoxys calcitrans* L.) snižuje produkci mléka o 10 až 60 %, nehledě na přenos patogenů (Künast, 1981 a další).

Z významnějších prací zkoumajících dvoukřídly hmyz jako možný vektor nemocí lidí i zvířat připomeňme výzkumy přenosu viru TGE u prasat mouchou domácí (*Musca domestica* L.) (Gough a Jorgenson, 1983), zhoubné katarální horečky ovčí (*febris catarrhalis ovium*) (Walton aj., 1984) či leukózy skotu ovády a dalším bodavým dvou-

křídlym hmyzem ve stáji i na pastvině (Buxton aj., 1985). V Holandsku byly prováděny pokusy zahrnující prevenci letních mastitid přenášelných tímto hmyzem (Bertels a Robijns, 1983). Podobné práce byly uskutečněny i v dalších zemích (Sol, 1983).

Proto je dvoukřídlý obtížný a bodavý hmyz jako významný epidemiologický faktor tlumen ve stájích i na pastvinách (Kunz aj., 1984; Weidner, 1985).

Poněvadž se zjistilo, že tento hmyz je po určité době rezistentní vůči běžným i novějším insekticidům (Künast, 1980; Quisenberry aj., 1984), je i vzhledem k tomu vhodné použít látky repelentní.

Cílem této práce bylo terénní ověření a vyhodnocení repelentní účinnosti, včetně ekonomického efektu nového československého repelentu fenylpropandiol ve směsi s dietyltoluamidem u pasených dojníc a jeho dopadu na množství nadojeného mléka a mléčného tuku.

MATERIÁL A METODY

Pokus se uskutečnil na jihovýchodní Moravě v pastvinářské oblasti Vizovických vrchů v Jednotném zemědělském družstvu „Zálesí“ Luhačovice, okr. Gottwaldov, v srpnu roku 1984 a trval 27 dní. Pasené dojnice byly vystaveny nalétávání obtížného dvoukřídleho hmyzu sajícího krev a jeho bodání. Dva měsíce před zahájením pokusů byla ve stádě sledována produkce mléka a jeho tučnost na základě kontroly užitkovosti. Mezi dojnicemi určenými pro pokusnou a kontrolní skupinu jsme neshledali významné rozdíly.

Do pokusné a kontrolní skupiny jsme vybrali metodou náhodného výběru dojnice vyrovnané věkem a hmotností, s přibližně stejnou dobou otelení, ve stejné laktaci a s podobnou křivkou dojivosti, se zdravou mléčnou žlázou, plemene české strakaté, a to 15 kusů pokusných (ošetřených) a 15 kusů kontrolních (neošetřených).

V době pokusů bylo při dojení ve stáji dvakrát denně (ráno a večer) individuálně váženo mléko pokusných a kontrolních dojnic. Dále byla průběžně zjišťována tučnost mléka, kontrolován zdravotní stav dojnic a mléčné žlázy. Za tím účelem byly opakovaně odebírané vzorky mléka podrobeny laboratornímu rozboru a byla zjišťována jeho elektrická vodivost na automatickém detektoru mastitid (Ryšánek a Olejník, 1980) a počet buněčných elementů (Reichmuth, 1975). Dále byla sledována dynamika dvoukřídleho hmyzu sajícího krev v biotopu pastvin a ve stáji.

Pokusné dojnice byly v pravidelných 48hodinových intervalech zevně ošetřovány směsí repelentů 2-fenyl propandiol 1,3 a N,N'-diethyl-m-toluamid. Oba repelenty byly ve směsi zastoupeny stejným dílem.

Dietyltoluamid se v předchozích pokusech opakovaně osvědčil u skotu i u těžných koní. Fenylpropandiol byl před pokusy zkoušen v laboratorních podmínkách proti komárům, ovádům a pakomárcům a jeho repelentní účinnost byla o něco nižší než u dietyltoluamidu. Předběžným ověřením repelentní účinnosti této směsi bylo zjištěno, že obě látky mají synergický účinek, tzn. vyšší, než je účinnost jednotlivé látky.

Směs repelentů jsme na pokusné dojnice aplikovali ručním zahradním postřikovačem. Uskutečnili jsme 13 postřiků, na něž bylo spotřebováno 58,5 litru 10% vodní emulze (tj. 14,63 litru základního 40% roztoku dietyltoluamidu a propandiolu). Na jeden postřik 15 pokusných dojnic bylo spotřebováno 4,5 litru 10% vodní emulze repelentu, z toho na jeden kus připadlo 0,3 litru.

Po dobu pokusů jsme v pokusné lokalitě sledovali výskyt a početnost dvoukřídleho krev sajícího hmyzu napadajícího dobytek. Počet ovádů naletujících na ošetřené a neošetřené dojnice byl sledován upravenou metodou, kterou popsal Brejev (1950). Dále se na pastvině konaly celodenní sběry hmyzu do Skufinova lapáku.

Za příznivého počasí jsme v době večerního maxima aktivity komárů, muchniček a pakomárců odchytávali tento hmyz naletující na pozorovatele.

Po ukončení pokusů jsme zhodnotili celkový zdravotní stav a zdravotní stav mléčné žlázy pokusných a kontrolních dojnic.

Skupina	Počet kusů	Pokusné období (3. — 29. 8. 1984)			Index
		celkem	průměrná dojivost		
			na kus	na kus a den	
Produkce mléka (kg)					
Pokusná	15	6730,6	448,71	16,62	100,00
Kontrolní	15	6425,5	428,37	15,87	95,47
Produkce mléčného tuku (kg)					
Pokusná	15	242,05	16,14	0,60	100,00
Kontrolní	15	230,67	15,38	0,57	95,30
Produkce mléka (kg) FCM*)					
Pokusná	15	6326,76	421,79	15,62	100,00
Kontrolní	15	6039,97	402,67	14,92	95,47

*) Fatt Corrected Milk (Čvančara, 1965)

VÝSLEDKY A DISKUSE

V průběhu pokusů ani jeden kus neonemocněl, neuhynul ani nebyl odporažen. V místě pokusů byly zjištěny čtyři druhy ovádů (*Tabanidae*), a to *Tabanus bromius* L., *T. maculicornis* Zett., *T. bovinus* L., *Haematopota pluvialis* L. Z nich nejpočetnější byly druhy *T. bromius* a *T. maculicornis*, tvořící více než 80 % sběrů.

Dvoukřídlý krev sající hmyz z jiných čeledí se na pastvinách vyskytoval v menším množství. Z komárů (*Culicidae*) byly zjištěny druhy *Aedes vexans* Mig., *Anopheles maculipennis* Mig., *Anopheles claviger* Mig., *Culiseta annulata* Schrasch a *Culex pipiens* L., z pakomárců (*Ceratopogonidae*) druh *Culicoides obsoletus* (Mig.). Na pastvině byly dojnice obtěžovány muchničkami (*Simuliidae*), z nichž nejběžnější byl druh *Odagmia ornata* (Meig.), a synbovilními mouchami druhu *Musca autumnalis* Deg.

Ve stájových objektech byly hojné krev sající mouchy bodalky *Stomoxys calcitrans* L. a několik druhů nebodavých synbovilních much (*Musca domestica* L., *Fannia canicularis* L., *F. scalaris* F., *F. armata* Mig., *Hydrotaea irritans* Fall., *H. meteorica* L. a *Drosophila repleta*).

Početnost dvoukřídlého hmyzu v místě pokusů v letním období roku 1984 nebyla na pastvinách příliš vysoká. Na pasené neošetřené dojnice nalétávali za 40 minut tři až čtyři ovádi, hojné byly bodalky *Stomoxys calcitrans* L. Do Skufinova lapáku nalétalo za den 40 ovádů, 60 bodalek a více než 100 synbovilních much *Musca autumnalis* Deg.

Působnost 10% voodní emulze repelentů (fenylprodandiol s dietyl-

toluamidem) se u pokusných (ošetřených) dojníc projevila již po 13 aplikacích během 27 dnů pokusného období zvýšením mléčné užitkovosti o 4,53 %, včetně vyšší produkce mléčného tuku o 4,70 % ve srovnání se skupinou kontrolní, neošetřenou [tab. I].

Za pokusné období se průměrná dojivost jedné kontrolní (neošetřené) dojnice snížila o 20,34 kg mléka, což představuje ztrátu 0,75 kg mléka na kus a den. Také průměrná hmotnost mléčného tuku byla za stejné období nižší o 0,76 kg, tj. o 0,03 kg na kus a den. U dojníc ošetřených před vyhnáním na pastvu přetrvával ochranný účinek repelentu i ve stáji, v níž nebyly dvoukřídlym hmyzem (bodalky, synbovilní mouchy) napadány. Proto je žádoucí, aby doba účinnosti preparátu byla co nejdélejší.

Protože pokusné období bylo z technických důvodů krátké, je rozdíl mezi mléčnou produkcí ošetřených a neošetřených dojníc malý. Z tohoto důvodu je významné používání repelentů po celé pastevní období, kdy jsou difference v mléčné užitkovosti ošetřených a neošetřených dojníc výraznější, jak jsme prokázali s dietyltoluamidem v našich předchozích pracích (Říha aj., 1979).

Vzhledem ke krátkému pokusnému období nebyly matematicko-statistickou analýzou získaných výsledků zjištěny signifikantní rozdíly u jednotlivých proměnných, zahrnujících věk krav, pořadí laktace, množství nadojeného mléka, včetně jeho tučnosti a hodnoty elektrické vodivosti mléka. Pouze u ukazatele počet buněčných elementů byly cytologickým vyšetřením zjištěny statisticky významné rozdíly ($p \geq 0,90$) v neprospech kontrolní skupiny.

Z analýzy rozptylu průměrných hodnot nejvýznamnějších meteorologických ukazatelů zjištěných v meteorologické stanici v Luhačovicích v období od 3. 8. do 29. 8. 1984 je patrné, že sledované období bylo teplotně i vzdušnou vlhkostí nadnormální. Tyto rozdíly jsou ve srovnání se stejným obdobím let 1980 až 1983 statisticky významné. Naopak množství srážek a délka slunečního svitu byly podnormální. Uvedené skutečnosti měly vliv na početnost a druhové zastoupení dvoukřídleho obtížného a krev sajícího hmyzu.

V tomto příspěvku jsme chtěli upozornit na možnost použití nového repelentního přípravku 2-fenyl propandiol 1,3 ve směsi s N,N'-diethyl-m-toluamidem k ochraně hospodářských zvířat. Pro zjištění statistické významnosti zkoušeného preparátu bude třeba uskutečnit další dlouhodobé šetření.

Literatura

- BERTELS, G. — ROBIJNS, J. M.: Preventie van zomermastitis door vliegenbestrijding: Een vergelijkende praktijkproef over 2 jaar. Vlaams diergeneesk. Tijdschr., 52, 1983, č. 2, s. 77-87.
- BREJEV, K. A.: O provedenii krovosusušičich dvukrylych i ovodov pri napadenii ich na severnogo olenja i ovetnyh reakcij olenej. I. Povedenie krovosusušičich dvukrylych i ovodov pri napadenii ich na severnogo olenja. Parazit. Sbor., 12, 1950, s. 167-198.
- BUXTON, B. A. — HINKLE, N. G. — SCHULTZ, R. D.: Role of insects in the transmission of bovine leucosis virus. Potential for transmission by stable flies, horn flies, and tabanids. Amer. J. veter. Res., 46, 1985, č. 1, s. 123-126.
- ČVANČARA, I.: Zemědělská výroba v číslech. 1. vyd. 2. sv. Praha 1965. 1013 s.
- GOUGH, P. M. — JORGENSEN, R. D.: Identification of porcine transmissible

- gastroenteritis virus in house flies (*Musca domestica* Linnaeus). Amer. J. veter. Res., 44, 1983, č. 11, s. 2073-2082.
- KUNZ, S. E. — MILLER, J. A. — SIMS, P. L. — MEYERHOEFFER, D. C.: Economics of controlling horn flies (*Diptera: Muscidae*) in range cattle management. J. econ. Ent., 77, 1984, č. 3, s. 657-660.
- KÜNST, C.: Das Stallfliegenproblem. Untersuchungen zur Insektizidresistenz bei der Stubenfliege (*Musca domestica* L.) in Süddeutschland. Berl. Münch. tierärztl. Wschr., 93, 1980, č. 10, s. 191-193.
- KÜNST, C.: Der Wadenstecher (*Stomoxys calcitrans* L.). Prakt. Schäd.-Bekämpf., 33, 1981, č. 9, s. 121-123.
- MILLER, R. W. — PICKENS, L. G. — MORGAN, N. O. — THIMIJJAN, R. W. — WILSON, R. L.: Effects of stable flies on feed intake and milk production of dairy cows. J. econ. Ent., 66, 1973, č. 3, s. 711-713.
- QUISENBERRY, S. S.: Horn fly (*Diptera: Muscidae*) control of beef cows with permethrin impregnated ear tags and effect on subsequent calf weight gains. J. econ. Ent., 77, 1984, č. 2, s. 422-424.
- REICHMUTH, J.: Somatic cell counting — interpretation of results. In: Proc. IDF Seminar on mastitis control. Brusel 1975. 93 s.
- RYŠÁNEK, D. — OLEJNÍK, P.: Diagnostická účinnost měření elektrické vodivosti mléka. Veter. Med. (Praha), 25, 1980, č. 8, s. 467-474.
- ŘÍHA, J. — MINÁŘ, J. — KRÁLÍK, O.: Vliv dvoukřídleho hmyzu sajícího krev na hmotnost pasených jalovic. Veter. Med. (Praha), 26, 1981, č. 6, s. 321-328.
- ŘÍHA, J. — MINÁŘ, J. — KRÁLÍK, O. — KROUPA, V.: Hospodářský význam ochrany tažných koní v lesních závodech před dvoukřídlym hmyzem sajícím krev. Veter. Med. (Praha), 28, 1983, č. 3, s. 169-176.
- ŘÍHA, J. — MINÁŘ, J. — LAMATOVÁ, Z. — MATOUŠKOVÁ, O.: Ekonomický význam prevence ztrát působených dvoukřídlym hmyzem sajícím krev u pasených dojníc. Veter. Med. (Praha), 24, 1979, č. 5, s. 275-283.
- SCHMIDTMANN, E. T. — BERKEBILE, D. — MILLER, R. W. — DOUGLASS, L. W.: The face fly (*Diptera: Muscidae*): Effect on Holstein milk secretion. J. econ. Ent., 77, 1984, s. 1200-1205.
- SOL, J.: Zomerwrag: de pathogenese, de schade, het voorkomen en de preventie. Tijdschr. Diergeneesk., 108, 1983, č. 11, s. 443-452.
- WALTON, T. E. — BARBER, T. L. — JONES, R. H. — LUEDKE, A. J.: Epizootology of bluetongue virus: transmission cycle, vectors, and serotypic. Prev. veter. Med., 2, 1984, č. 1/4, s. 379-388.
- WEIDNER, H.: Volksinsektenkunde von Nordost Bayern: Einige Methoden und Mittel zur Bekämpfung von Haus- und Gesundheitsschädlingen. Anz. Schäd.-Kde Pfl.-Umweltschutz, 58, 1985, s. 25-30.

Došlo dne 28. 7. 1986

РЖИГА, Я. — МИНАРЖ, Я. — ЯНЕС, К. — ВЛЧЕК, А. — РЕНДА, В. (Научно-исследовательский институт ветеринарной медицины, Брно; Институт гигиены и эпидемиологии, Прага; Жировая промышленность, концерновый научно-исследовательский институт, Прага; Государственный ветеринарный институт, Готтвальдов): **Фенилпропандиол и диэтилтолуамид, новый репеллентный препарат для защиты сельскохозяйственных животных.** Veter. Med. (Praha), 32, 1987 (7) : 429-434.

В рабочих условиях сельскохозяйственного предприятия была исследована смесь репеллентов 2-фенил пропандиол 1,3 и N,N- — диэтилтолуамид в отношении 1:1 у пасущихся дойных коров пестрой породы. Опыт был проведен в августе 1984 года и продолжался 27 дней. Смесь обоих репеллентов была в 10% водной эмульсии 13 раз применена на животных в 48 часовых интервалах. У обработанных дойных коров мы не наблюдали налетание и кусание назойливыми и кровь сосущими насекомыми (оводы, москиты, комары, толкунчики и т. д.). Экономическое действие репеллентных смесей проявилось у обработанных дойных коров повышением дойности на 4,53%. Продукция молочного жира была также на 4,70% выше, чем у необработанных дойных коров. Производство 2-фенил пропандиола 1,3 было начато в 1986 году на концерновом предприятии Жировая промышленность, фабрика «Астрид», Прага (ЧССР), под торговым названием фенилпропандиол.

Tabanidae; Simuliidae; Culicidae; Ceratopogonidae; действие репеллентов; экономическая эффективность

ŘÍHA, J. — MINÁŘ, J. — JANEŠ, K. — VLČEK, A. — RENDA, V. (Veterinary Research Institute, Brno; Institute of Hygiene and Epidemiology, Praha; Fat Industry Research Institute, Praha; State Veterinary Institute, Gottwaldov): *Phenylpropandiol and Diethyltoluamide: a New Repellent for the Protection of Farm Animals*. Veter. Med. (Praha), 32, 1987 (7) : 429-434.

A 1:1 mixture of the repellents 2-phenyl propandiol 1,3 and N,N'-diethyl-m-toluamide was tested under farming conditions in the grazing dairy cows of the Bohemian Pied breed. The trial was conducted in August 1984 and lasted 27 days. The mixture of the two repellents in a 10% water emulsion was applied thirteen times in 48-hour intervals. Invasion and biting by nuisance and blood-sucking dipterous insects (gadflies, black flies, mosquitoes, biting midges, synovine flies) were not observed in the treated cows. The economic effectiveness of the repellent mixture was characterized by an increase of milk yield (by 4.53 %). The production of milk fat was also higher (by 4.70 %) than in the untreated cows. The production of 2-phenyl propandiol 1,3 was started in 1986; the product is manufactured under the commercial name phenylpropandiol by the Astrid Praha plant of the Tukový průmysl Corporation of Czechoslovakia.

Tabanidae; Simuliidae; Culicidae; Ceratopogonidae; repellent effects; economic effectiveness

ŘÍHA, J. — MINÁŘ, J. — JANEŠ, K. — VLČEK, A. — RENDA, V. (Forschungsinstitut für Veterinärmedizin, Brno; Institut für Hygiene und Epidemiologie, Praha; Fettindustrie — Konzern-Forschungsinstitut, Praha; Staatliches Veterinärinstitut, Gottwaldov): *Phenylpropandiol und Diäthyltoluamid — ein neues Repellentpräparat zum Schutz landwirtschaftlicher Nutztiere*. Veter. Med. (Praha), 32, 1987 (7) : 429-434.

Unter Betriebsbedingungen eines landwirtschaftlichen Betriebs wurde eine Repellentsmischung u. zw. 2-Phenyl-Propandiol 1,3 und N,N'-Diäthyl-m-toluamid im Verhältnis 1:1, an weidenden Milchkühen der Böhmisches Fleckviehrasse probiert. Der Versuch wurde im August 1984 realisiert und dauerte 27 Tage. Die Mischung beider Repellents wurde in 10 %iger Wasseremulsion dreizehnmal in 48stündigen Intervallen appliziert. Bei den behandelten Kühen verfolgten wir kein Anfliegen und Stechen durch lästige und blutsaugende Zweiflügler (Bremsen, Kriebelmücken, Stechmücken, Zuckmücken, synovile Fliegen). Der ökonomische Effekt der Repellentsmischung kam bei den behandelten Milchkühen durch eine Erhöhung der Milchleistung um 4,53 % zum Ausdruck. Auch die Milchfettproduktion war bei den behandelten Tieren um 4,70 % höher als bei den unbehandelten. Die Herstellung des 2-Phenyl-Propandiols 1,3 wurde im Jahre 1986 im Konzernunternehmen Tukový průmysl (Fettindustrie), Betrieb Astrid, Praha (ČSSR), eingeleitet und trägt die Handelsbezeichnung Fenylpropandiol.

Tabanidae; Simuliidae; Culicidae; Ceratopogonidae; insektenabstoßende (repellente) Wirkung; ökonomische Effektivität

Adresy autorů:

MVDr. Jaromír Říha, Výzkumný ústav veterinárního lékařství, Hudcova 70, 621 32 Brno

RNDr. Jan Minář, CSc., Institut hygieny a epidemiologie, Šrobárova 48, 100 42 Praha 10

Ing. Karel Janeš, Tukový průmysl, koncern; Výzkumný ústav, Karlova 48, 110 00 Praha 1

MVDr. Antonín Vlček, MVDr. Vlastimil Renda, Státní veterinární ústav, 761 13 Gottwaldov - Lazy 3695

KONTAMINACE ŽITNÉ MOUKY TOXINOGENNÍM KMENEM *PENICILLIUM ISLANDICUM* SOPP A EMBRYOTOXICKÝ ÚČINEK JEHO SEKUNDÁRNÍCH METABOLITŮ NA KUŘECÍ ZÁRODEK

D. Veselý, D. Veselá, J. Tichá

VESELÝ, D. — VESELÁ, D. — TICHÁ, J. (Ústav experimentální biofarmacie ČSAV, Hradec Králové, pracoviště Olešnice v Orlických horách; Mlýnský a pekárenský průmysl, Praha): *Kontaminace žitné mouky toxinogenním kmenem *Penicillium islandicum* Sopp a embryotoxický účinek jeho sekundárních metabolitů na kuřecí zárodek*. Veter. Med. (Praha), 32, 1987 (7) : 435-439.

V roce 1986 jsme našli v zámělu jednoho pražského mlýna dvě žitné mouky kontaminované toxinogenním kmenem *Penicillium islandicum* Sopp. *P. islandicum*, kultivované za pokusných podmínek, poskytlo z jednoho kilogramu pšenice celkem osm gramů chloroformového extraktu obsahujícího tři gramy luteoskyrinu. Efektivní dávka (ED₅₀) chloroformového extraktu na dvoudenním, třídením a čtyřdenním kuřecím zárodku byla 0,8 (0,5—1,2); 2,0 (1,7—2,6) a 2,8 (1,7—4,6) µg. Chloroformový extrakt měl ve všech dnech podání silný teratogenní účinek. Z malformací se nejčastěji objevovaly mikrooftalmie a anoftalmie, mozková hernie, oboustranný rozštěp zobáku a redukční deformity končetin.

luteoskyrin; mykotoxiny; embryotoxicita; teratogenita

Penicillium islandicum Sopp se za druhé světové války často vyskytovalo v rýži dovážené z různých zemí do Japonska. Konzumace této žlutě zbarvené rýže byla spojována s toxikózami japonských vojáků. Akutní intoxikace kuřat vyvolaná krmivem kontaminovaným *P. islandicum* se v Japonsku objevila v roce 1963. Pozdější průzkumy mykoflóry dovážené i domácí rýže ukázaly již poměrně nízký výskyt této plísně. Toxické metabolity *P. islandicum* jsou dobře prostudované a je jich známo přes třicet. Chemicky se řadí do skupiny anthrachinonů a cyklických peptidů. Podle toxicity jsou nejvýznamnějšími hepatotoxiny luteoskyrin a cyklochlorotin. U luteoskyrinu byl také prokázán významný hepatokarcinogenní účinek na myš a krys. Toxinogenní kmeny *P. islandicum* mohou produkovat na jednom kilogramu rýže až 6 g luteoskyrinu. Pro svoji vysokou produkci karcinogenního luteoskyrinu je *P. islandicum* považováno za významný kontaminant výživy a krmiv v Asii (Enomoto a Ueno, 1974; Pohland a Mislivec, 1976; Enomoto, 1978).

V minulých letech jsme se u nás setkávali s *P. islandicum* jen velmi vzácně na dovezené rýži a kukuřici. V lednu roku 1986 jsme odebrali ze zámělu jednoho pražského mlýna šest pšeničných a dvě žitné mouky. V obou žitných moukách, chlebové i výražce, jsme našli *P. islandicum*

v množství 28 % a 40 % ze všech přítomných plísňí vyrostlých na sladidlovém agaru. Izolované *P. islandicum* jsme testovali na produkci luteoskyrinu a ověřili embryotoxicitu chloroformového extraktu této plísně na kuřecím zárodku.

MATERIÁL A METODY

P. islandicum izolované ze žitné mouky jsme kultivovali na 30 g sterilní pšenice se 40 % vody. Kultivace probíhala v Erlenmeyerových baňkách o objemu 300 ml, uzavřených vatovou zátkou, při teplotě 25 °C. V časovém rozmezí 3 až 30 dnů jsme odebírali po třech až čtyřech dnech dvě baňky na zkoušku produkce luteoskyrinu. Obsah baněk jsme zalili 100 ml chloroformu a extrahovali pět minut v mixéru. Vzniklou suspenzi jsme filtrovali přes filtrační papír v Büchnerově nálevce a zbytek na filtru jsme promyli 50 ml chloroformu. Chloroformové extrakty jsme po přefiltrování přes bezvodý síran sodný odpařili v laboratorním vakuovém odpařovači do sucha. Suchý zbytek jsme rozpustili v chloroformu a alikvotní podíl jsme nanесли na start chromatogramu spolu se standardy luteoskyrinu (Sigma). Chromatografické desky, Silufol nebo Merck, jsme před použitím postříkali 0,1 M chelatonem 3 a sušili nejprve na vzduchu, potom tři hodiny při teplotě 105 °C. Chromatogramy jsme vyvíjeli eluční směsí *n*-hexan : aceton (2 : 1). Intenzitu žlutého zbarvení skvrny luteoskyrinu o $R_f = 0,45$ v testovaných vzorcích jsme porovnali s intenzitou zbarvení skvrny nanesených standardů a vypočetli jsme produkci luteoskyrinu po různých kultivačních dobách.

Chloroformové roztoky po stanovení luteoskyrinu jsme spojili a znovu odpařili do sucha. Zbytek jsme rozpustili v minimálním množství chloroformu a za míchání jsme přilili stonásobný objem *n*-hexanu. Po hodině stání jsme roztok se sraženinou přefiltrovali přes skleněnou fritu o průlinčitosti S-4 a zachycenou sraženinu jsme promyli *n*-hexanem. Sraženinu na fritě jsme rozpustili v acetonu a acetonový červenooranžový roztok jsme odpařili do sucha na vodní lázni.

Základní roztok delipidovaného extraktu *P. islandicum* o koncentraci 100 $\mu\text{g} \cdot 10 \mu\text{l}^{-1}$ jsme připravili rozpuštěním 10 mg suchého extraktu v 1 ml 20 % etanolu. Roztoky nižších koncentrací jsme připravili ředěním základního roztoku redestilovanou vodou. Roztoky nebo suspenze známých koncentrací jsme aplikovali dvoudenním, třídenním a čtyřdenním kuřecím zárodkům. Metodiku a způsob vyhodnocení jsme již popsali (Veselý aj., 1985).

VÝSLEDKY A DISKUSE

Produkce luteoskyrinu *P. islandicum* za uvedených kultivačních podmínek začínala šestý den, vrcholila 14. až 17. den a do 30. dne již zůstávala konstantní. Po ustálení dosahovala produkce průměrných hodnot 0,09 g luteoskyrinu ve 30 g pšenice, v přepočtu 3 g luteoskyrinu v jednom kilogramu pšenice. Hmotnost extraktu po odstranění balastních tuků *n*-hexanem byla 8 g v jednom kilogramu pšenice. Podle popisu tenkovrstvého chromatogramu (Bouhet aj., 1976) produkoval námi testovaný kmen také islandicin, iridoskyrin, rubroskyrin a lumiluteoskyrin.

Toxicita delipidovaného extraktu *P. islandicum* na dvoudenní, třídenní a čtyřdenní kuřecí zárodek je uvedena v tab. I. Střední efektivní dávky (ED_{50}) extraktu, vypočtené z tab. I grafickou probitovou metodou, jsou 0,8 (0,5–1,2); 2,0 (1,7–2,6) a 2,8 (1,7–4,6) μg pro dvoudenní, třídenní a čtyřdenní kuřecí zárodky. Embryotoxické a malformační účinky extraktu *P. islandicum* jsou shrnuty v tab. II. Nejčastěji pozorovanými malformacemi ve všech dnech podání byly mikrooftalmie a anoftalmie, mozková hernie, haemocefalus a mikrocefalus. Pouze u dvoudenních zárodků jsme pozorovali dysplasie ocasu. U třídenního zárodku dochází

I. Toxicita extraktu *P. islandicum* na dvoudenní, třídenní a čtyřdenní kuřecí zárodky — The toxicity of *P. islandicum* extract to two, three and four days old chicken embryos

Dávka (μg)	Četnost uhynulých a malformovaných zárodků		
	den podání		
	2	3	4
100	—	1,00	1,00
30	0,90	1,00	1,00
10	0,90	0,90	0,70
3	0,90	0,60	0,70
1	0,60	0,10	0,30
0,3	0,10	—	—

II. Embryoletální a malformační účinky na přežívající zárodky, vyvolané extraktem *P. islandicum* v pásmu embryotoxicity — The embryoletal and malforming effects of *P. islandicum* extract within the embryotoxicity range, as exerted on the surviving embryos

Den podání	Počet zárodků			Četnost poškození orgánů přežívajících zárodků						
	celkem	normálních	uhynulých	mozek	oči	obličej	tělní stěna	končetiny	ocas	srdce
2	40	7	14	0,42	0,62	0,00	0,00	0,04	0,31	0,00
3	40	5	27	0,15	0,31	0,23	0,08	0,31	0,08	0,23
4	50	13	12	0,26	0,18	0,60	0,29	0,21	0,03	0,00

krátce po aplikaci vyšších koncentrací extraktu k bradykardii, síňokomorové disociaci a často k zástavě krevního oběhu. Poruchy srdeční činnosti jsou příčinou úhynu zárodků a interventrikulárního septálního defektu srdce. Na třídenních a čtyřdenních kuřecích zárodcích jsme zaznamenali vysoký výskyt oboustranného rozštěpu zobáku a redukčních deformit končetin. U čtyřdenních zárodků dochází po dávkách vyšších než 3 μg ke kontrakci amnia, která způsobuje eventraci tělní stěny zárodků.

P. islandicum izolované z tuzemské žitné mouky má vysokou produkci mykotoxinů, srovnatelnou s japonskými produkčními kmeny. Z embryotoxických účinků na kuřecí zárodek vidíme, že extrakt nepůsobí jako typický cytotoxin a jeho akutní toxický účinek na savce bude poměrně nízký. Teratogenní efekt na kuřecí zárodky při všech dnech podání je velmi výrazný. V literatuře jsme dosud nenalezli odkaz na embryotoxické a teratogenní účinky *P. islandicum* nebo luteoskyrinu. Nejzávažnější nebezpečí pro výživu však představuje hepatokarcinogenní účinek luteoskyrinu, který se může projevovat po dlouhé době a po malých dávkách. Nečekaný výskyt toxinogenního kmene *P. islandicum* v žitné mouce domácího původu potvrzuje důležitost mykologické kontroly

poživatin a potravinářských surovin. Jak vyplývá z dosavadních poznatků o výskytu toxinogenních plísní na našem území, nelze ani jednu z eventualit vyloučit.

Literatura

BOUHET, J. C. — PHAM VAN CHUONG, P. — TOMA, F. — KIRSZENBAUM, M. — FROMAGEOT, P.: Isolation and characterization of luteoskyrin and rugulosin, two hepatotoxic anthraquinoids from *Penicillium islandicum* Sopp and *Penicillium rugulosum* Thom. J. agric. Fd Chem., 24, 1976, s. 964-972.

ENOMOTO, M.: Carcinogenicity of mycotoxins. In: URUGACHI, K. — YAMAZAKI, M. (Eds.): Toxicology, biochemistry and pathology of mycotoxins. Japan, Kodansha Ltd. 1978, s. 239-262.

ENOMOTO, M. — UENO, I.: *Penicillium islandicum* (toxic yellowed rice) — luteoskyrin — islanditoxin — cyclochlorotine. In: PURCHASE, I. F. H. (Ed.): Mycotoxins. Amsterdam, Elsevier 1974, s. 303-326.

POHLAND, A. E. — MISLIVEC, P.: Metabolites of various *Penicillium* species encountered on foods. In: RODRICKS, V. V. (Ed.): Mycotoxins and other fungal related food problems. Washington, D. C., Amer. chem. Soc. 1976, s. 110-143.

VESELÝ, D. — VESELÁ, D. — NEUMANNOVÁ, V.: Produkce cyklopiazonové kyseliny, její účinky na kuřecí zárodek a jednodenní kohoutky. Veter. Med. (Praha), 30, 1985, č. 6, s. 339-346.

Došlo dne 21. 11. 1986

ВЕСЕЛЫ, Д. — ВЕСЕЛА, Д. — ТИХА, Я. (Институт экспериментальной биофармации ЧСАН, Градец Кралове, место работы Олешнице в Орлицких горах; мукомольная и хлебопекарная промышленность, Прага): Заражение ржаной муки токсиногенными штаммами *Penicillium islandicum* Sopp. и эмбриотическое действие его вторичных метаболитов на куриный зародыш. Veter. Med. (Praha), 32, 1987 (7) : 435-439.

В 1986 году мы нашли в одной пражской мельнице две ржаные муки, зараженные токсиногенным штаммом *Penicillium islandicum* Sopp. *P. islandicum*, культивированный в опытных условиях, дал с одного килограмма пшеницы всего восемь граммов хлороформного экстракта содержащего три грамма лутеоскрина. Эффектная доза (ЭД₅₀) хлороформного экстракта в двухсуточном, трехсуточном и четырехсуточном курином зародыше была 0,8 (0,5—1,2); 2,0 (1,7—2,6) и 2,8 (1,7—4,6) мкг. Хлороформный экстракт сильно действовал в течение всех дней подачи. Из пороков развития чаще всего появлялись микрофтальмия и анофтальмия, мозговая герния, двухстороннее расщепление клюва и редукционные деформации конечностей.

лутеоскринин; микотоксин; эмбриотоксицит, тератогенит

VESELÝ, D. — VESELÁ, D. — TICHÁ, J. (Institute of Experimental Biopharmacy of the Czechoslovak Academy of Sciences, Hradec Králové, Station Olešnice v Orlických horách; Milling and Baking Industries Corp., Praha): Contamination of Rye Flour with the Toxicogenic Strain of *Penicillium islandicum* Sopp and the Embryotoxic Effects of its Secondary Metabolites on the Chicken Embryo. Veter. Med. (Praha), 32, 1987 (7) : 435-439.

Material milled and sampled in 1986 in one Prague flour mill included two flour batches contaminated with a toxicogenic strain of *Penicillium islandicum* Sopp. *P. islandicum*, cultivated under experimental conditions, yielded the total of eight grams of chloroform extract containing three grams of luteoskyrin from a kilogram of wheat. The effective dose of chloroform extract was 0.8 μ g (0.5—1.8) for a two-day old chicken embryo, 2.0 μ g (1.7—2.6) for a three-day old embryo and 2.8 μ g (1.7—4.7) for a four-day old embryo. On all days of administration the chloroform

extract had a strong teratogenous action. The most frequent malformations included microphthalmia and anophthalmia, cerebral hernia, bilaterally cleft beak, and reduction deformities of the extremities.

luteoskyrin; mycotoxins; embryotoxicity; teratogeny

VESELÝ, D. — VESELÁ, D. — TICHÁ, J. (Institut für experimentelle Biopharmazie der Tschechoslowakischen Akademie der Wissenschaften, Hradec Králové, Arbeitsstätte Olešnice v Orlických horách /im Adlergebirge/; Mühlen- und Backwarenindustrie, Praha): *Kontamination von Roggenmehl durch den toxinogenen Stamm *Penicillium islandicum* Sopp und embryotoxische Auswirkung seiner sekundären Metaboliten auf Kükenembryonen*. Veter. Med. (Praha), 32, 1987 (7) : 435-439.

Im Jahre 1986 fanden wir in einer Charge aus einer Prager Mühle zwei Arten Roggenmehl, welches durch den toxinogenen Stamm *Penicillium islandicum* Sopp kontaminiert war. Das unter Versuchsbedingungen kultivierte *P. islandicum* gab aus einem Kilogramm Weizen insgesamt acht Gramm Chloroformextrakt ab, das drei Gramm Luteoskyrin enthielt. Die effektive Dosis (ED₅₀) des Chloroformextrakts an zwei-, drei- und viertägigen Kükenembryonen betrug 0,8 (0,5—1,2); 2,0 (1,7—2,6) und 2,8 (1,7—4,6) µg. Der Chloroformextrakt erwies an allen Applikationstagen eine starke teratogene Wirkung. Unter den Mißbildungen erschienen am häufigsten Mikrophthalmie und Anophthalmie, Gehirnhernien, Schnabelspalten sowie Reduktionsdeformationen der Extremitäten.

Luteoskyrin; Mykotoxine; Embryotoxizität; Teratogenität

Adresy autorů:

Ing. Drahomír Veselý, ing. Doubravka Veselá, Ústav experimentální biofarmacie ČSAV, Hradec Králové, pracoviště Olešnice v Orlických horách, 517 83 Olešnice v Orlických horách č. 14

RNDr. Jarmila Tichá, Mlýnský a pekárenský průmysl, g. ř., Na Pankráci 30, 140 04 Praha 4

Vybrané nejnovější tituly z oboru veterinární medicína ve fondu ÚZLK

- LARSSON, M.: Diagnostic methods of Canine Hypothyroidism and influence of nonthyroidal illness on thyroid hormones and thyroxine-binding proteins.
Uppsala 1987. D 70.369/4
- LEHN-JENSEN, H.: Cryopreservation of bovine embryos.
Copenhagen 1986. D 78.603
- Mery povyšeniya resistantnosti organizma životnykh. Sbornik naučnykh trudov.
Novosibirsk 1986. E 45.767
- Metody i sredstva diagnostiki, terapii i profilaktiki infekcionnykh boleznej životnykh. Trudy VIEV T. 63.
Moskva 1985. D 29.043/63
- Mycobacteriosis in swine and their significance to public health.
Washington 1986. C 25.908/49
- Praxis der Kleintierchirurgie.
Stuttgart 1981. D 79.027
- PRIETZ, G.: Huf- und Klauenkunde mit Hufbeschlaglehre.
Jena 1985. D 77.033
- Problemy veterinarnoj immunologii.
Moskva 1985. D 78.337

VYUŽITÍ ROSE BENGAL TESTU V DIAGNOSTICE BRUCELÓZY ZAJÍCŮ

F. Štěrbá, M. Halačková

ŠTĚRBA, F. — HALAČKOVÁ, M. (Státní veterinární ústav, Jihlava): *Využití Rose bengal testu v diagnostice brucelózy zajíců*. Veter. Med. (Praha), 32, 1987 (7) : 441-447.

Diagnostickou účinnost Rose bengal testu jsme ověřovali na souboru 72 vzorků krve zajíců odstřelených v ohnisku brucelózy, sérologicky pozitivních, těmito metodami — metodou rychlé aglutinace se sérem, povrchově fixačním testem, metodou pomalé aglutinace a reakcí vazby komplementu. Zjistili jsme, že Rose bengal test byl pozitivní v 57 případech (79,17 %), povrchově fixační test v 60 případech (83,33 %), rychlá aglutinace se sérem ve 41 případech (56,94 %), pomalá aglutinace v 55 případech (76,39 %) a reakce vazby komplementu v 63 případech (87,50 %). V devíti případech (12,5 %) jsme pozitivní reakci zjistili pouze Rose bengal testem. Výsledky potvrdily, že Rose bengal test je citlivou kvalitativní sérologickou metodou, technicky a časově nenáročnou, vhodnou pro rutinní diagnostické použití. Při terénních epizootologických depistážích v ohniscích brucelózy zajíců je Rose bengal test vhodnou screeningovou sérologickou metodou.

krv; epizootologické depistáže; sérologické vyšetření

Epizootologická závažnost brucelózy zajíců vyžaduje soustavně a systematicky sledovat zdravotní stav zaječí zvěře v ohniscích a v okolí výskytu této nákazy a také prasat, zejména v chovech s větší koncentrací.

Naše pracoviště od roku 1970 významně spolupracovalo při rozsáhlých epizootologických depistážích ve vybraných lokalitách s výskytem brucelózy zajíců v rámci jednoho okresu ČSR (N. J.). Ze značného množství získaných sérologických výsledků bylo možné zhodnotit diagnostickou účinnost prakticky používaných sérologických metod a také ověřit a do sérodiagnostiky zavést novou metodu — povrchově fixační test (Františková, 1972; Matoušek a Františková, 1972). Velké množství brucelózních zajíců bylo v rámci komplexní laboratorní diagnostiky brucelózy využito k detailnímu propracování morfologie zaječí brucelózy a k její patomorfologické diferenciální diagnostice (Štěrbá, 1982, 1983). Typizací izolovaných kmenů *B. suis* byl zjištěn výhradně biovar 2 (Štěrbá, 1985), což je zvláště významný poznatek pro epizootologii i epidemiologii. Dále se naše pracoviště podílelo na epizootologických depistážích zaměřených na izolaci původce v ohniscích brucelózy zajíců z myšovitých hlodavců; tyto depistáže byly negativní (Halačková, 1983; Štěrbá, 1985).

Při hromadných epizootologických depistážích zaměřených na brucelózu v ohniscích brucelózy zajíců bylo v rámci komplexní laboratorní diagnostiky této nákazy sérologické vyšetření nejrychlejší a spolehlivou metodou.

Jednou z expresních sérologických metod používaných v diagnostice brucelózy je Rose bengal test (Morgan aj., 1969), který byl v některých zemích, např. v Austrálii (Anonym, 1980) a USA (Nicolleti, 1967) použit k eradikaci brucelózy skotu. Manthei (1968) použil tento test v sérodiagnostice brucelózy prasat.

Rose bengal test je relativně citlivá a technicky nenáročná makroskopická aglutinační metoda na průkaz IgG imunoglobulinů v krevním séru infikovaných zvířat. Užívá se purifikovaný antigen (pH 3,65) *Brucella abortus*, obarvený bengálskou červení. Výhodou testu proti standardní aglutinaci, která v krevním séru indikuje kombinovanou hladinu IgM a IgG imunoglobulinů, je skutečnost, že Rose bengal test je reaktivní především s IgG aglutininy. Po expoziční době jsou v průběhu infekce nejdříve v krevním séru syntetizovány IgM aglutininy. U některých infekcí (patří mezi ně právě brucelóza) jsou v krevním séru syntetizovány IgG aglutininy před IgM aglutininy. V těchto případech často bývá Rose bengal test pozitivní ještě před standardní aglutinací (Morgan, 1969; cit. Gower a Wright, 1974).

O použití Rose bengal testu v sérodiagnostice brucelózy zajíců nejsou v literatuře údaje. Pouze Halačková (1983) vyšetřila Card testem 183 krevní séra zajíců odstřelených z ohnisek brucelózy a uvedla, že výsledky získané touto metodou se shodovaly s výsledky zjištěnými povrchově fixačním testem.

Cílem této práce bylo ověřit účinnost a využití Rose bengal testu v sérodiagnostice brucelózy zajíců pro další prohloubení a zkvalitnění její laboratorní diagnostiky a možnosti využití testu v praxi.

MATERIÁL A METODY

V roce 1984 jsme vyšetřili na brucelózu 561 krví zajíců odstřelených v různém časovém intervalu během lovecké sezóny ve vybraných lokalitách v ohnisku brucelózy v rámci jednoho okresu (Nový Jičín). Z vyšetřeného souboru pozitivně reagovalo na brucelózu 72 krví. Při vyšetřování jsme použili těchto metod: Rose bengal test (dále jen RBT), rychlou aglutinaci se sérem (RAS), povrchově fixační test (PFT), pomalou aglutinaci (PA) a reakci vazby komplementu (RVK). Za účelem negativní kontroly jsme stejnými metodami vyšetřili cca 10 % (60 vzorků) na brucelózu negativních krevních sér zajíců. Abychom vyloučili zkřížené reakce s tularémií, vyšetřili jsme všechny krevní vzorky i na tularémii metodami rychlé a pomalé aglutinace.

Při vyšetřování metodami RAS, PFT, PA a RVK jsme postupovali podle standardních Veterinárních laboratorních vyšetřovacích metodik. Při vyšetřování metodou RBT jsme použili antigen *Brucella abortus* — RBT, vyrobený v n. p., Bioveta, Ivanovice na Hané. Postupovali jsme takto: kapku vyšetřovaného séra (0,05 cm³) jsme nakapali na čistou skleněnou desku a smísili se stejným velkým množstvím antigenu. Po řádném smíchání obou kapek skleněnou tyčinkou jsme po dobu asi 30 sekund kývavými pohyby desku nakláněli, aby se kapky dokonale promíchaly a aby se reakce urychlila. Výsledky jsme hodnotili do tří minut. V pozitivním případě se vytvořily vločky. Při vyšetřování jsme dbali na to, aby sérum i antigen měly při reakci pokojovou teplotu.

VÝSLEDKY

Výsledky jsou uvedeny v tab. I a II. V tab. I je uveden přehled výsledků dosažených jednotlivými sérologickými metodami. V devíti případech (12,5 %), tj. u čísel 64 až 72, byla pozitivní reakce zjištěna pouze

I. Přehled výsledků zjištěných jednotlivými sérologickými metodami — A survey of the results obtained by different serological methods

Pořadové číslo	Kvalitativní metody			Kvantitativní metody	
	RBT	RAS	PFT	PA	RVK
1, 8, 19	+	+	+	1:40	1:80
2	—	—	±	1:10	1:160
3	—	—	+	1:10	1:320
4, 36, 44, 54	+	+	+	1:160	1:1280
5	+	—	+	1:40	1:320
6	+	+	+	1:320	1:320
7, 56	+	+	+	1:80	1:160
9	+	—	+	1:20	1:320
10	+	—	±	1:20	1:160
11, 17	—	—	+	1:10	1:40
12	—	±	+	1:40	1:640
13, 15, 23	+	+	+	1:40	1:640
14	+	—	+	1:20	1:160
16, 26, 34	+	+	+	1:80	1:640
18	—	—	+	1:20	1:320
20, 52	+	+	+	1:40	1:160
21	±	±	+	1:40	1:320
22	+	+	+	1:5120	1:2560
24, 48	+	+	+	1:80	1:1280
25, 31	+	+	+	1:40	1:320
27, 51	+	+	+	1:20	1:160
28	+	+	+	1:320	1:2560
29	+	+	+	1:1280	1:2560
30, 42	+	—	+	1:10	1:80
32, 33	+	+	+	1:160	1:640
35	+	+	+	1:20	1:640
37, 39	+	+	+	1:80	1:320
38	+	+	+	1:10	1:40
40	+	+	+	1:80	1:80
41	+	+	+	1:160	1:320
43	+	—	+	1:80	1:640
45	—	+	+	1:80	1:320
46	—	—	+	1:20	1:80
47	—	—	+	1:10	1:160
49, 50	+	+	+	1:40	1:1280
53	—	—	±	1:20	1:160
55	—	+	+	1:40	1:320

Pořadové číslo	Kvalitativní metody			Kvantitativní metody	
	RBT	RAS	PFT	PA	RVK
57	+	—	+	1 : 20	1 : 80
58	+	±	+	1 : 20	1 : 80
59	+	+	+	1 : 160	1 : 640
60	—	±	+	1 : 20	1 : 40
61	—	—	+	1 : 20	1 : 40
62	—	±	+	1 : 20	1 : 80
63	+	+	+	1 : 160	1 : 2560
64 až 72	+	—	—	—	—

Reakce: + pozitivní; ± dubiální; — negativní

metodou RBT. Tento test byl při aglutinačním titru 1 : 80 negativní pouze v jednom případě (č. 45), při titru 1 : 40 ve dvou případech (č. 12, 55), při titru 1 : 20 v šesti případech (č. 18, 46, 53, 60, 61, 62) a při titru 1 : 10 byl negativní v pěti případech (č. 2, 3, 11, 17, 47).

Srovnání diagnostické účinnosti použitých sérologických metod je vyjádřeno v tab. II. RBT jako kvalitativní sérologická metoda byl o něco méně citlivý než PFT (—4,16 %), ale výrazně citlivější než RAS (+22,23 %). Ve srovnání se standardní pomalou aglutinací byl RBT o málo citlivější (+2,78 %) a teoreticky vzato méně účinnější než RVK (—8,33 %).

DISKUSE

Diagnostická účinnost Rose bengal testu je poměrně vysoká, jen o málo nižší než u povrchově fixačního testu, který je hodnocen jako vysoce efektivní a vhodná metoda pro běžnou rutinní diagnostiku bru-

II. Srovnání diagnostické účinnosti jednotlivých sérologických metod — Comparison of the diagnostic effectiveness of different serological methods

Výsledek	RBT		RAS		PFT		PA		RVK	
	počet	%	počet	%	počet	%	počet	%	počet	%
Pozitivní (+)	57	79,17	41	56,94	60	83,33	55	76,39	63	87,50
Dubiální (±)	1	1,39	5	6,94	3	4,17	8	11,11	—	0,0
Negativní (—)	14	19,44	26	36,11	9	12,50	9	12,50	9	12,50
Celkem	72	100,00	72	100,00	72	100,00	72	100,00	72	100,00

celózy zajíců (Františková, 1972; Matoušek a Františková, 1972; Handl, 1985). Výhodou RBT je jeho technická a časová nenáročnost.

Z hlediska rutinní diagnostiky brucelózy zajíců a při epizootologických depistážích v ohniscích brucelózy, zejména při hromadném sérologickém vyšetřování na honech, je RBT vhodnou metodou. Lze jí použít i ve vybavené terénní laboratoři, takže není třeba transportovat všechny krve z odstřelených zajíců do Státních veterinárních ústavů.

V terénních podmínkách na honech se při sérologickém vyšetřování zajíců na brucelózu běžně používá metoda rychlé aglutinace s krví, která však má nízkou diagnostickou účinnost. Halačková (1983) uvádí u této metody jen 33,1% pozitivitu ve srovnání s pozitivními a dubiozními reakcemi metodou PFT. Proto lze jako vhodnější screeningovou metodu doporučit RBT.

V souvislosti s vyšetřováním odstřelených zajíců na honech pouze zevní prohlídkou je třeba zdůraznit, že je naprosto nedostačující a nespolehlivé. Podle našich zjištění převažovaly samice. Při patologicko-anatomickém vyšetření byly brucelózní změny převážně na vnitřních orgánech a na pohlavním aparátu u samic jen v 30,4 %, u samic na děloze jen v 52,9 % (Štěrbá, 1983). Unikají tedy pozornosti zajíců obojího pohlaví, ale i při vyvinutých granulomatózních změnách je palpační vyšetření problematické, zejména u samic.

Z výsledků vyplývá, že RBT byl negativní ve 14 případech. Z toho byly v osmi případech (57,1 %) zjištěny poměrně vysoké titry komplementfixačních protilátek (v rozmezí 1 : 160 až 1 : 640), což poukazuje na chronické stadium brucelózní infekce. Ve zbývajících šesti případech (42,9 %) byly zjištěny nízké titry aglutininů (1 : 10 až 1 : 20), ale i nižší titry komplementfixačních protilátek (1 : 40 až 1 : 80). V těchto případech nelze v souladu se závěry, které uvádějí Štěrbá aj. (1985), jednoznačně určit stadium infekce. Domníváme se, že i u zajíců se bude uplatňovat jejich individuální vnímavost k brucelózní infekci.

Podobně jako Halačková (1983) jsme ani my nezjistili vzájemnou zákonitost mezi výškou hladiny aglutinačních a komplementfixačních protilátek. Stejně tak je obtížné určit a zobecnit existující zákonitosti vyplývající ze shodnosti výsledků jednotlivými metodami. V této souvislosti je třeba zdůraznit, že z technických důvodů jsme nemohli u jednotlivých případů porovnat výsledky s patomorfologickým a bakteriologickým nálezem, neboť jsme měli k dispozici jen krevní vzorky. Toto srovnání by bylo velmi žádoucí u devíti případů pozitivních pouze metodou RBT. Domníváme se, že v těchto případech šlo o čerstvou infekci, kdy RBT indikoval v krevním séru IgG aglutininy, které byly syntetizovány dříve než IgM aglutininy. Odpovídá to výsledkům, které experimentálně zjistili u skotu Ray a Conley (rok neuveden). Protože tvorba protilátek u zajíců dosud není objasněna, bude tato otázka předmětem dalšího studia.

Z dosažených výsledků vyplývá, že RBT je při přesném dodržení návodu výrobce antigenu — Bioveta, n. p., Ivanovice na Hané — a při dobré kvalitě krevních sér zajíců vhodnou a diagnosticky účinnou metodou pro rutinní diagnostiku brucelózy zajíců. Lze ji proto doporučit k depistážím v ohniscích brucelózy, neboť tlumení nákaz lovné zvěře je neoddelitelnou součástí prevence zdraví hospodářských zvířat a v případě brucelózy zajíců i chovů prasat.

Poděkování

Za ochotu a účinnou spolupráci při odběru krví zajíců děkujeme MVDr. B. Čechovi z OVZ Nový Jičín.

Literatura

- ANONYM: Standardised Rose bengal test for bovine brucellosis. Austral. veter. J., 56, 1980, s. 555.
- FRANTIŠKOVÁ, M.: Využití povrchové fixačního testu v diagnostice brucelózy zajíců odstřelených na kolových honech. In: Pořov. Zbor., II, 1972, s. 185-189.
- GOWER, S. G. M. — WRIGHT, E. C.: An automated Rose bengal agglutination test using the ADAM system. Veter. Rec., 95, 1974, č. 24, s. 544-547.
- HALÁČKOVÁ, M.: Příspěvek k sérodiagnostice brucelózy zajíců. [Písemná atestační práce k atestaci II. stupně.] Košice, Ústav pre doškolovanie veterinárnych lekárov 1983. 51 s.
- HANDL, R.: Efektivnost povrchové fixačního testu v diagnostice brucelózy zajíců. Veter. Med. (Praha), 30, 1985, č. 8, s. 501-505.
- MANTHEI, C. A.: Report of the subcommittee on research, 1968. Proc. nat. brucel. Commit. Progr. Rep. Coop. State-Fed. brucel. Erad. Prog., USDA, Agriculture Research Service, Washington, D. C. 1968.
- MATOUŠEK, Z. — FRANTIŠKOVÁ, M.: Povrchové fixační test v rychlé diagnostice brucelózy zajíců. Veterinářství, 22, 1972, s. 515-516.
- MORGAN, W. J. B. — McKINNON, D. J. — CULLEN, G. A.: The Rose bengal plate agglutination test in the diagnosis of brucellosis. Veter. Rec., 85, 1969, s. 636-639.
- NICOLLETI, P.: Utilization of the card test in brucellosis eradication. J. Amer. med. Assoc., 151, 1967, s. 1778-1783.
- RAY, W. C. — CONLEY, J.: Evaluation of brucellosis card test on serums from cattle experimentally exposed to *Brucella abortus*. USDA, ARS, ANH, Washington, D. C.
- ŠTĚRBA, F.: Patomorfologické změny u brucelózních zajíců. Veter. Med. (Praha), 27, 1982, č. 7, s. 437-448.
- ŠTĚRBA, F.: Patomorfologická diferenciální diagnostika brucelózy zajíců. Veter. Med. (Praha), 28, 1983, č. 5, s. 293-308.
- ŠTĚRBA, F.: Brucelóza zajíců. Veterinářství, 35, 1985, č. 6, s. 277-280.
- ŠTĚRBA, F. — ZÁMEK, L. — HALÁČKOVÁ, M. — KRACLÍKOVÁ, V.: Vývoj morfologických změn a protilátkové odezvy morčat experimentálně infikovaných bakteriemi *Brucella suis*, biotyp 2. Veter. Med. (Praha), 30, 1985, č. 10, s. 611-628.

Došlo dne 28. 8. 1986

ШТЕРБА, Ф. — ГАЛАЧКОВА, М. (Государственный ветеринарный институт, Йиглава): Применение теста Розе-бенгал в диагностике бруцеллеза зайцев. Veter. Med. (Praha), 32, 1987 (7): 441-447.

Диagnostическую эффективность теста Розе-бенгал испытывали на совокупности 72 образцов серологических позитивной крови убитых в очаге бруцеллеза зайцев следующими методами: методом скорой агглютинации с сывороткой, поверхностно фиксационным тестом, методом медленной агглютинации и реакцией связи компонентов. Установили, что тест Розе-бенгал был положительным в 57 случаях (79,17%), поверхностно фиксационный тест в 60 случаях (83,33%), скорая агглютинация с сывороткой в 41 случае (56,94%), медленная агглютинация в 55 случаях (76,39%) и реакция связи компонента в 63 случаях (87,5%). В девяти случаях (12,5%) положительную реакцию установили только с помощью Розе-бенгал теста. Результаты подтвердили, что Розе-бенгал тест является чувствительным технически и в отношении времени нетребовательным серологическим методом, годным для рутинного диагностического использования. При эпизоотологических обследованиях в очагах бруцеллеза зайцев Розе-бенгал тест пригоден в качестве серологического скринингового метода.

кровь; эпизоотологические обследования; серологическое обследование

ŠTĚRBA, F. — HALAČKOVÁ, M. (State Veterinary Institute, Jihlava): *Using the Rose Bengal Test in the Diagnosis of Brucellosis in Hare*. Veter. Med. (Praha), 32, 1987 (7) : 441-447.

The diagnostic effectiveness of the Rose bengal test was verified in a set of 72 samples of the blood of hare shot in a focus of brucellosis; the blood was found to be serologically positive by the following methods: rapid agglutination with serum, surface fixation test, method of slow agglutination, and the complement fixation reaction. The Rose bengal test was found positive in 57 cases (79.17 %), the surface agglutination test was positive in 60 cases (83.33 %), rapid agglutination with serum in 41 cases (56.94 %), slow agglutination in 55 cases (76.39 %), and the complement-fixation reaction in 63 cases (87.50 %). In nine cases (12.5 %) a positive reaction was obtained only when the Rose bengal test was used. The results confirm that the Rose bengal test is a sensitive qualitative serological method of low technical and time requirements, suitable for routine diagnostic uses. In the field epizootological investigations in the foci of hare brucellosis, the Rose bengal test is a good screening serological method.

blood; epizootological investigation; serological examination

ŠTĚRBA, F. — HALAČKOVÁ, M. (Staatliches Veterinärinstitut, Jihlava): *Anwendung des Rose-Bengal-Tests in der Diagnostik der Hasen-Brucellose*. Veter. Med. (Praha), 32, 1987 (7) : 441-447.

Wir prüften die diagnostische Wirksamkeit des Rose-Bengal-Tests durch 72 Blutproben von in einem Brucelloseherd geschossenen Hasen, welche anhand folgender Methoden — Methode der raschen Agglutinationsreaktion mit Serum, Oberflächenfixationstest, Methode der langsamen Agglutination und Komplementbindungsreaktion — als serologisch positiv ausgewertet wurden. Wir stellten fest, daß der Rose-Bengal-Test in 57 Fällen (79,17 %) positiv war, der Oberflächenfixationstest in 60 Fällen (83,33 %), die rasche Agglutinationsreaktion mit Serum in 41 Fällen (56,94 %), die langsame Agglutination in 55 Fällen (76,39 %) und die Komplementbindungsreaktion in 63 Fällen (87,50 %). In neun Fällen (12,5 %) wurde die positive Reaktion ausschließlich durch den Rose-Bengal-Test ermittelt. Unsere Ergebnisse bestätigten, daß der Rose-Bengal-Test eine sensitive qualitative serologische Methode darstellt, die technisch wenig anspruchsvoll und zeitsparend und für die routinemäßige diagnostische Anwendung gut geeignet ist. Bei epizootologischen Terrainermittlungen in Herden der Hasenbrucellose ist der Rose-Bengal-Test eine geeignete serologische Screeningmethode.

Blut; epizootologische Ermittlungen; serologische Untersuchung

Adresa autorů:

MVDr. František Štěrb a, CSc., MVDr. Marie Halačková, Státní veterinární ústav, Rantířovská 93, 586 05 Jihlava

Upozorňujeme čtenáře, že v čísle 8 časopisu

VETERINÁRNÍ MEDICÍNA

mají být uveřejněny články:

- J. Brouček, K. Kovalčík, D. Gajdošík, V. Brestenský: Zmeny biochemických ukazovateľov dojnic vyvolané extrémne nízkymi teplotami
- E. Bekeová, J. Elečko, V. Hendrichovský, J. Choma, L. Lázar, M. Krajničáková: Vplyv beta-karoténu na koncentrácie tyroxínu a cholesterolu u telných jalovic pred pôrodom a po pôrode
- Z. Škollová, M. Goiš: Průkaz kmenů *Haemophilus pleuropneumoniae* koaglutinačním testem
- J. Raszyk a kol.: Etiologie a patogenese papulózní dermatitidy výkrmových prasat
- V. Rajtová: Morfológia a výskyt supraependymových štruktúr v komorovom systéme mozgu oviec
- A. Rybníkář, J. Schmied, J. Strossa: Lyofilizace dermatofytů
- I. Pavlásek: Rychlá metodika detekce oocyst kokcií rodu *Cryptosporidium* u kuřat

CONTENTS

Zajac J., Žuffa T., Černek J.: Evaluation of the Results of the ELISA Reaction in the Serological Diagnosis of Bovine Leukosis	385
Holman J.: Morphogenesis of Nuclear Pockets in the Tumour Cells in Cattle Suffering from Bovine Leukosis	391
Gabriš J., Ďuran A.: The Levels of Some Metabolites in the Blood of Cows within a 24-hour Period	399
Zelený J., Šíchová J.: Using the Bio-La-Test Lachema for the Determination of Urea in Milk	409
Dvořák M., Neumannová M.: The Effects of Polychlorinated Biphenyls (Delor 103, 105 and 106) in Feed on the Health Condition of Young Pigs	417
Říha J., Minář J., Janeš K., Vlček A., Renda V.: Phenylpropandiol and Diethyltoluamide: a New Repellent for the Protection of Farm Animals	429
Veselý D., Veselá D., Tichá J.: Contamination of Rye Flour with the Toxicogenic Strain of <i>Penicillium islandicum</i> Sopp and the Embryotoxic Effects of its Secondary Metabolites on the Chicken Embryo	435
Štěrbá F., Halačková M.: Using the Rose Bengal Test in the Diagnosis of Brucellosis in Hare	441

INHALT

Zajac J., Žuffa T., Černek J.: Auswertung von Ergebnissen der ELISA-Reaktion bei der serologischen Diagnostik der Rinderleukose	385
Holman J.: Morphogenese der Ausstülpungen der Kernhaut von Geschwulstzellen bei der Rinderleukose	391
Gabriš J., Ďuran A.: Niveau einiger Metaboliten im Blut von Kühen im Verlauf von 24 Stunden	399
Zelený J., Šíchová J.: Anwendung des Bio-La-Tests zur Bestimmung von Harnstoff in der Milch	409
Dvořák M., Neumannová M.: Auswirkungen von polychlorierten Biphenylen (Delor 103, 105 u. 106) im Futter auf den Gesundheitszustand junger Schweine	417
Říha J., Minář J., Janeš K., Vlček A., Renda V.: Phenylpropandiol und Diäthyltoluamid — ein neues Repellentpräparat zum Schutz landwirtschaftlicher Nutztiere	429
Veselý D., Veselá D., Tichá J.: Kontamination von Roggenmehl durch den toxinogenen Stamm <i>Penicillium islandicum</i> Sopp und embryotoxische Auswirkung seiner sekundären Metaboliten auf Kükenembryonen	435
Štěrbá F., Halačková M.: Anwendung des Rose-Bengal-Tests in der Diagnostik der Hasen-Brucellose	441

Rukopisy odevzdány k tisku 20. 3. 1987 — Podepsáno k tisku 9. 6. 1987

Vědecký časopis VETERINÁRNÍ MEDICÍNA • Vydává Československá akademie zemědělská — Ústav vědeckotechnických informací pro zemědělství • Vychází měsíčně • Redaktorka ing. Jovanka Václavíčková • Redakce: 120 56 Praha 2, Slezská 7, telefon 257541 • Vytiskl MÍR, Novinářské závody, n. p., závod 6, tř. Lidových milicí 22, 120 00 Praha 2 • © Ústav vědeckotechnických informací pro zemědělství, Praha 1987

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.