

VĚDECKÝ ČASOPIS



VETERINÁRNÍ MEDICÍNA

10

NIK 32 (LV)

HA

N 1987

A 10 Kčs

SN 0590-5214

ČESKOSLOVENSKÁ AKADEMIE ZEMĚDĚLSKÁ
ÚSTAV VĚDECKOTECHNICKÝCH INFORMACÍ
PRO ZEMĚDĚLSTVÍ

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, DrSc., 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 Václavičková

OBSAH

Kačmárik J., Gamčík P., Pošivák J., Dávid V., Hrušková P., Piešová E.: Superovulácia po aplikácii PMSG u kráv rôznych plemien	577
Granátová M.: Kultivace a kontrola buněk produkujících bovinní leukemický virus	587
Derka J., Pospíšil R.: Hodnocení syntetické aktivity jadérka lymfocytů a fagocytární aktivity leukocytů periferní krve u skotu po infekci virem IBR	595
Brouček J., Kovalčík K., Gajdošík D., Brestenský V.: Vplyv umělého ultrafialového světla na biochemické ukazovatele teliat	603
Arendarčík J., Molnárová M., Staníková A.: Vplyv hormonálnej stimulácie na folikulárne populácie ovárií bahnic v estrickom a anestrickom období	611
Garčár J., Hrušovský J., Šmirják M.: Vplyv technologického procesu na obsah reziduí chlórovaných pesticídov v konzervovaných potravinách	619
Ostrý V., Polák P., Matyáš Z.: Vztahy a interakce mezi zástupcem skupiny karbamátů pirimicarbem a proteolytickými zárodky syrového mléka	627
Žuffa T.: Rast atenuovaných kmeňov parvovírusu psov, vírusovej enteritídy noriek a panleukopénie mačiek a vírusu psinky na rozdielnych druhoch bunkových kultúr	633

СОДЕРЖАНИЕ

Качмарик Ю., Гамчик П., Пошивак Я., Давид В., Грушкова П., Пьешова Э.: Суперовуляция в результате дачи PMSG у коров разных пород	577
Гранатова М.: Культивация и контроль у клеток, продуцирующих бовинный лейкоемический вирус	587
Дерка Й., Поспишил Р.: Оценка синтетической активности ядрышка лимфоцитов и фагоцитарной активности лейкоцитов периферической крови у крупного рогатого скота после инфекции вирусом IBR	595
Броучек Я., Ковалчик К., Гайдошик Д., Брестенский В.: Влияние искусственного ультрафиолетового освещения на биохимические показатели телят	603
Арендарчик Й., Молнарова М., Станикова А.: Влияние гормональной стимуляции на фолликулярные популяции яичников овцематок в эстральный и анестральный период	611
Гарчар Я., Грушовски Й., Шмиряк М.: Влияние технологического процесса на содержание остаточных количеств хлорсодержащих пестицидов в пищевых консервах	619
Острый В., Полак П., Матиаш З.: Связи и взаимодействия между представителем группы карбаматов пиримикарбом и протеолитическими зародышами сырого молока	627
Жуффа Т.: Рост атenuированных штаммов парвовируса собак, вирусного энтерита дорос, панлейкопении кошек и вируса бешенства на разных видах клеточных культур	633

SUPEROVULÁCIA PO APLIKÁCII PMSG U KRÁV RÔZNYCH PLEMIEN

J. Kačmárik, P. Gamčík, J. Pošivák, V. Dávid, P. Hrušková, E. Piešová

KACHMÁRIK, J. — GAMČÍK, P. — POŠIVÁK, J. — DÁVID, V. — HRUŠKOVÁ, P. — PIEŠOVÁ, E. (Vysoká škola veterinárska, Košice): *Superovulácia po aplikácii PMSG u kráv rôznych plemien*. Veter. Med. (Praha), 32, 1987 (10): 577-586.

Sledovali sme superovulačnú odozvu po i. m. podaní 2500 a 3000 m. j. PMSG (v špecialite Folligon, výrobok fy Intervet) v 9. až 12. dni pohlavného cyklu u 67 plemenníc plemena nížinné čiernostrakaté, slovenské strakaté a slovenské pinzgaušké, ktoré boli v 50. až 150. dni po otelení a po prvom až desiatom pôrode. Superovulačný efekt bol najlepší pri dávke 2500 m. j. PMSG u plemena slovenské pinzgaušké; u týchto plemenníc sme zistili v priemere $13,20 \pm 2,36$ žltých teliesok bez neovulovaných folikulov. Pri zvýšení dávky PMSG na 3000 m. j. stúpol počet žltých teliesok na $18,11 \pm 1,12$ a neovulovaných folikulov ($3,46 \pm 0,46$). U plemena slovenské strakaté pri dávke 2500 m. j. PMSG sme zistili v priemere $11,74 \pm 1,27$ žltých teliesok a $0,44 \pm 0,02$ neovulovaných folikulov. Pri zvýšení dávky PMSG na 3000 m. j. stúpol počet žltých teliesok na $15,49 \pm 1,62$ a neovulovaných folikulov až na $5,12 \pm 0,81$. U plemena nížinné čiernostrakaté bola odozva najnižšia; pri i. m. dávke 2500 m. j. PMSG sme zistili $9,5 \pm 0,84$ žltých teliesok a $1,16 \pm 0,26$ neovulovaných folikulov a pri dávke 3000 m. j. $13,41 \pm 0,89$ žltých teliesok a $3,07 \pm 0,39$ neovulovaných folikulov. Superovulačný efekt v závislosti od veku poukázal, že u plemien nížinné čiernostrakaté a slovenské pinzgaušké stúpa odozva až do deviateho roku, a to z priemeru 9,79, resp. 13,6, do piateho roku, na 12,71, resp. 17,99, v deviatich rokoch, a u plemena slovenské strakaté klesá z 15,83 do piatich rokov na $8,28 \pm 1,68$ v deviatich rokoch. Počet neovulovaných folikulov stúpa s vekom u plemena slovenské pinzgaušké z $3,46 \pm 0,46$ do piatich rokov na 3,64 do deviatich rokov a až na $4,44 \pm 0,52$ po deviatom roku, u plemena slovenské strakaté z 0,79 na $4,21 \pm 0,38$ a u plemena nížinné čiernostrakaté z 2,69 na $3,20 \pm 0,22$ medzi piatym a deviatym rokom.

superovulačný efekt; žlté teliesko; neovulované folikuly

V refazi potrieb ovplyvňujúcich výsledok transferu raných embryí u hovädzieho dobytku predstavuje superovulácia ešte stále nedoriešený problém. Ako najčastejšie príčiny ovplyvňujúce úspešnosť superovulácie sa uvádzajú rôzne faktory, ako je individuálna odpoveď, celkový zdravotný stav a normálny priebeh pohlavných funkcií donora v dobe jeho prípravy podľa úrovne výživy a látkovej premeny. Z ďalších faktorov ide o vek, plemennú príslušnosť, ročné obdobie, počet po sebe nasledujúcich superovulácií a druh použitého prípravku (Saumande a i., 1978; Seidel, 1981; Mapletoft, 1981; Hasler a i., 1983; Donaldson, 1984a, b, c; Holý, 1984).

V poslednom období sa kladie hlavný dôraz na druh použitého gonadotropínu podľa zastúpenia pomeru FSH a LH zložky a ich vplyvu

na ovariálnu štruktúru, ktorá je variabilná podľa plemennej príslušnosti (Chupin aj., 1984). Tento poznatok nás viedol k odskúšaní dávky PMSG u plemien najčastejšie u nás chovaných a pri zohľadnení veku.

MATERIÁL A METÓDA

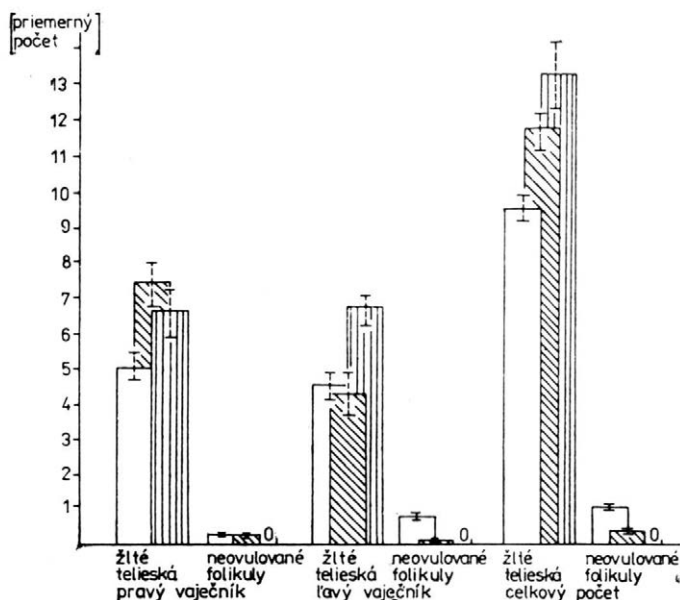
V prvej pokusnej skupine sme použili 31 plemenníc vo veku od 3 do 12 rokov, z ktorých 12 bolo plemena nížinného čiernostrakatého, 9 slovenského strakatého a 10 slovenského pinzgauského. Plemennice boli 50 až 150 dní po otelení po prvom až desiatom pôrode. U všetkých plemenníc pred zaradením do pokusu bolo vykonané rektálne vyšetrenie, posúdená fáza pohlavného cyklu na základe morfológických a funkčných zmien na vaječníkoch a vývodných pohlavných cestách spolu s posúdením psychosociálneho správania plemenníc. Po vyšetrení boli plemennice sledované a po registrácii ruje a posúdení kvality hlienu a príznakov ruje bol zaznamenaný dátum začiatku ruje. Vybrané jalovice boli ošetrené v 9. až 12. dni i. m. 2500 m. j. PMSG v špecialite Folligon, výrobok fy Intervet. Za 48 hodín po aplikácii PMSG bolo i. m. podané 500 μ g cloprostenolu v špecialite Oestrophian Spofa. Po objavení ruje boli plemennice dvakrát až trikrát inseminované v 12-hodinových intervaloch. V šiestom až siedmom dni od prvej inseminácie boli rektálne vyšetrené a bol odčítaný počet žltých teliesok a neovulovaných folikulov na pravom a ľavom vaječníku. Po tomto zákroku bol vykonaný výplach raných embryí nechirurgickou cestou.

V druhej pokusnej skupine bolo 36 plemenníc, z ktorých 12 bolo plemena nížinného čiernostrakatého, 9 slovenského strakatého a 16 slovenského pinzgauského.

Plemenniciam bolo i. m. podané 3000 m. j. PMSG v špecialite Folligon. Vekové zloženie, parita a metodický postup výberu a ošetrenie boli rovnaké ako v prvej pokusnej skupine.

V ďalšej časti boli všetky plemennice bez zohľadnenia dávky PMSG zhodnotené podľa plemennej príslušnosti a vekových kategórií do piatich rokov, šesť až deväť a nad deväť rokov.

Získané výsledky boli vyhodnotené, za príslušné pokusné skupiny boli vypočítané priemerné hodnoty a odchýlky aritmetického priemeru, a podrobené variačnosť-statistickému zhodnoteniu s určením štatistickej významnosti z Fischerovej tabuľky k testovaniu významnosti pri Studentovom rozdelení.



1. Grafické znázornenie superovulačného efektu po i. m. podaní 2500 m. j. PMSG podľa plemennej príslušnosti kráv — Diagram of the super-ovulation effect of the i. m. administration of 2500 i. u. PMSG according to the breeds of the cows

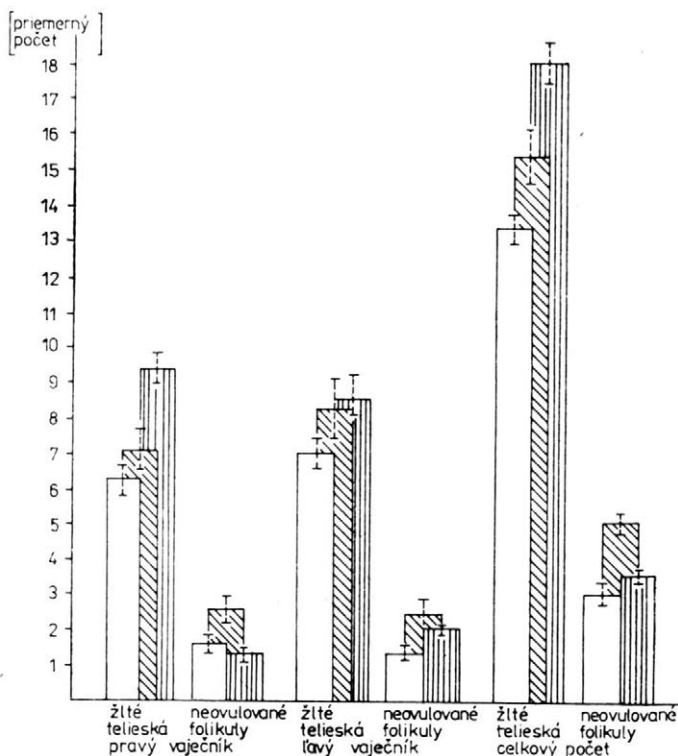
- nížinné čiernostrakaté
- ▨ slovenské strakaté
- slovenské pinzgauské

VÝSLEDKY

Obr. 1 udáva prehľad o superovulačnom efekte po *i. m.* podaní 2500 m. j. PMSG v špecialite Folligon, výrobok fy Intervet. Z výsledkov vyplýva, že u plemena čiernostrakatého reakcia na pravom vaječníku poukazuje, že ovulovalo a vytvorilo sa v priemere $5,00 \pm 0,96$ žltých teliesok a ostalo v priemere $0,33 \pm 0,18$ neovulovaných folikulov. Na ľavom vaječníku bola odozva nižšia a dosiahla v priemere $4,50 \pm 0,72$ žltých teliesok pri $0,83 \pm 0,34$ neovulovaných folikuloch. Rozdiely nie sú štatisticky preukazné. Celkove ovulovalo 9,50 Graafových folikulov, z ktorých sa vytvorili žlté telieska, a $1,16 \pm 0,26$ folikulov ostalo neovulovaných.

U plemena slovenské strakaté bola reakcia oproti plemenu nížinnému čiernostrakatému štatisticky nepreukazne vyššia na pravom vaječníku a dosiahla v priemere $7,44 \pm 1,13$ žltých teliesok a $0,33 \pm 0,03$ neovulovaných folikulov. Na ľavom vaječníku bola odozva v priemere $4,30 \pm 1,41$ žltých teliesok a $0,11 \pm 0,01$ neovulovaných folikulov. Celkove u plemena slovenské strakaté po dávke 2500 m. j. PMSG bolo viac ovulácií ako u plemena nížinné čiernostrakaté. Vytvorilo sa z nich v priemere $11,74 \pm 1,27$ žltých teliesok a neovulovalo $0,44 \pm 0,02$ folikulov.

U plemena slovenské pinzgaušké z počtu desať superovulovaných plemenníc bola na pravom vaječníku reakcia, ktorú prezentuje počet žltých teliesok $6,60 \pm 1,28$, ale bez výskytu neovulovaných folikulov, na ľavom vaječníku $6,70 \pm 1,08$ žltých teliesok, avšak bez neovulovaných folikulov. Celkove ovulované folikuly vytvorili $13,30 \pm 2,36$ žltých teliesok. Zároveň možno uviesť, že pri dávke 2500 m. j. PMSG vykazovalo naj-



2. Grafické znázornenie superovulačného efektu po *i. m.* podaní 3000 m. j. PMSG podľa plemennej príslušnosti kráv — Diagram of the superovulation effect of the *i. m.* administration of 3000 i. u. PMSG according to the breeds of the cows

označenie ako u obr. 1

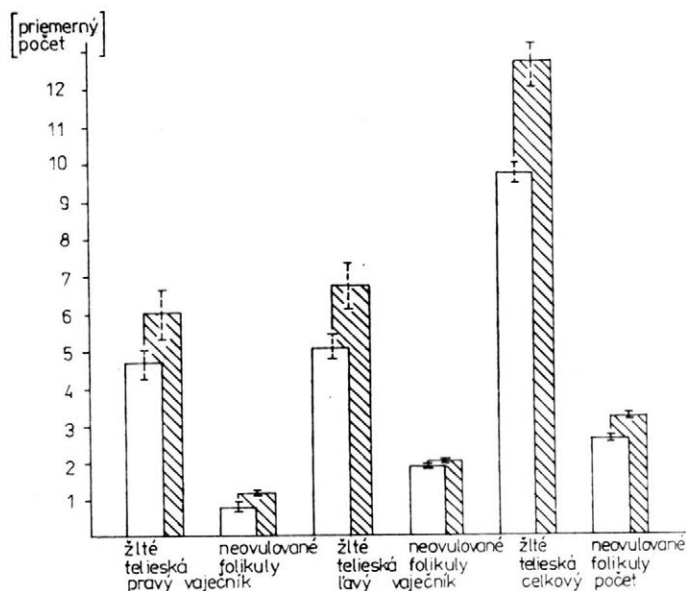
lepšiu reakciu plemeno slovenské pinzgaušké, potom slovenské strakaté a na poslednom mieste plemeno nížinné čiernostrakaté. Štatistická významnosť bola potvrdená medzi plemennicami plemena nížinné čiernostrakaté a slovenské pinzgaušké na ľavom a pravom vaječníku, ako aj celkove ($P < 0,01$).

Zvýšenie dávky PMSG na 3000 m. j. (obr. 2) odprevádzal zvýšený počet ovulovaných folikulov s následnou tvorbou žltých teliesok pri plemene nížinné čiernostrakaté na pravom vaječníku v priemere na $6,33 \pm 0,91$ s $1,66 \pm 0,41$ neovulovanými folikulami a na ľavom vaječníku s priemerom $7,08 \pm 0,87$ s $1,41 \pm 0,37$ neovulovanými folikulami. Celkový počet ovulovaných folikulov s následnou tvorbou žltých teliesok dosiahol $13,41 \pm 0,89$ pri $3,07 \pm 0,39$ neovulovaných folikuloch. U tohto plemena je zvýšenie oproti dávke 2500 m. j. významné ($P < 0,01$) a predstavuje zvýšenie takmer o štyri ovulácie.

U plemena slovenské strakaté dosiahla reakcia na pravom vaječníku v priemere $7,12 \pm 1,46$ žltých teliesok pri $2,62 \pm 0,70$ neovulovaných folikuloch a na ľavom vaječníku ovulovalo s následnou tvorbou $8,37 \pm 1,79$ žltých teliesok pri $2,50 \pm 0,92$ neovulovaných folikuloch. Celkove sa oproti dávke 2500 m. j. u tohto plemena zvýšila ovulácia s následnou tvorbou žltých teliesok a dosiahlo sa v priemere $15,49 \pm 0,62$ žltých teliesok pri $5,12 \pm 0,81$ neovulovaných folikuloch. Zvýšenie je vyššie o štyri ovulácie, ale v podstatnej miere stúpol počet neovulovaných folikulov viac ako desaťnásobne (z 0,44 na 5,12). Rozdiely nie sú štatisticky preukazné.

Pri plemene slovenské pinzgaušké bola odozva najvyššia, či už na jednotlivých vaječníkoch, ako aj celkove; vytvorilo sa $18,11 \pm 1,12$ žltých teliesok pri $3,46 \pm 0,46$ neovulovaných folikuloch. Reakcia plemena slovenské pinzgaušké bola zo všetkých plemien najvyššia. Rozdiely oproti dávke 2500 m. j. sú štatisticky preukazné ($P < 0,01$).

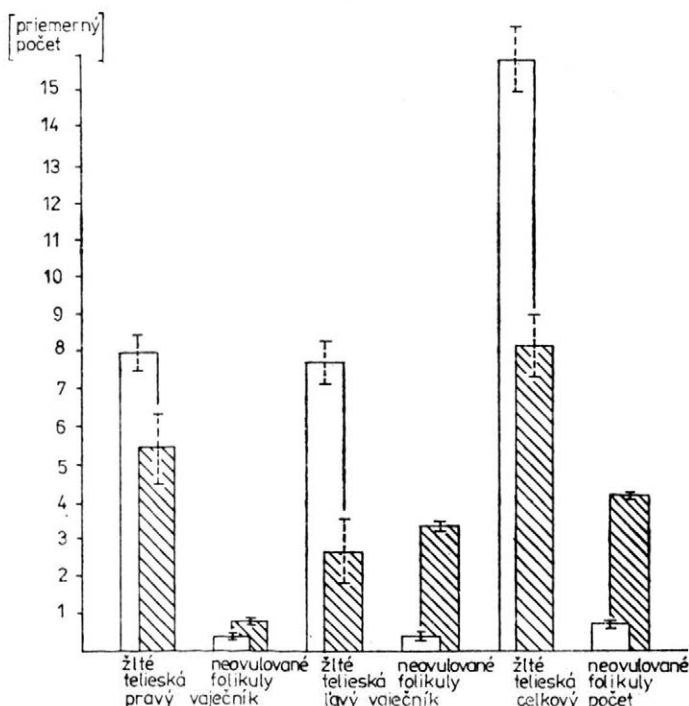
Obr. 3 udáva prehľad o superovulačnom efekte po *i. m.* podaní 2500 až 3000 m. j. PMSG v špecialite Folligon u kráv plemena čiernostrakaté



3. Grafické znázornenie superovulačného efektu po *i. m.* podaní 2500 až 3000 m. j. PMSG u plemena nížinné čiernostrakaté v závislosti od veku — Diagram of the superovulation effect of the *i. m.* administration of 2500 to 3000 i. u. PMSG in the Black-Pied Lowland breed in dependence on age

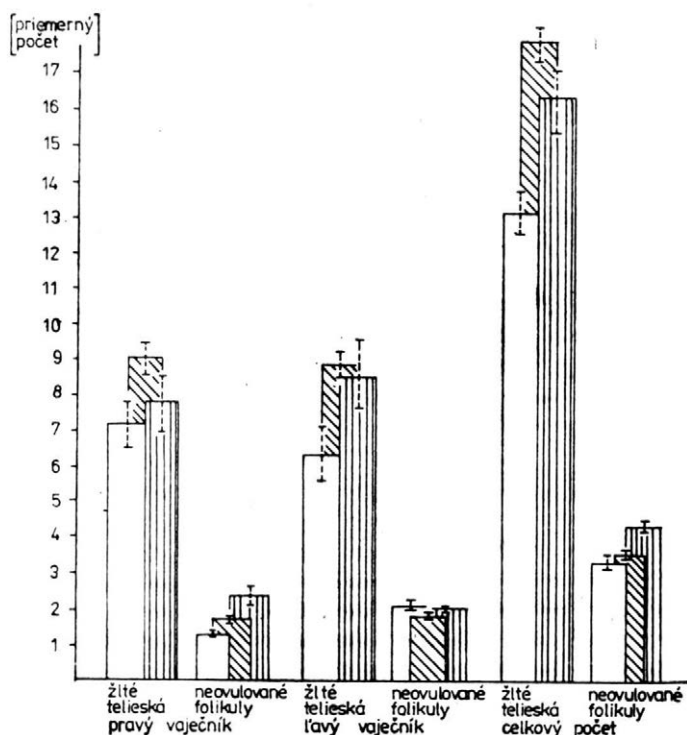
□ vek do 5 rokov
 ▨ vek 6 až 9 rokov

4. Grafické znázornenie superovulačného efektu po i. m. podaní 2500 až 3000 m. j. PMSG u plemena slovenské strakaté v závislosti od veku — Diagram of the superovulation effect of the i. m. administration of 2500 to 3000 i. u. PMSG in the Slovak Pied breed in dependence on age
označenie ako u obr. 3



5. Grafické znázornenie superovulačného efektu po i. m. podaní 2500 až 3000 m. j. PMSG u plemena slovenské pinzgauské v závislosti od veku — Diagram of the superovulation effect after i. m. administration of 2500 to 3000 i. u. PMSG in the cows of the Slovak Pinzgau breed in dependence on age

- vek do 5 rokov
- ▨ vek 6 až 9 rokov
- ▤ vek nad 9 rokov



nížinné v závislosti od veku. Do piatich rokov predstavovala celková reakcia $9,79 \pm 0,76$ ovulovaných folikulov s následnou tvorbou žltých teliesok s $2,69 \pm 0,17$ neovulovanými folikulami. U vekovej kategórie šesť až deväť rokov sa celkový počet zvýšil na $12,71 \pm 1,22$ žltých teliesok s $3,20 \pm 0,22$ neovulovanými folikulami. Rozdiely nie sú štatisticky preukazné ($P > 0,1$).

U plemena slovenské strakaté (obr. 4) s postupujúcim vekom klesala superovulačná reakcia z $15,83 \pm 1,18$ žltých teliesok pozorovaných u plemenníc do piatich rokov a z $0,79 \pm 0,02$ neovulovaných folikulov takmer na polovicu ($8,28 \pm 1,68$) pri zvýšení počtu neovulovaných folikulov ($4,21 \pm 0,38$). Rozdiely sú na hranici významnosti ($0,1 < P > 0,05$).

U plemena slovenské pinzgauské (obr. 5) sme pozorovali vzostup reakcie na podaný PMSG z celkových $13,6 \pm 1,26$ vytvorených žltých teliesok po ovulácii u plemenníc do piatich rokov veku až na $17,99 \pm 1,05$ žltých teliesok vo veku šesť až deväť rokov s následným poklesom na $16,40 \pm 1,85$ vo vekovej kategórii nad deväť rokov. Počet neovulovaných folikulov vo vekovej kategórii do piatich rokov a od šiestich do deviatich rokov bol rovnaký, vzostup nastal u plemenníc nad deväť rokov. Rozdiely nie sú štatisticky preukazné ($P > 0,1$).

Najlepší superovulačný efekt sa dosiahol pri dávke 2500 m. j. PMSG a u plemena slovenské pinzgauské, kde sa zistilo v priemere $13,20 \pm 2,36$ žltých teliesok bez neovulovaných folikulov. Pri zvýšení dávky PMSG na 3000 m. j. stúpol počet žltých teliesok na $18,11 \pm 1,12$, ale s objavením sa neovulovaných folikulov ($3,46 \pm 0,46$).

U plemena slovenské strakaté a pri dávke 2500 m. j. PMSG sa zistilo v priemere $11,74 \pm 1,27$ žltých teliesok a $0,44 \pm 0,02$ neovulovaných folikulov. Pri zvýšení dávky PMSG na 3000 m. j. stúpol počet žltých teliesok na $15,49 \pm 1,62$, ale aj neovulovaných folikulov až na $5,12 \pm 0,81$.

U plemena nížinné čiernostrakaté sa dosiahla najnižšia odozva, keď pri i. m. dávke 2500 m. j. PMSG sa zistilo $9,50 \pm 0,84$ žltých teliesok a $1,16 \pm 0,26$ neovulovaných folikulov a pri dávke 3000 m. j. $13,41 \pm 0,89$ žltých teliesok a $3,07 \pm 0,39$ neovulovaných folikulov.

Superovulačný efekt v závislosti od veku poukázal, že u plemena nížinné čiernostrakaté a slovenské pinzgauské stúpa odozva až do deviateho roku z priemeru 9,79, resp. 13,6, do piateho roku na 12,71, resp. 17,99 v deviatich rokoch a klesá z 15,83 do piatich rokov na $8,28 \pm 1,68$ v deviatich rokoch u plemena slovenské strakaté. Počet neovulovaných folikulov stúpa s vekom u plemena slovenské pinzgauské z $3,46 \pm 0,46$ do piatich rokov na 3,64 do deviatich rokov a až na $4,44 \pm 0,52$ po deviatom roku; u plemena slovenské strakaté z 0,79 na $4,21 \pm 0,38$ a u plemena nížinné čiernostrakaté z 2,69 na $3,20 \pm 0,22$ medzi piatym a deviatym rokom.

DISKUSIA

Prezentované výsledky poukazujú, že rozdiely v superovulačnej reakcii môžu byť podmienené aj plemenou príslušnosťou. Vyplýva z nich, že bez rozdielu použitej dávky u plemien u nás chovaných najmenej citlivé na sérový gonadotropín je plemeno čiernostrakaté nížinné. Tieto naše nálezy potvrdzujú poznatky, ku ktorým došli Kudláč a i. (1979) pri porovnaní plemena čiernostrakaté nížinné s plemenom červenostrakatým. O podobných poznatkoch referovali v zahraničí Shea a i.

(1979), Betteridge (1977a, b), Saumande a i. (1978). Predpokladáme, že najnižšia citlivosť u plemena nížinné čiernostrakaté v porovnaní so slovenským strakatým a slovenským pinzgauským plemenom bude závisieť od výšky mliečnej produkcie. Bolo potvrdené, že mliečna produkcia znižuje superovulačnú odozvu alebo ju úplne blokuje, ako sa to potvrdilo u dojníc, ktoré boli na vrchole laktácie (Brand a i., 1978), resp. ako podporujú nálezy nižšej superovulačnej odozvy u kráv oproti jaloviciam (Moore, 1975; Kudláč a i., 1975). Boli však publikované aj práce, podľa ktorých výška laktácie nemá preukazný vplyv na superovulačnú odozvu (Newcombe, 1979; Hasler a i., 1983).

Podľa doterajších literárnych poznatkov superovulačná odozva pri 2500 m. j. PMSG (rôznej proveniencie) bez ohľadu na plemennú príslušnosť závisí od doby podávania. Newcomb a Rowson (1976) zistili, že superovulačná odozva posudzovaná na základe vytvoreného počtu žltých teliesok je nízka pri aplikácii PMSG medzi štvrtým až šiestym dňom pohlavného cyklu. Najlepšia reakcia je v období deviateho až jedenásteho dňa, kedy sa dosahuje 16 až 18 ovulácií sprevádzaných tvorbou žltého telieska pri zastúpení šiestich až desiatich neovulovaných folikulov. Počet neovulovaných folikulov je tu veľmi vysoký. Booth a i. (1975) uviedli, že pri vysokom počte neovulovaných folikulov sa zrýchluje transport vajíčka cez vajcovod následkom vysokej koncentrácie cirkulujúcich estrogénov a pri protrahovanej ovulácii sa zvyšujú aj hladiny progesterónu z prvých vytvorených žltých teliesok, ktoré menia priebeh transportu oplodnených vajíčok z neskorších ovulácií. To v konečnom dôsledku negatívne vplyva na kvalitu ovulovaných vajíčok.

V pokusných skupinách u plemena nížinné čiernostrakaté a pri dávke 2500 m. j. PMSG bol počet ovulácií sprevádzaný tvorbou žltých teliesok v priemernom počte $9,50 \pm 0,84$, ale len s $1,16 \pm 0,26$ neovulovaných folikulov. U plemena slovenské strakaté to bolo $11,74 \pm 1,27$ žltých teliesok a $0,44 \pm 0,02$ neovulovaných folikulov a u plemena slovenské pinzgauské dokonca $13,30 \pm 2,36$ žltých teliesok, ale bez neovulovaných folikulov. Predpokladáme, že čistota PMSG v špecialite Folligon zodpovedá za rozdiely čo do nižšieho počtu neovulovaných folikulov v porovnaní s výsledkami, ktoré uviedli Newcomb a Rowson (1976). Po rovnakej dávke Folligonu získali Vaňatka a i. (1980) u prvôtok v priemere na superovulačný cyklus 11,25 žltých teliesok a u starších kráv pri použití sérového gonadotropínu len 8,05 žltých teliesok. Říha (1984) pri použitej dávke 2000 až 4000 m. j. PMSG pozoroval superovulačnú odozvu posudzovanú na základe vytvorených žltých teliesok v rozpätí 10,92 až 14,58 v závislosti od dôvodu vyradenia plemenníc.

Zvýšením dávky z 2500 na 3000 m. j. PMSG sa zvýšila superovulačná odozva u všetkých plemien o štyri až päť úspešných ovulácií, ale zároveň došlo aj k vyššiemu výskytu neovulovaných folikulov. Tieto naše výsledky potvrdzujú zistenie, ktoré opísali Takahashi a Kanagawa (1984). Uvedení autori pozorovali u jalovíc holsteinského plemena vo veku 11 až 16 mesiacov superovulačnú odozvu pri dávke 2500 m. j. — 7,1 a pri dávke 3000 m. j. PMSG — 12,3 ovulácií s následnou tvorbou žltých teliesok. Množstvo žltých teliesok bolo možné ešte zvýšiť, keď v 52. a 53,5. hodine po podaní prostaglandínu bolo podaných 200 a 400 μg LH-RH i. m. u tých jalovíc, u ktorých od 48. hodiny bola zaregistrovaná ruja s reflexom nehybnosti. Zvýšenie dávky PMSG vyvoláva zvýšenie superovulačnej odozvy. Zároveň sa však znižuje kvalita

vyplavených vajíčok, nezávisle od počtu žltých teliesok (Sreenan a i., 1978), s následným zabrezávaním po prenose vyplavených vajíčok.

Vyššie dávky PMSG skracujú interval medzi začiatkom ruje a uvoľnením LH. Takahashi a Kanagawa (1984) uviedli, že pri 3000 m. j. PMSG sa zvýši, podobne ako v našom prípade, počet žltých teliesok a počet vyplavených vajíčok oproti jaloviciam s dávkou 2500 m. j. PMSG. Avšak pri skrátení doby nástupu ruje sa vrchol LH zrýchlil tak, že v konečnom dôsledku cez zvýšený počet žltých teliesok došlo k zvýšenej produkcii progesterónu, ktorý podľa autorov Jensen a Greve (1982) v čase ruje inhibuje uvoľnenie LH a narušuje kvalitu embryí. Z práce, ktorú publikovali Takahashi a Kanagawa (1985), vyplýva, že problémy okolo superovulačnej odozvy kráv — aj napriek doterajšiemu názoru, že je rovnaká po PMSG ako aj po FSH (Schams a i., 1979; Crister a i., 1980) — možno vyriešiť použitím zmesi FSH a LH.

Literatúra

- BETTERIDGE, K. J.: Embryo transfer in farm animals. Techniques and results in cattle: Superovulation. Can. Dept. Agric. Monogr., 16, 1977a, s. 1-9.
- BETTERIDGE, K. J.: Embryo transfer in farm animals. A review of techniques and applications. Can. Dept. Agric. Monogr., 16, 1977b, s. 8.
- BOOTH, W. D. et al.: Plasma oestrogen and progesterone in relation to super-ovulation and egg recovery in the cow. Veter. Rec., 97, 1975, s. 366-369.
- BRAND, A. et al.: Superovulation on non-surgical embryo recovery in the lactating dairy cow. Anim. Prod., 26, 1978, s. 55-60.
- CRISTER, J. K. et al.: Embryo transfer in cattle: Factors affecting superovulatory response, number of transferable embryos, and length of post-treatment estrous cycles. Theriogenology, 12, 1980, s. 397-405.
- DONALDSON, L. E.: Effect of age of donor cows on embryo production. Theriogenology, 21, 1984a, s. 963-967.
- DONALDSON, L. E.: Cattle breed as a source of variation in embryo transfer. Theriogenology, 21, 1984b, s. 1013-1018.
- DONALDSON, L. E.: The day of the estrous cycle that FSH is started and superovulation in cattle. Theriogenology, 22, 1984c, s. 97-99.
- HASLER, J. F. et al.: Superovulatory responses of Holstein cows. Theriogenology, 19, 1983, s. 83-99.
- HOLÝ, L.: Současné směry a praktické využití přenosu raných embryí v ČSSR a dalších zemích. In: Sbor. Mater.: Řízení reprodukce skotu a plemenářské využití přenosu raných embryí. OVZ Gottwaldov — JZD Slušovice, 1984, s. 52-64.
- CHUPIN, D. et al.: Antagonistic effect of LH on FSH induced superovulation in cattle. Theriogenology, 21, 1984, s. 229.
- JENSEN, M. A. — GREVE, T.: Production, identification and use of PMSG-antiserum. Preliminary report. Theriogenology, 13, 1980, s. 98.
- KUDLÁČ, E. et al.: Superovulace a konzervativní získávání raných embryí u krav. Veterinářství, 29, 1979, s. 158-163.
- MAPLETOFT, R. J.: Embryo transfer for the practitioner. Univ. Yuc., Mexico 1981.
- MOORE, N. W.: The control of time of oestrus and ovulation and the induction of superovulation in cattle. Austral. J. agric. Res., 26, 1975, s. 295-304.
- NEWCOMB, R.: Surgical and non-surgical transfer bovine embryos. Veter. Rec., 105, 1979, s. 432.
- NEWCOMB, R. — ROWSON, L. E. A.: Multiple ovulation egg transplantation-towards twinning. In: Principles of cattle production (H. Swan and W. H. Broster, eds.). Proc. 23rd Easter School in Agric. Sci., University of Nottingham, Butterworths, London 1976, s. 59-83.
- ŘÍHA, J.: Využití vyrazených krav jako dárců embryí. Veter. Med. (Praha), 29, 1984, s. 457-464.
- SAUMANDE, J. et al.: Factors affecting the variability of ovulation rates after

PMSG stimulation. In: Sreenan, J. M.: Control of reproduction in the cow. The Hague, Martinus Nijhoff 1978, s. 195-224.

SEIDEL, G. E.: Superovulation and embryo transfer in cattle. *Science*, 211, 1981, s. 351-358.

SHEA, B. F. et al.: The transfer of bovine embryos. In: Egg transfer in cattle. Rowson L. E. A., Ed: Commission of the European Communities, Luxembourg 1976, 145 s.

SCHAMS, D. et al.: Superovulation beim Rind: Hormon-Profil bei Stimulation mit Serum-Gonadotropin (PMSG) bzw. Hypophysären FSH. *Zuchthygiene*, 14, 1979, s. 11-25.

SREENAN, J. M. et al.: Ovarian responses in relation to endocrine status following PMSG stimulation in the cow. In: Sreenan, J. R. — Control of reproduction in the cow. The Hague, Martinus Nijhoff 1978, s. 144-158.

TAKAHASHI, Y. — KANAGAWA, H.: Effects of LH-RH analogue on the ovulation rate and embryo quality in heifers superovulated with PMSG and PGF α . *Jap. J. veter. Res.*, 32, 1984, s. 183-189.

TAKAHASHI, Y. — KANAGAWA, H.: Inductions of superovulation using several FSH regimens in Holstein-Friesian heifers. *Jap. J. veter. Res.*, 33, 1985, s. 45-50.

VAŇATKA, F. et al.: Odběr, výtěžnost a hodnocení embryí u vyřazených geneticky hodnotných krav-dárců. *Veterinářství*, 30, 1980, s. 63-66.

Došlo dňa 10. 2. 1987

КАЧМАРИК, Ю. — ГАМЧИК, П. — ПОШИВАК, Я. — ДАВИД, В. — ГРУШКОВА, П. — ПЬЕШОВА, Э. (Институт ветеринарии, Кошице): **Суперовуляция в результате дачи PMSG у коров разных пород.** *Veter. Med. (Praha)*, 32, 1987 (10): 577-586.

Прослеживали за суперовуляционной реакцией на внутримышечное введение 2500 и 3000 м. ед. PMSG (в Фоллигоне, продукте фирмы Интервет) на 9-й и до 12-й неделях пол. цикла у 67 коров низменной черно-пестрой, словацкой пестрой и словацкой пинцгавской пород, находившихся в 50—150-м днях после отела и после 1—10-х родов. Суперовуляционный эффект был лучшим после дозы 2500 м. ед. PMSG у слов. пинцгавской породы: в среднем $13,20 \pm 2,36$ желтых телец без неовулированных фолликулов. При доведении дозы до 3000 м. ед. количество желтых телец возросло до $18,11 \pm 1,12$, а неовулированных фолликулов до $3,46 \pm 0,46$. У словацкой пестрой породы при дозе 2500 м. ед. PMSG отметили в среднем $11,74 \pm 1,27$ желтых телец и $0,44 \pm 0,02$ неовулированных фолликулов. При повышении дозы PMSG до 3000 м. ед. количество желтых телец возрастает до $15,49 \pm 1,62$, а фолликулов — до $5,12 \pm 0,81$. У черно-пестрой породы реакция самая слабая: при 2500 м. ед. PMSG отметили $9,5 \pm 0,84$ желтых телец и $1,16 \pm 0,26$ фолликулов, а при 3000 м. ед. — $13,41 \pm 0,89$ и $3,07 \pm 0,39$. Суперовуляционный эффект показал в зависимости от возраста, что у черно-пестрой и пинцгавской пород реакция растет вплоть до 9-го года: со средних 9,79 и 13,6 до 5-го года до 12,71 и 17,99 в 9-летнем возрасте; у словацкой же пестрой породы понижается с 15,83 до 8,28 $\pm 1,68$. Количество фолликулов растет с возрастом у пинцгавской породы с $3,46 \pm 0,46$ до 5-летнего возраста до 3,64 в 9-летнем и до $4,44 \pm 0,52$ после 9-го года; у словацкой пестрой породы с $0,79 \pm 0,38$ и у черно-пестрой с $2,69$ до $3,20 \pm 0,22$ между 5-м и 9-м годами.

суперовуляционный эффект; желтое тело; неовулированные фолликулы

KAČMÁRIK, J. — GAMČÍK, P. — POŠIVÁK, J. — DÁVID, V. — HRUŠKOVÁ, P. — PIEŠOVÁ, E. (University of Veterinary Medicine, Košice): **Superovulation after the Administration of PMSG in Cows of Various Breeds.** *Veter. Med. (Praha)*, 32, 1987 (10): 577-586.

Superovulation response was studied to i. m. administration of 2500 and 3000 i. u. of PMSG (special product Folligon, Intervet Co.) in 67 breeding cows of the Black-Pied Lowland, Slovak Pied and Slovak Pinzgau breeds within the 9th to 12th days of their sexual cycles. The time which had elapsed from these cows' last calving ranged from 50 to 150 days and the number of their prior calvings ranged from one to ten. The best superovulation effect was obtained after the administration of 2500 i. u. PMSG in the Pinzgau breed: these cows had, on the average, $13,20 \pm 2,36$ corpora lutea without non-ovulated follicles. At the PMSG dose increased to 3000 i. u., the number of yellow bodies rose to $18,11 \pm 1,12$ and that of non-

-ovulated follicles to 3.46 ± 0.46 . In the Slovak Pied breed the average number of yellow bodies obtained after administration of 2500 i. u. PMSG was 11.74 ± 1.27 and that of non-ovulated follicles was 0.44 ± 0.02 . At the PMSG dose of 3000 i. u., the number of yellow bodies increased to 15.49 ± 1.62 and that of non-ovulated follicles increased up to 5.12 ± 0.81 . In the Black-Pied Lowland breed the lowest response was obtained: the i. m. administration of 2500 i. u. PMSG resulted in the formation of 9.5 ± 0.84 yellow bodies and 1.16 ± 0.26 non-ovulated follicles, and at the dose of 3000 i. u. the respective numbers were 13.41 ± 0.89 and 3.07 ± 0.39 . Comparing the superovulation effect in dependence on age, the response of the cows of the Black-Pied Lowland and Slovak Pinzgau breeds to PMSG administration increases until the age of nine years (from 9.79 and 13.6 yellow bodies, respectively, on the average for the first five years to 12.71 and 17.99, respectively, in the ninth year); in the Slovak Pinzgau breed it decreases from 15.83, recorded in the first five years, to 8.28 ± 1.68 in the ninth year. The number of non-ovulated follicles grows with age in the Slovak Pinzgau breed from 3.46 ± 0.46 in the first five years to 3.64 between five and nine years of age and up to 4.44 ± 0.52 after the ninth year, in the Slovak Pied breed from 0.79 to 4.21 ± 0.38 , and in the Black-Pied Lowland breed from 2.69 to 3.20 ± 0.22 between the fifth and ninth year.

superovulation effect; yellow body; non-ovulated follicles

KAČMÁRIK, J. — GAMČÍK, P. — POŠIVÁK, J. — DÁVID, V. — HRUŠKOVÁ, P. — PIEŠOVÁ, E. (Veterinärmedizinische Hochschule, Košice): *Superovulation nach der Applikation von PMSG bei Kühen verschiedener Rassen*. Veter. Med. (Praha), 32, 1987 (10) : 577-586.

Wir untersuchten die Superovulation nach einer i. m. Applikation von 2500 und 3000 I. E. PMSG (im Präparat Folligon, Erzeugnis der Firma Intervet) am 9. bis 12. Tag des Geschlechtszyklus bei 67 Zuchtkühen der Rassen: schwarzbuntes Niederungsvieh, slowakisches Fleckvieh und slowakisches Pinzgauer Rind, die 50 bis 150 Tage nach der Abkalbung und nach der ersten bis zehnten Geburt waren. Der Superovulationseffekt war der beste bei einer Gabe von 2500 I. E. PMSG beim slowakischen Pinzgauer Rind; bei diesen Zuchtkühen stellten wir im Durchschnitt 13.20 ± 2.36 Gelbkörper ohne nichtovulierte Follikel fest. Bei der Hebung der PMSG-Gabe auf 3000 I. E. stieg die Zahl der Gelbkörper auf 18.11 ± 1.12 und diejenige der nichtovulierten Follikel auf 3.46 ± 0.46 an. Beim slowakischen Fleckvieh bei einer Gabe von 2500 I. E. PMSG stellten wir im Durchschnitt 11.74 ± 1.27 Gelbkörper und 0.44 ± 0.02 nichtovulierte Follikel fest. Bei einer Gabe von 3000 I. E. PMSG stieg die Zahl der Gelbkörper auf 15.49 ± 1.62 und diejenige der nichtovulierten Follikel auf 5.12 ± 0.81 an. Beim schwarzbunten Niederungsvieh war die Reaktion am niedrigsten: bei einer Gabe von 2500 I. E. PMSG stellten wir 9.5 ± 0.84 Gelbkörper und 1.16 ± 0.26 nichtovulierte Follikel und bei 3000 I. E. 13.41 ± 0.89 Gelbkörper und 3.07 ± 0.39 nichtovulierte Follikel fest. Der Superovulationseffekt in Abhängigkeit vom Alter der Tiere bestätigte, daß beim schwarzbunten Niederungsvieh und beim slowakischen Pinzgauer Rind die Reaktion bis zum 9. Jahre zunimmt und die im Durchschnitt von 9.79 bzw. 13.6 bis zum 5. Jahr auf 12.71 bzw. 17.99 im 9. Jahr und beim slowakischen Fleckvieh fällt der Effekt von 15.83 bis zur 5. Jahr auf 8.23 ± 1.68 im 9. Jahr ab. Die Zahl der nichtovulierten Follikel steigt mit dem Alter beim slowakischen Pinzgauer Rind von 3.46 ± 0.46 im 5. Jahr und 3.64 im 9. Jahr und auf 4.44 ± 0.52 nach dem 9. Jahr, beim slowakischen Fleckvieh von 0.79 auf 4.21 ± 0.38 und beim schwarzbunten Niederungsvieh von 2.69 auf 3.30 ± 0.22 zwischen dem 5. und 9. Jahr an.

Superovulationseffekt; Gelbkörper; nichtovulierte Follikel

Adresy autorov:

Doc. MVDr. Juraj Kačmárik, CSc., prof. MVDr. Pavol Gamčík, DrSc., Vysoká škola veterinárna, Komenského 73, 041 81 Košice
MVDr. Ján Pošivák, MVDr. Vladimír Dávid, MVDr. Paula Hrušková, MVDr. Elena Piešová, Experimentálne výskumné stredisko Vysokej školy veterinárskej, 076 64 Zemplínska Teplica

KULTIVACE A KONTROLA BUNĚK PRODUKUJÍCÍCH BOVINNÍ LEUKEMICKÝ VIRUS

M. Granátová

GRANÁTOVÁ, M. (Výzkumný ústav veterinárního lékařství, Brno): *Kultivace a kontrola buněk produkujících boviní leukemický virus*. Veter. Med. (Praha), 32, 1987 (10) : 587-594.

V terénní depistáži enzootické leukózy skotu způsobené boviním leukemickým virem BLV je identifikace pozitivních zvířat založena na průkazu specifických antivirových protilátek pomocí sérologických metod. Spolehlivost, především citlivost a specifita těchto testů, je determinována kvalitou použitého virového antigenu. Jeho příprava je založena na kultivaci viru BLV v kulturách buněčné linie FLS. Je popsán modifikovaný postup přípravy antigenu viru BLV v buněčné kultuře FLS a kontrola jeho produkce imuno-
peroxidázovým testem.

enzootická boviní leukóza (EBL); virus boviní leukózy (BLV); buňky jehněčí fetální sleziny (FLS); imunodifúzní test v agaru (AGID); imunoenzymatický test (ELISA); imunoperoxidázový test (IP); syncytiální test

Enzootická boviní leukóza je závažné onemocnění, způsobené virem BLV (bovine leukosis virus). Je rozšířena ve všech zemích s rozvinutým chovem skotu.

Zdrojem šíření infekce i její dlouhodobé perzistence v jednotlivých chovech jsou chronicky infikovaná zvířata. Tlumení nákazy i její postupná eradikace jsou zaměřeny na vyhledávání infikovaných jedinců a jejich eliminaci z ozdravovaných chovů.

Vzhledem k tomu, že v současnosti je v běžné diagnostické praxi přímý průkaz viru BLV neproveditelný, je identifikace pozitivních kusů založena na průkazu specifických antivirových protilátek sérologickými metodami. K tomuto účelu je využíván jednak imunodifúzní precipitační test AGID, jednak — především v poslední době — imunoenzymatický test ELISA.

Spolehlivost těchto testů je do značné míry ovlivněna kvalitou používaného virového antigenu, který je získáván při kultivaci buněčné linie FLS, infikované *in vitro* virem BLV; virus BLV je touto buněčnou kulturou trvale produkován (Van der Maaten a Miller, 1976).

Během dlouhodobé kultivace buněk FLS se v důsledku rychlého pasážování nebo narušených optimálních kultivačních podmínek může snížit počet buněk syntetizujících virus BLV (Ferrer aj., 1971, 1972). Proto je nutné jejich kvalitu trvale kontrolovat vzhledem k schopnosti produkce antigenu viru BLV (Graves a Ferrer, 1976).

Tuto práci jsme zaměřili jednak na sledování optimálních podmínek pro získání virového antigenu kultivací buněk FLS, jednak na studium vhodného způsobu kontroly produkce viru BLV v buňkách FLS.

MATERIÁL A METODA

A) PŘÍPRAVA ANTIGENU VIRU BLV

Kultivační médium

Jako kultivační médium lze použít médium MEM Eagle SEVAC (ÚSOL, Praha), doplněné:

- neesenciálními aminokyselinami NEA SEVAC ÚSOL Praha,
- 4 % prekolostrálního séra, nebo 5 % prekolostrálního séra ošetřeného netoxickým polyetylglykolem (PEG) 6000 (Durham aj., 1982); sérum musí být vyšetřeno na nepřítomnost mykoplasmat,
- antibiotiky a 7,5% roztokem NaHCO_3 upraveným na pH 7,2 až 7,3.

Kultivace buněk FLS

- Byly použity buňky FLS, klon G I/II, Holandsko.
- Suspenze buněk získané trypsinací tři až čtyři dny starých souvislých monolayerů se naředí na koncentraci $5 \cdot 10^5$ buněk na mililitr kultivačního média a rozplní se do kultivačních lahví.
- Za 24 hodiny po vytvoření souvislého buněčného monolayeru se z buněk slévá kultivační médium, a tím se získá virový antigen.
- Narostlé monolayeru buněk FLS lze znovu trypsinovat a mohou se opakovaně použít k další produkci viru.

B) IMUNOPEROXIDÁZOVÝ TEST (IP)

IP jsme dělali podle literárních údajů (De Lellis aj., 1979; Polí aj., 1981) v následující modifikaci:

Příprava preparátů buněk FLS

- Suspenze buněk FLS ($5 \cdot 10^5$ buněk $\cdot \text{ml}^{-1}$) se v množství 3,5 ml nasadí na skleněné Petriho misky ($\varnothing$ 4 cm) se šesti vloženými kultivačními sklíčky ($1,2 \times 1,2$ mm).
- Po 24 až 48 hodinách kultivace (před vytvořením souvislého monolayeru) se sklíčka opláchnou fyziologickým roztokem, osuší se a fixují pět minut chlazeným acetonem, opláchnou se destilovanou vodou a znovu se osuší.

Provedení IP testu

- Sklíčkové preparáty s fixovanými buňkami FLS se ponechají pět minut v roztoku TRIS-HCl, pH 7,6.
- Po usušení se tři sklíčkové preparáty převrství pozitivním sérem a tři preparáty negativním sérem po dobu 45 minut. Obě séra se předfídí v poměru 1 : 25 v roztoku TRIS-HCl.
- Všechny sklíčkové preparáty se po dobu 30 minut promývají třikrát v desetiminutových intervalech vyměňovaným roztokem TRIS-HCl.
- Sklíčkové preparáty se převrství na 45 minut peroxidázovým konjugátem SwAB/Px (ÚSOL, Praha).
- Následuje promývání preparátů podle bodu c).
- Preparáty se převrství na 45 minut testačním roztokem, promyjí se v destilované vodě a po usušení jsou mikroskopicky vyhodnoceny.

Hodnocení testu

Výrazně hnědé zbarvení situované v cytoplazmě buněk kultury FLS představuje nahloučení virového antigenu. Srovnání intenzity zbarvení a jeho rozsahu na sklíčkových preparátech převrstvených pozitivním nebo negativním sérem je ukazatelem stupně produkční aktivity dané buněčné kultury.

C) SYNCYTIÁLNÍ TEST

Příprava buněk

Na souvislou vrstvu primárních bovinních slezinných fetálních buněk na Müllerově láhvi bylo po odstranění média přidáno 5 ml odstředěného (1200 ot/10 minut) vyšetřovaného média z kultur buněk FLS. Po 72 hodinách bylo toto médium z buněk odstraněno a slezinné buňky byly dále pasážovány.

Cytologické vyšetření

Po třetí pasáži byly buňky nasazeny do zkumavek na sklíčka a třetí až pátý den byly fixovány Bouinovou tekutinou a barveny hematoxilin-eozinem. Přítomnost viru vyvolala tvorbu pětijaderných a vícejaderných syncytií.

VÝSLEDKY

Za 24 hodiny po nasazení buněk FLS (v množství $5 \cdot 10^5$ buněk. ml^{-1}) je jejich kultura tvořena jednotlivými buňkami, které jsou mezi sebou spojeny plazmatickými výběžky (obr. 1, 2). Při vyšetřování buněk na obr. 1 bylo v imunoperoxidázovém testu použito sérum obsahující protilátky proti viru BLV; buňky jsou na přítomnost tohoto viru pozitivní. Buňky na obr. 2 byly testovány sérem negativním, peroxidázové značení je rovněž negativní.

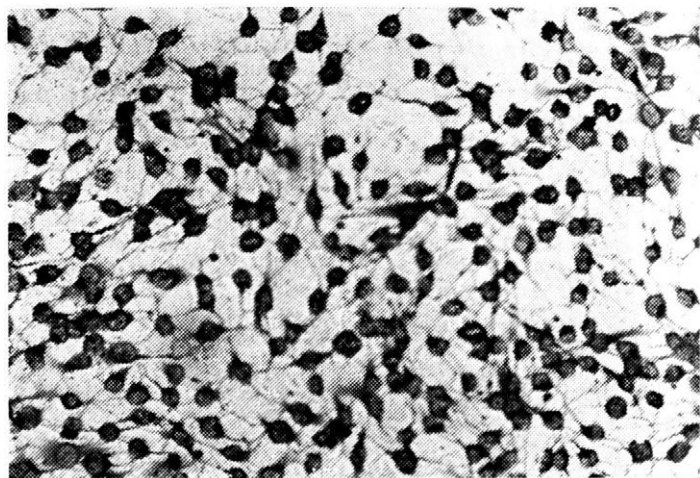
V kultivačním médiu získaném z těchto buněk nebyla syncytiálním testem přítomnost viru prokázána (obr. 3).

Po 72 hodinách kultivace tvoří již buňky souvislou vrstvu (obr. 4 a 5). Při testování buněk na obr. 4 bylo použito pozitivní leukózní sérum, buňky na obr. 5 byly testovány sérem negativním. Syncytiálním testem byla v kultivačním médiu z těchto buněk prokázána přítomnost viru (obr. 6).

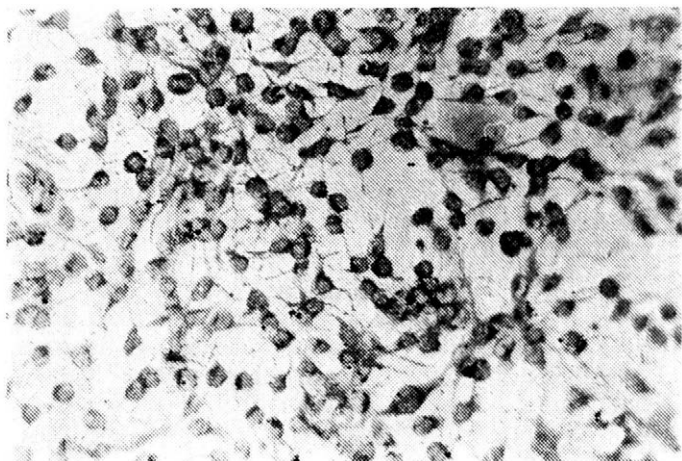
Při zachování optimálních kultivačních podmínek se buňky linie FLS, klon G I/II, infikované virem BLV velmi rychle pomnožují. Za 24 hodiny po nasazení je jejich kultura tvořena jednotlivými buňkami spojenými plazmatickými výběžky, ale již za další 24 hodiny kultivace se počet mitóz snižuje a formuje se souvislá buněčná vrstva. Za 72 hodiny celkové kultivace jsou monolayer kompletní.

Pomnožování viru BLV je časově shodné s obdobím progresivního růstu buněk linie FLS. IP testem byla nejvyšší koncentrace virového antigenu prokázána v rostoucích buňkách, tj. do 24 až 48 hodin po nasazení. V této době nebyla syncytiálním testem v kultivačním médiu přítomnost viru BLV prokázána. Další prodloužení kultivace nebylo doprovázeno adekvátním zvýšením koncentrace viru v buňkách, ale pouze uvolněním již vytvořeného viru do média. Za 72 hodiny byl virus prokazatelný pouze v kultivačním médiu syncytiálním testem.

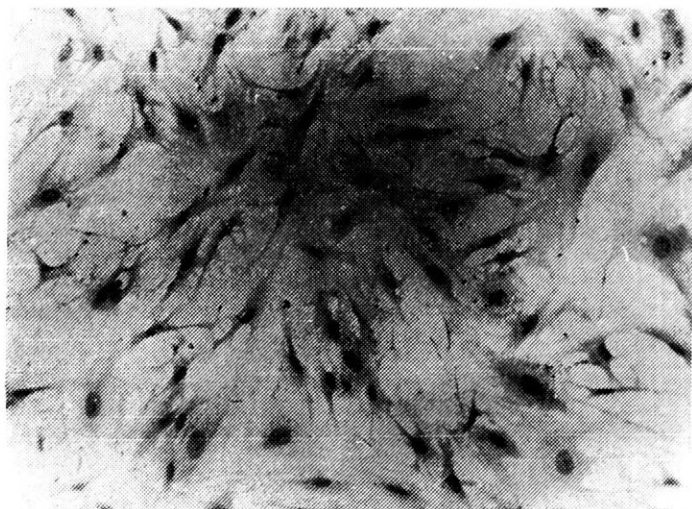
Z těchto důvodů je nejvhodnější používat k přípravě viru BLV kulturní médium slité z infikovaných FLS buněk, klon GI/II, 24 hodiny po vytvoření souvislého monolayeru, tj. obvykle za 48 až 72 hodiny po jejich nasazení. Delší kultivace tak, jak ji preferují současné metodické postupy, není vhodná jednak proto, že nedochází k další tvorbě viru a nárůstu jeho koncentrace, jednak proto, že již vytvořené částice se postupně rozpadají.



1. Buňky FLS kultivo-
vané 24 hodiny; v IP
testu bylo použito sé-
rum s protilátkami proti
BLV (ok. 10 X ob. 16)
— FLS cells cultivated
for 24 hours; serum
with antibodies to BLV
was used in the IP test
(eyepiece 10X, lens 16X)

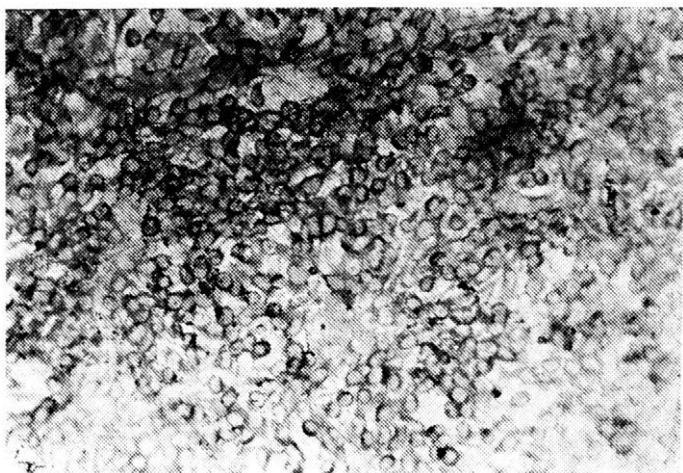


2. Buňky FLS kultivo-
vané 24 hodiny; v IP
testu bylo použito sé-
rum bez protilátek proti
BLV (ok. 10 X ob. 16)
— FLS cells cultivated
for 24 hours; serum
without antibodies to
BLV was used in the
IP test (eyepiece 10X,
lens 16X)

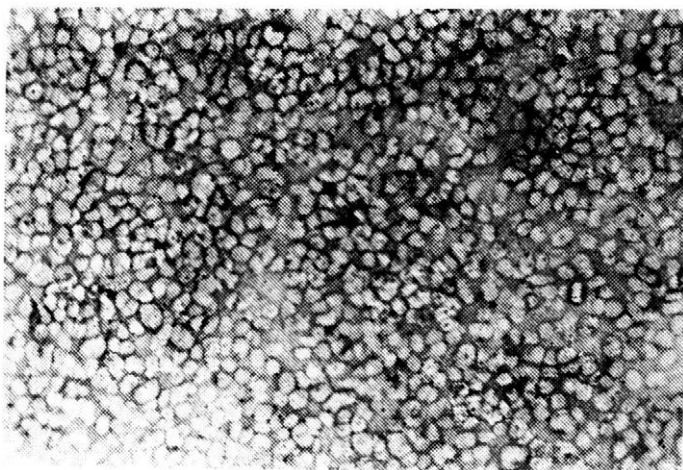


3. Negativní syncytiální
test s médiem z bu-
něk FLS kultivovaných
24 hodiny (ok. 10 X ob.
16) — Negative syncytial
test with a medium of
FLS cells cultivated for
24 hours (eyepiece 10X,
lens 16X)

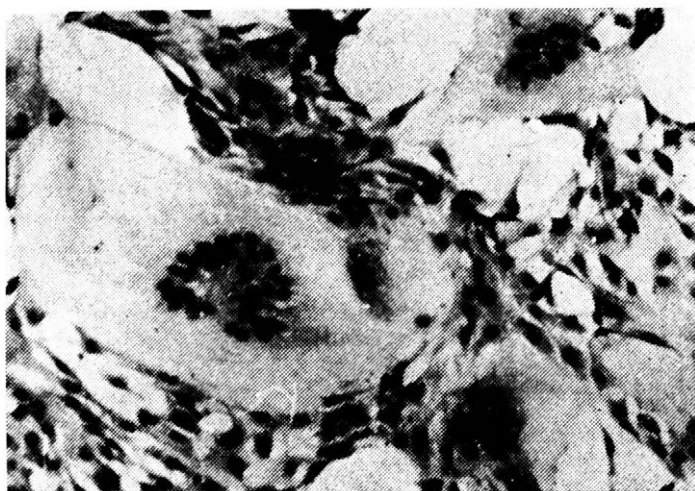
4. Buňky FLS kultivo-
vané 72 hodiny; v IP
testu bylo použito sé-
rum s protilátkami proti
BLV (ok. 10 X ob. 16)
— FLS cells cultivated
for 72 hours; serum
with antibodies to BLV
was used in the IP test
(eyepiece 10X, lens 16X)



5. Buňky FLS kultivo-
vané 72 hodiny; v IP
testu bylo použito sé-
rum bez protilátek proti
BLV (ok. 10 X ob. 16)
— FLS cells cultivated
for 72 hours; serum
without antibodies to
BLV was used in the
IP test (eyepiece 10X,
lens 16X)



6. Pozitivní syncytiální
test s médiem z bu-
něk FLS kultivovaných
72 hodiny (ok. 10 X ob.
16) — Positive syncytial
test with a medium of
FLS cells cultivated for
72 hours (eyepiece 10X,
lens 16X)



Způsob kultivace buněk FLS při získávání virového antigenu BLV je odlišný od kultivace buněk FLK (fetal lamb kidney), které jsou rovněž virusproduktivní (Van der Maaten a Miller, 1976). Schololz aj. (1984) uvádějí, že buňky FLK kultivovali 14 až 28 dní po vytvoření monolayeru a denně slévají médium obsahující virus. Buňky FLS, klon GI/II, je nutno pasážovat mnohem častěji, neboť za tři až pět dní po vytvoření monolayeru přestávají adherovat ke sklu a degenerují. Navíc bylo prokázáno, že ve vytvořeném buněčném monolayeru buněk FLS je replikace viru BLV velmi omezená.

Ke kultivaci buněk FLS lze použít pouze séra, která jsou předem vyšetřena na nepřítomnost protilátek a mykoplazmat (Mc Arrity aj., 1984; Sasaki aj., 1984). Při zpracování média z buněk kontaminovaných mykoplazmaty je získán virový antigen se sníženou kvalitou, což se projevuje nespecifickými reakcemi a menší citlivostí při vyšetřování sér diagnostickými soupravami (AGID, ELISA).

Pro výrobu kvalitního virového antigenu je dále nutné pravidelně kontrolovat, zda buňky produkují dostatečné množství viru. Klomováním buněk FLK bylo zjištěno (Altaner aj., 1985), že přítomnost reverzní transkriptázy je v jednotlivých kloních velmi rozdílná. Byly například zjištěny i klony s neintegrovanou provirovou DNA.

Kromě stanovení reverzní transkriptázy a elektronové mikroskopie (Valíček aj., 1985), což jsou metody vyžadující přístrojové a materiální vybavení, lze k průkazu viru v buňkách užít (mimo IP test) ještě test fluorescenční (Frenzel aj., 1975). Při ověřování vhodnosti a použitelnosti různých metodik bylo zjištěno, že pro přímou kontrolu produkce viru v buňkách FLS je IP test (De Lellis aj., 1979; Polli aj., 1981) nejvhodnější.

Schopnost buněk FLS produkovat virus BLV může být sledována i nepřímo, tzn., že lze prokázat virus BLV uvolněný z buněk do média (po 48 hodinách kultivace). K průkazu viru v médiu lze užít například test vazby komplementu (Miller a Van der Maaten, 1974), hemaglutinační test (Lešník a Vrtiak, 1984), elektronovou mikroskopii nebo syncytiální test (Guillemain aj., 1981).

Pro běžné použití jsou ovšem tyto nepřímé testy málo vhodné, neboť jsou velmi pracné a dlouhodobé (výsledky v syncytiálním testu lze hodnotit za dva až tři týdny). Při studiu vlastností buněk FLS byly použity pouze pro potvrzení výsledků v testu IP a bylo zjištěno, že dynamiku i úroveň aktuální produkce viru BLV v buňkách lze IP testem spolehlivě hodnotit.

Proto byl IP test doporučen jako metoda vhodná k permanentnímu ověřování každého operačního čísla antigenu BLV při výrobě diagnostických setů pro testy AGID a ELISA.

Literatura

- ALTANER, Č. — BÁN, J. — ZAJAC, V. — ROSSLER, H. — ROSENTHAL, S. S. — KETTMANN, R. — BURNY, A.: Isolation and characterization of cell clones producing various amounts of bovine leukosis virus. *Folia biol. (Praha)*, 31, 1981/1985, s. 107-114.

- DURHAM, P. J. K. — SMITH, J. R. — JOHNSON, R. H.: Use of polyethylene glycol treated sera for virus production in cell culture. *J. virol. Meth.*, 5, 1982, s. 329-334.
- FERRER, J. F. — STOCK, N. D. — LIN, P. S.: Detection of replicating C-type viruses in continuous cell cultures established from cows with leukemia: effect of the culture medium. *J. nat. Cancer Inst.*, 27, 1971, s. 613-621.
- FERRER, J. F. — AVILA, L. — STOCK, N. D.: Serological detection of type-C virus found in bovine cultures. *Canc. Res.*, 32, 1972, s. 1864-1870.
- FRENZEL, B. — MUSGAY, M. — SCHNEIDER, L. G. — STRAUB, O. C.: Immunofluorescence test for bovine leukosis-associated complement fixing antibodies. *Zbl. Veter.-Med., R. B.*, 22, 1975, s. 519-523.
- GRAVES, C. D. — FERRER, J. F.: *In vitro* transmission and propagation of the bovine leukemia virus in monolayer cell cultures. *Canc. Res.*, 30, 1976, s. 4152-4159.
- GUILLEMAIN, B. — MAMOUN, R. — ASTIER, T. — DUPLAN, J. F.: Mechanisms of early and late polykaryocytosis induced by the bovine leukemia virus. *J. gen. Virol.*, 57, 1982, s. 227-231.
- LELLIS, R. A. DE — STERNBERG, L. A. — MANN, R. B. — BANKS, P. M. — NAKANE, P. K.: Immunoperoxidase technics in diagnostic pathology. *Amer. J. clin. Path.*, 71, 1979, s. 483-489.
- LEŠNÍK, F. — VRTIAK, O. J.: Štúdium leukózy hovädzieho dobytku. [Výskumná správa.] Košice, Vysoká škola veterinárska 1984. 132 s.
- MAATEN, M. J. VAN DER — MILLER, J. M.: Replication of bovine leukemia virus in monolayer cell cultures. *Bibl. haemat.*, 43, 1976, s. 360-362.
- MC ARRITY, G. J. — VANAMAN, V. — SARAMA, J.: Cytogenetic effects of mycoplasmal infection of cell cultures. *In vitro*, 20, 1984, s. 1-18.
- MILLER, J. M. — VAN DER MAATEN, M. J.: A complement-fixation test for the bovine leukemia (C-type) vírus. *J. nat. Cancer Inst.*, 53, 1974, s. 6-18.
- POLI, G. — BALSARI, A. — TONIOLO, A. — PONTI, W. — VACICARCA, G.: Microplate enzyme-linked immunosorbent assay for bovine leukemic virus antibody. *J. clin. Microbiol.*, 13, 1981, s. 46-48.
- SASAKI, T. — SHINTANI, M. — KIHARA, K.: Inhibition of growth of mammalian cell cultures by extracts of arginine-utilizing mycoplasmas. *In vitro*, 20, 1984, s. 369-375.
- SCHOLZ, D. — BOSSMANN, H. — ROSSLER, H. — ROSENTHAL, S. — ROSENTHAL, H. A.: Produktion des bovinen Leukämie-Virus in permanent infizierten fötalen Lamm-Nieren-Zellen (Optimierungsversuche). *Mh. Veter.-Med.*, 39, 1984, s. 733-737.
- VALÍČEK, L. — ŠMÍD, B. — MACHATKOVÁ, M.: Elektronová mikroskopie viru bovinní leukózy (BLV) v buněčné linii fetální jehněčí sleziny. *Veter. Med. (Praha)*, 30, 1985, s. 37-44.

Došlo dne 28. 7. 1986

ГРАНАТОВА, М. (Научно-исследовательский институт ветеринарии, Брно): **Культивация и контроль у клеток, продуцирующих бовинный лейкоемический вирус.** *Veter. Med. (Praha)*, 32, 1987 (10) : 587-594.

В условиях местного депистажа энзоотического лейкоза крупного рогатого скота, вызванного БЛВ, идентификация положительных животных основана на показателе специфических антивирусных антител с помощью серологических методов. Надежность, главное, чувствительность и специфичность этих тестов даны качеством используемого вирусного антигена. Его приготовлению предшествует культивация вируса БЛВ в культурах клеточной линии ФЛС. Описан модифицированный способ приготовления антигена в ФЛС и контроль за его продукцией с помощью иммунопероксидазового теста.

энзоотический бовинный лейкоз; вирус бовинного лейкоза; клетки фетальной селезенки телят; иммунодиффузный тест в агаре; иммуноэнзиматический тест; иммунопероксидазовый тест; синтициальный тест

GRANÁTOVÁ, M. (Veterinary Research Institute, Brno): *Cultivation and Control of the Cells Producing the Bovine Leucosis Virus*. Veter. Med. (Praha), 32, 1987 (10) : 587-594.

In the field surveys of the occurrence of enzootic bovine leucosis caused by the bovine leucosis virus (BLV), the identification of positive animals is based on the detection of specific antiviral antibodies by serological methods. The reliability of these tests (particularly their sensitivity and specificity) depends on the quality of the virus antigen. The preparation of the antigen is based on the cultivation of BLV virus in cultures of the FLS cell line. A modified procedure of preparing the BLV antigen in the FLS cell culture is described, along with the control of its production by the immunoperoxidase test.

enzootic bovine leucosis (EBL); bovine leucosis virus (BLV); foetal lamb spleen (FLS) cells; agar immunodiffusion test (AGID); immunoenzymic procedure (ELISA); immunoperoxidase test (IP); syncytial test

GRANÁTOVÁ, M. (Forschungsinstitut für Veterinärmedizin, Brno): *Kultivierung und Kontrolle der das bovine leukämische Virus produzierenden Zellen*. Veter. Med. (Praha), 32, 1987 (10) : 587-594.

Bei der Ermittlung der durch das bovine leukämische BLV-Virus hervorgerufenen enzootischen Rinderleukose im Gelände beruht die Identifizierung der positiven Tiere auf dem Nachweis der spezifischen Virus-Antikörper mittels serologischer Methoden. Die Zuverlässigkeit, vor allem die Empfindlichkeit und Spezifik dieser Tests, hängen von der Qualität des angewendeten Virus-Antigenes ab. Seine Vorbereitung beruht auf der Kultivierung des BLV-Virus in den Kulturen der Zellenlinie FLS. Die vorliegende Arbeit beschreibt unter anderem die Vorbereitung des Antigens des BLV-Virus in der Zellenkultur FLS und die Kontrolle seiner Produktion anhand des Immunoperoxidasetests.

enzootische Rinderleukose (EBL); Rinderleukosevirus (BVL); Zellen der fetalen Lämmermilz (FLS); Immunodiffusionstest auf Agargel (AGID); Immunoenzymatischer Test (ELISA); Immunoperoxidasetest (IP); Synzytialtest

Adresa autorky:

RNDr. Marta Granátová, Výzkumný ústav veterinárního lékařství, Hudcova 70, 621 32 Brno

HODNOCENÍ SYNTETICKÉ AKTIVITY JADÉRKA LYMFOCYTŮ A FAGOCYTÁRNÍ AKTIVITY LEUKOCYTŮ PERIFERNÍ KRVE U SKOTU PO INFEKCI VIREM IBR

J. Derka, R. Pospíšil

DERKA, J. — POSPÍŠIL, R. (Vysoká škola veterinární, Brno; Mikrobiologický ústav ČSAV, Praha): *Hodnocení syntetické aktivity jadérka lymfocytů a fagocytární aktivity leukocytů periferní krve u skotu po infekci virem IBR*. Veter. Med. (Praha), 32, 1987 (10) : 595-602.

V této práci je hodnocena biosyntetická aktivita nukleolu lymfocytů periferní krve u telat a zastoupení lymfocytů s mikronukleoly, kompaktními a prsténčitými jadérky po experimentální intranazální a intratracheální infekci virem infekční bovinní rhinotracheitidy (IBR), tedy virem ze skupiny herpesvirů, na jehož zdolávání se podílí zejména celulární imunita. Výsledky jsou srovnávány s hodnotami fagocytujících neutrofilů, fagocytární aktivity a fagocytárního indexu leukocytů periferní krve a s některými základními hematologickými údaji.

intranazální infekce; intratracheální infekce; celulární imunita

Studie lymfocytů ukázala, že tyto buňky mohou obsahovat několik typů jadérek: jadérka s uniformní distribucí ribonukleoproteinových (RNP) struktur — jadérka kompaktní, jadérka s RNP strukturou jen v jejich periferní části — jadérka prsténčitá a velmi malá jadérka — mikronukleoly. Podle autoradiografických i experimentálních studií svědčí kompaktní jadérka o aktivní syntéze RNA a jsou obvykle přítomna v mladých či aktivovaných lymfocytech. Prsténčitá jadérka svědčí pro reverzibilní útlum syntézy RNA a jsou přítomna v klidových lymfocytech. Výskyt mikronukleolů je obvykle vázán na ireverzibilní inhibici syntézy RNA a představují terminální stadium nukleolárního vývoje.

Et c k s l a g e r aj. (1980) uvádějí, že nález lymfocytů s kompaktními nukleoly je nejčastější v periferní krvi kojenců a že s věkem ubývají. Naproti tomu procento lymfocytů s prsténčitým jadérkem a mikronukleoly s věkem stoupalo.

Vzestup lymfocytů s aktivní syntézou RNA byl zaznamenán *in vitro* po stimulaci fytohemagglutininem, či ve směsných lymfocytárních kulturách jako výraz inkompatibility (Š r á m k o v á aj., 1973).

U zdravých dospělých osob dosahují lymfocyty s prsténčitým nukleolem 80 až 90 %. Nižší procento výskytu je u mladých osob a u dětí do věku deseti měsíců, resp. u pacientů s některými neoplastickými chorobami. Procento kompaktních nukleolů je mnohem nižší, ale zvyšuje se při různých patologických procesech (K o r č á k o v á aj., 1981).

Mnoho nálezů poukazuje na to, že hlavní funkcí nukleolu je syntéza a utváření pre-r-RNA. Srovnávací biochemické a morfologické studie ukazují, že rozdělení, tak jako organizace komponent obsahujících nukleolární RNA, tyto dva procesy odráží (Smetana aj., 1980a, b; 1984a, b; Daskal aj., 1980).

Pokud jde o virové infekce a jejich vliv na imunitní mechanismus, jakým je fagocytóza, může se projevit jak inhibicí, jejímž důsledkem je zpomalená eliminace, tak i stimulací, která eliminaci urychluje. Proto stanovení fagocytární aktivity (FA) a fagocytárního indexu (FI) patří k základním parametrům používaným k charakteristice mikrofágů i makrofágů.

V současné době se pro stanovení těchto hodnot používá řada metod založených na fagocytóze nejrůznějších materiálů. Z nich se nověji uplatňují neantigenní partikule syntetizované radiační kopolymerací, označované jako HEMA částice, jejichž fagocytóza není závislá na opsonizační aktivitě séra (Fornůsek aj., 1985).

Produkce fagocytů je regulována homeostatickými mechanismy, které udržují hladinu buněk v poměrně úzkém rozmezí. Mononukleární fagocyty, placenta a stimulované T-lymfocyty jsou zdrojem CSF (colony stimulating factor). Zvýšená produkce CSF aktivuje více CFU-GM (granulocyto-makrocytární progenitorová buňka) do buněčného cyklu a vede ke zmnožení dceřiných buněk vytvářených z CFU-GM (Neuwirt aj., 1983).

CSF byl původně označen jako promotor proliferace a diferenciacie hemopoetické buňky. Nověji se ukazuje jako sekreční a efektorový faktor na zralé tkáňové makrofágy. Např. GM-CSF je identický s faktorem inhibice migrace neutrofilů a je potenciálním aktivátorem neutrofilů (Wing, 1985).

V této práci je hodnocena biosyntetická aktivita nukleolu lymfocytů periferní krve u telat a zastoupení lymfocytů s jednotlivými typy jadérek po infekci virem IBR — infekční bovinní rhinotracheitidy, tedy virem ze skupiny herpesvirů, při jehož zdolávání hraje významnou úlohu právě buněčná imunita.

Výsledky jsou srovnávány s hodnotami fagocytujících neutrofilů, fagocytární aktivity a fagocytárního indexu leukocytů periferní krve a s některými základními hematologickými údaji.

MATERIÁL A METODY

POKUSNÁ ZVÍŘATA

Telata byla vakcinována intramuskulárně do svaloviny krku 3 ml inaktivované vakcíny proti infekční bovinní rinotracheitidě (Borinak, Bioveta Nitra) a po osmi týdnech stejným způsobem revakcinována. Další telata tvořila skupinu kontrolní. Pět týdnů po revakcinaci byly obě skupiny telat infikovány intranazálně a intratracheálně dávkou 5 ml infekční tekutiny z tkáňových kultur, obsahující virus IBR v titru 10^6 TCID₅₀ na 0,1 ml.

BARVENÍ JADÉREK TOLUIDINOVOU MODŘÍ (Smetana aj., 1984)

Tenké nátěry periferní krve byly po usušení barveny v roztoku toluidinové modři pH 5,0 (300 mg v 100 ml citrátového pufru) při pokojové teplotě po dobu pěti minut, potom byly dvakrát omyty v citrátovém pufru (20 g kyseliny citrónové, 200 ml 1 N NaOH a destilované vody do 1000 ml) a usušeny.

STANOVENÍ FAGOCYTÁRNÍ AKTIVITY A FAGOCYTÁRNÍHO INDEXU

Suspenze 0,05 ml HEMA partikulí ředěných PBS ($8-10 \times 10^8$ částic v 1 ml) byla inkubována s 0,2 ml čerstvě odebrané krve stabilizované heparinem po dobu jedné hodiny při teplotě 37°C . Po skončení inkubace byly zhotoveny krevní nátěry a barveny panoptickým barvením podle Pappenheima. Ze zjištěných hodnot byly stanoveny tyto ukazatele:

1. procento fagocytujících leukocytů celkem (FA),
2. fagocytární index (FI)

$$FI = \frac{\text{počet fagocytovaných partikulí}}{\text{počet fagocytujících leukocytů}}$$

Uvedenou metodu podrobně popsali Fornůsek aj. (1985).

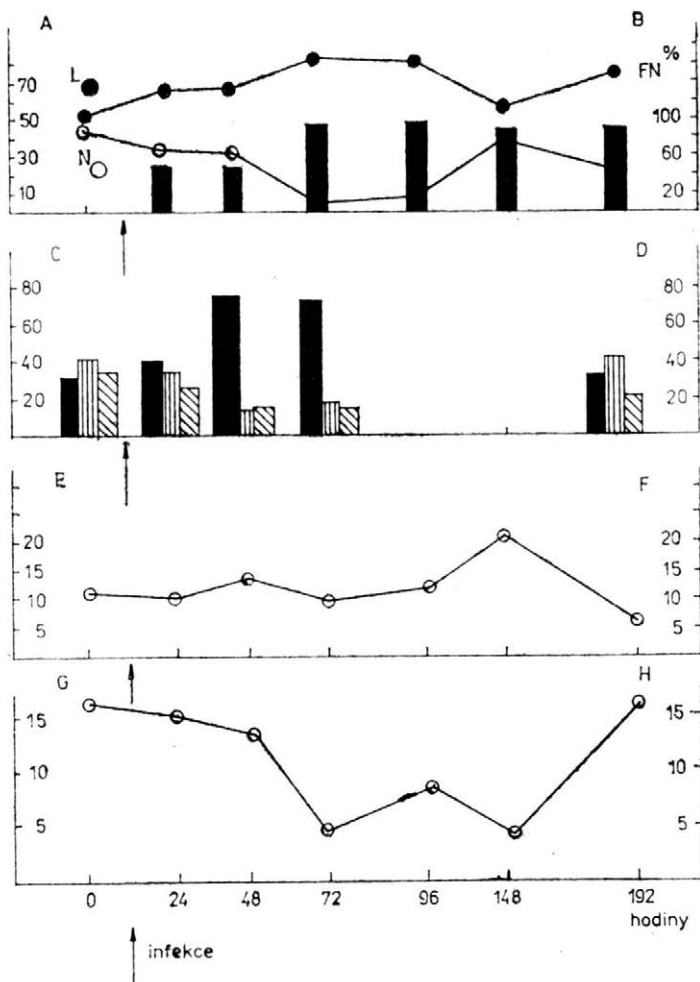
VÝSLEDKY A DISKUSE

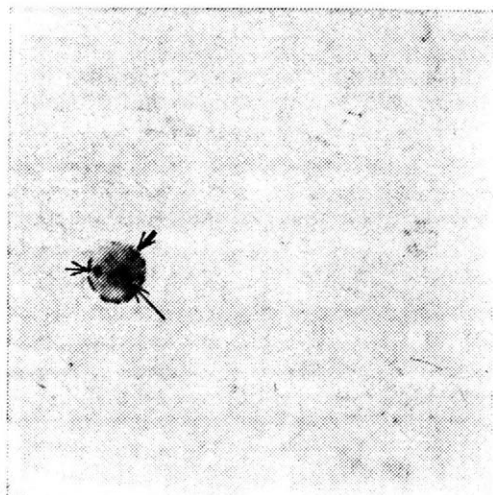
Výsledky hodnocení jadérek jsou zobrazeny na obr. 1.

Sledování distribuce ribonukleoproteinových struktur ukázalo, že během 24 hodin po experimentální infekci virem IBR nedošlo k významným změnám v zastoupení jednotlivých typů jadérek lymfocytů periferní krve telat.

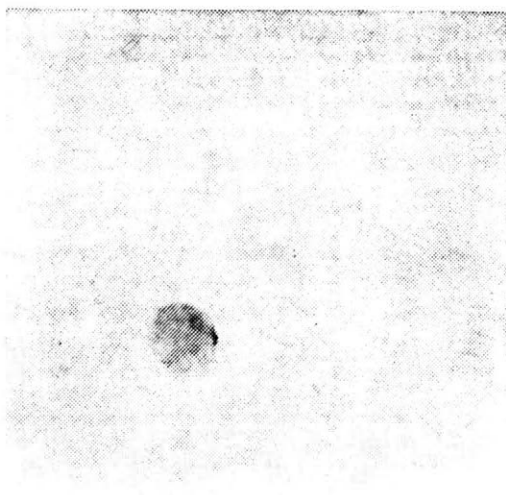
1. Výsledky hodnocení jadérek [A — hodnoty lymfocytů v % (L) a neutrofilů v % (N); B — procento fagocytujících neutrofilů; C, D — biosyntetická aktivita nukleolu lymfocytů periferní krve u kontrolního nevakuinovaného telete před infekcí virem IBR a jeden, dva, tři a osm dní po ní; kompaktní nukleolus — ■, prstěný nukleolus — ▨, mikronukleolus — ▤; E, F — procento fagocytujících leukocytů celkem (FA); G, H — fagocytární index (FI)]

The results of the evaluation of nucleoli [A — the values of lymphocytes in % (L) and neutrophils in % (N); B — percentage of phagocytizing neutrophils; C, D — biosynthetic activity of the nucleoli of the lymphocytes of peripheral blood in the control non-vaccinated calf prior to IBR infection and one, two, three and eight days afterwards; compact nucleolus — ■, ring-shaped nucleolus — ▨, micronucleolus — ▤; E, F — percentage of phagocytizing leucocytes, total (FA); G, H — phagocytic index (FI)]





2. Hodnocení nukleolu lymfocytů periferní krve; nukleolus s uniformní distribucí ribonukleoproteinových struktur — kompaktní nukleolus (tenká šipka), prsténčitý nukleolus (tenká dlouhá šipka) a mikronukleolus (tlustá šipka) — Evaluation of the nucleoli of the lymphocytes of peripheral blood; nucleolus with uniform distribution of ribonucleoprotein structures — compact nucleolus (thin arrow), ring-shaped nucleolus (thin long arrow) and micronucleolus (bold arrow)



3. Lymfocyt s výskytem RNP-struktur pouze v periferní oblasti nukleolu — „odpočívající“ — sleeping“ lymfocyt s prsténčitými jádérky — Lymphocyte with RNP structures only in the peripheral region of nucleolus — sleeping lymphocyte with ring-shaped nucleoli

48 a 72 hodin po experimentální infekci byl zaznamenán výrazný vzestup lymfocytů s uniformní distribucí RNP-struktur (obr. 2) se současným poklesem lymfocytů s prsténčitými jádérky, tzv. „sleeping lymphocytes“ (obr. 3) a lymfocytů s mikronukleoly. Tento nálezn je v souladu s výsledky vyšetření pacientů při různých virových infekcích a pacientů trpících některými lymfoproliferativními onemocněními (infekční mononukleóza, spalničky, plané neštovice), u kterých dochází ke zvýšené aktivitaci nukleolu lymfocytů (Š r á m k o v á aj., 1972).

U vakcinovaných telat nebyla v procentuálním zastoupení lymfocytů s jednotlivými typy jadérek zaznamenána změna.

Tento fakt lze vysvětlit tím, že u vakcinovaných telat virus nepronikl přes slizniční bariéru respiračního traktu, v němž specifickou humorální obranu zajistily protilátky indukované vakcinačním zásahem. Je totiž známo, že po vakcinaci vakcínou BORINAK dochází k přestupu protilátek podtřídy IgG 1 ze séra na povrch sliznice respiračního traktu (R o d á k aj., 1983).

Zjištěné hodnoty FA a FI jsou společně s některými základními hematologickými údaji uvedeny v tab. I a II.

U telat, která byla experimentálně infikována bez předchozí vakcinace, byly od třetího dne po infekci zaznamenány zvýšené hodnoty FI (obr. 4 a 5). Hodnoty FA klesly třetí den po infekci na 6 %, resp. na 2 %. Tento nálezn je však ovlivněn, jak bylo zaznamenáno u nevakci-

I. Telata infikovaná po předchozí vakcinaci a revakcinaci (průměrné hodnoty) — Calves infected after prior vaccination and revaccination (average values)

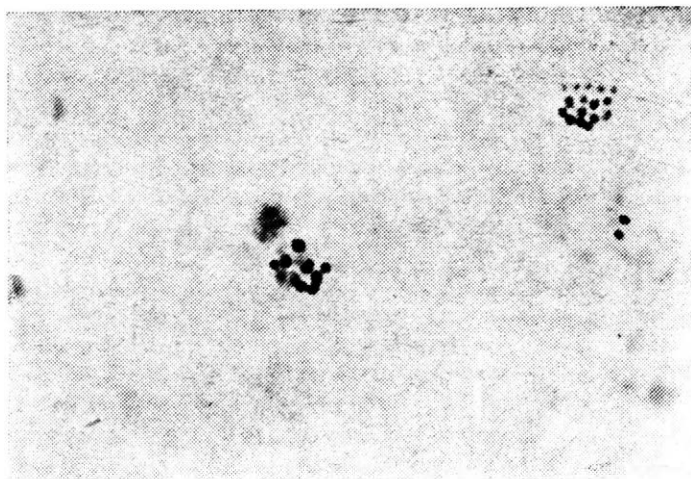
	Dny							
	před infekcí	před infekcí	po infekci					
			1. den	2. den	3. den	4. den	6. den	8. den
FA	12,5	7,8	8,5	18,5	14,5	13,5	17,5	9,8
FI	10,5	6,0	6,1	13,5	13,4	14,8	12,2	6,6
Fagocytující neutrofily %	37,5	—	22,5	54,5	41,0	46,5	62,5	44,0
Neutrofily %	27,5	19,0	15,5	29,8	31,5	28,0	32,5	22,0
Lymfocyty %	71,0	79,5	82,4	69,5	68,0	68,5	65,0	75,5
Leukocyty $G.l^{-1}$	—	8,5	11,5	5,5	10,0	9,5	—	—

II. Telata experimentálně infikovaná bez předchozí vakcinace a revakcinace (průměrné hodnoty) — Calves experimentally infected without prior vaccination and revaccination (average values)

	Dny							
	před infekcí	před infekcí	po infekci					
			1. den	2. den	3. den	4. den	6. den	8. den
FA	4,0	18,7	13,5	14,0	4,0	10,0	5,3	13,5
FI	6,3	8,0	13,2	14,0	18,0	15,2	12,6	15,8
Fagocytující neutrofily %	31,0	—	40,5	46,5	100,0	81,0	72,5	64,5
Neutrofily %	22,5	35,5	33,5	26,0	3,0	13,0	26,0	25,0
Lymfocyty %	77,0	62,5	66,5	74,0	96,5	85,5	72,0	72,5
Leukocyty $G.l^{-1}$	—	16,7	12,5	7,8	9,3	10,4	—	—

4. Hodnocení fagocytární aktivity leukocytů periferní krve; neutrofily po fagocytóze HEMA partikulí (nefagocytované HEMA partikule — tenká šipka) — Evaluation of the phagocytic activity of peripheral blood leucocytes; neutrophils after phagocytosis of HEMA particles (non-phagocytized HEMA particles — thin arrow)





5. Fagocytující eozinofil; poblíž lymfocyt, v okolí erytrocyty a volné HEMA partikule — Phagocytizing eosinophil with a lymphocyte near by and with erythrocytes and free HEMA particles around

novaných telat třetí den po infekci, výraznou neutrofilii, což je v souladu s výsledky, které uvedli u telat po infekci virem IBR Cummins a Rosenquist (1979). Počet neutrofilů klesl na 6 %, resp. na 2 %. Od téhož dne se signifikantně zvýšil počet fagocytujících neutrofilů s maximem třetí a čtvrtý den po infekci (až 100 %). Zvýšené nároky periferní krve byly pravděpodobně kompenzovány zvýšenou sekrecí CSF a touto cestou stimulací myelopoézy a maturací mladších vývojových forem v kostní dřeni (Vadas By, 1985). Tato zjištění jsou v souladu s výsledky, které uvedli Toman a Pšíkal (1985) a Toman aj. (1985). Tito autoři poukazují na zvýšení fagocytární aktivity v průběhu infekce u bezkolostrálních telat a u telat při některých průjemových onemocněních. Aktivace fagocytárního systému se zvyšuje také u pacientů s některými nádory (Zavázal, 1980).

Vzestup biosyntetické aktivity nukleolů by mohl být výrazem odpovědi a stimulace lymfatického systému po styku s novými antigeny. Vlastní mechanismus aktivace jádérka lymfocytů v průběhu imunitní reakce může být důsledkem interakce lymfocytů s antigeny, nebo může být sekundárně zprostředkován humorálními faktory.

Infekce virem IBR způsobuje po 72 hodinách výraznou neutrofilii, zvýšenou fagocytární aktivitu neutrofilů a lymfocytózu, čemuž předchází zvýšená aktivace lymfocytů.

Infekce tímto herpesvirem ovlivňuje procentuální zastoupení lymfocytů s jednotlivými typy nukleolů ve prospěch jáderek s uniformní distribucí ribonukleoproteinových struktur, tzv. kompaktních nukleolů, s poklesem „spících“ lymfocytů a lymfocytů s mikronukleoly.

Literatura

- CUMMINS, J. M. — ROSENQUIST, B. D.: Leukocyte changes and interferon production in calves injected with hydrocortisone and infected with infectious bovine rhinotracheitis virus. *Amer. J. veter. Res.*, 40, 1979, č. 2, s. 238-240.
 DASKAL, A. — SMETANA, K. — BUSH, H.: Evidence from studies on segregated nucleoli that nucleolar silver staining proteins C 23 and B 23 are in the fibrillar component. *Exp. Cell Res.*, 127, 1980, s. 285-291.

- ETCKSLAGER, T. — KASAL, P. — SMETANA, K.: Některé možnosti využití nukleolárního testu v klinické diagnostice. Prakt. Lékař, 60, 1980, s. 667-668.
- FORNŮSEK, L. — VETVIČKA, V. — KOPEČEK, J.: Nová metoda ke studiu fagocytózy periferních krevních leukocytů. Českoslov. Epidem. Mikrobiol. Imunobiol., 34, 1985, s. 234-238.
- KORČÁKOVÁ, L. — SMETANA, K. — ROVENSKÝ, J. — PEKÁREK, J.: Nucleoly of lymphocytes in the peripheral blood of humans with connective tissue disease. Acta rheumatol. scand., 10, 1981, s. 5-22.
- NEUWIRT, J. — NEČAS, E. — KORNALÍK, F. — ŠULC, K.: Patofyziologie krve. Red.: Z. Chvojková, 1. vyd. Praha, Avicenum 1983. 366 s.
- RODÁK, L. — POSPÍŠIL, Z. — HAMPL, J.: A study of the dynamics of the production of class-specific antibodies to infectious bovine rhinotracheitis (IBR) virus in calves using a solid-phase radioimmunoassay. Zbl. Veter.-Med., R. B., 30, 1983, s. 708-715.
- SMETANA, K. — LIKOVSKÝ, Z.: Nuclear and nucleolar effect of experimental endotoxemia on rabbit hepatocytes. Virchow's Arch., Abt. B, 34, 1980a, s. 135-151.
- SMETANA, K. — DASKAL, A. — BUSH, H.: Cytochemistry of the microtrabecular network in compact nucleoli of hepatocytes treated with cycloheximide. Histochemistry, 65, 1980b, s. 301-308.
- SMETANA, K. — LIKOVSKÝ, Z. — BUSH, R. K. — BUSH, H.: Further studies on satellite nucleoli in rat and mouse hepatocytes. Exp. Cell Res., 151, 1984a, s. 80-86.
- SMETANA, K. — OCHS, R. — LISCHWE, A. — GYORKEY, F. — FREIREICH, E. — CHUDOMEL, V. — BUSH, H.: Immunofluorescence studies on proteins B 23 and C 23. Exp. Cell Res., 152, 1984b, s. 195-203.
- ŠRÁMKOVÁ, L. — FORTOVÁ, D.: Výskyt lymfocytů s aktivací nukleolu během různých virových infekcí. Z. Immun.-Forsch., 144, 1972, s. 129.
- TOMAN, M. — PŠIKAL, I.: Test fagocytární aktivity krevních leukocytů u telat. Veter. Med. (Praha), 30, 1985, s. 393-400.
- TOMAN, M. — PŠIKAL, I. — MENSÍK, J.: Fagocytární aktivita krevních leukocytů telat od narození do věku tři měsíce. Veter. Med. (Praha), 30, 1985, s. 401-408.
- VADAS, By M. A.: Correlation between the stimulation of human neutrophil function by monoclonal antibody and colony stimulating factor. Blood, 66, 1985, č. 3, s. 738-741.
- WING, E. J.: Macrophage colony stimulating factor (M-CSF) enhances the capacity of murine macrophages to secrete oxygen reduction products. J. Immunol., 153, 1985, č. 3, s. 2052-2056.
- ZAVÁZAL, V.: Imunologické testy v posouzení reaktivity u nádorové nemoci. Prakt. Lékař, 60, 1980, s. 14.

Došlo dne 30. 1. 1987

DERKA, J. — POSPÍŠIL, R. (Veterinárny institút, Brno; Mikrobiologický institút ČSAV, Praha): *Ocena syntetické aktivity jadrýchka lymfocytů a fagocytární aktivity leukocytů periferní krve u velkých rohatých zvířat po infekci virusem IBR*. Veter. Med. (Praha), 32, 1987 (10) : 595-602.

V dané práci určuje se biosyntetická aktivita jadrýchka lymfocytů periferní krve u telat, a také nahrazení lymfocytů s mikronukleolami, kompaktními a palečovitými jadrýchkami po experimentální intranazální a intratracheální infekci virusem býčím rinotracheit (IBR), tedy, virusem z skupiny herpesvirů, v zničení kterého hlavně způsobem účinku celulózního imunitu. Výsledky srovnávají se s hodnotami fagocytárních neutrofilů, fagocytární aktivity a fagocytárního indexu leukocytů periferní krve, a také s některými hlavními hematologickými údaji.

intranazální infekce; intratracheální infekce; celulózní imunita

DERKA, J. — POSPÍŠIL, R. (University of Veterinary Medicine, Brno; Microbiological Institute of the Czechoslovak Academy of Sciences, Praha): *An Evaluation of the Synthetic Activity of Lymphocyte Nucleoli and the Phagocytic Activity of the Leucocytes of Peripheral Blood in Cattle Infected with the IBR Virus*. Veter. Med. (Praha), 32, 1987 (10) : 595-602.

The biosynthetic activity of the nucleoli of peripheral blood lymphocytes in calves, and the proportion of lymphocytes with the micronucleoli, with compact and ring-shaped nucleoli, were evaluated after experimental intranasal and intratracheal infections with the infectious bovine rhinotracheitis (IBR) virus. IBR virus belongs to the group of herpes viruses, the control of which is dominated by cellular immunity. The results are compared with the values for phagocytizing neutrophils, phagocytic activity and phagocytic index of the leucocytes of peripheral blood and with some basic haematological data.

intranasal infection; intratracheal infection; cellular immunity

DERKA, J. — POSPÍŠIL, R. (Veterinärmedizinische Hochschule, Brno; Mikrobiologisches Institut der ČSAV, Praha): *Bewertung der synthetischen Aktivität des Lymphozytenkernes und der phagozytären Aktivität der Leukozyten des peripherischen Blutes der Rinder nach der Infektion mit dem IBR-Virus*. Veter. Med. (Praha), 32, 1987 (10): 595-602.

In der vorliegenden Arbeit werden die biosynthetische Aktivität des Lymphozytenkernes des peripherischen Blutes der Kälber und die Vertretung der Lymphozyten mit Mikrokernen, mit kompakten und ringförmigen Kernen nach der experimentalen intranasalen und intratrachealen Infektion mit dem IBR-Virus bewertet (IBR = infektiöse Rhinotracheitis der Rinder), also mit einem Virus aus der Gruppe der Herpesviren, an dessen Bekämpfung sich insbesondere die zelluläre Immunität beteiligt. Die ermittelten Ergebnisse werden mit den Werten der phagozytierenden Neutrophilen, der phagozytären Aktivität und des phagozytären Indexes der Leukozyten des peripherischen Blutes und mit einigen grundlegenden hämatologischen Angaben verglichen.

intranasale Infektion; intratracheale Infektion; zelluläre Immunität

Adresy autorů:

MVDr. Josef Derka, Vysoká škola veterinární, Palackého 1-3, 612 42 Brno

MVDr. Richard Pospíšil, Mikrobiologický ústav ČSAV, Vídeňská 1083, 142 20 Praha

VPLYV UMELEHO ULTRAFIALOVÉHO SVETLA NA BIOCHEMICKÉ UKAZOVATELE TELIAT

J. Brouček, K. Kovalčík, D. Gajdošík, V. Brestenský

BROUČEK, J. — KOVALČÍK, K. — GAJDOŠÍK, D. — BRESTENSKÝ, V. (Výskumný ústav živočišnej výroby, Nitra; Štátny veterinárny ústav, Nitra): *Vplyv umelého ultrafialového svetla na biochemické ukazovatele teliat*. Veter. Med. (Praha), 32, 1987 (10): 603-610.

Zisťovali sme zmeny biochemických ukazovateľov, ktoré nastávajú v krvnom sére teliat po pôsobení optimálnych dávok ultrafialového žiarenia. Ožarovanie sa aplikovalo dvakrát denne v troch periódach — 8, 9 a 10-dňovej. V prvom experimente sa použili denné dávky 90, 130 a 180 mEr.h.m⁻², v druhom experimente 120, 180 a 240 mEr.h.m⁻². Zistili sme, že vplyvom žiarenia v priebehu jednotlivých periód sa zvyšovala celková proteínemia, rozdiely medzi pokusnými a kontrolnými skupinami boli signifikantné. Po expozícii ultrafialovým svetlom sa zvýšila aktivita tyreoidy, koncentrácia tyroxínu bola na konci periód ožarovania u zvierat pokusných skupín preukazne až vysokopreukazne vyššia. Najväčšie rozdiely sme evidovali v prvom experimente (15 nmol.l⁻¹ až 21,4 nmol.l⁻¹). Nezistili sme zmeny pri hodnotení aktivity alkalického fosfatázy, trijódtyronínu, sodíka, draslíka, vápnika a pomeru sodíka a draslíka.

ožarovanie ultrafialovým svetlom; celkové bielkoviny; tyroxín; trijódtyronín; alkalická fosfatáza; sodík; draslík; vápnik; pomer sodík : draslík

Cieľom našej práce bolo na základe štúdia niektorých biochemických ukazovateľov zistiť zmeny v krvnom sére po ultrafialovom žiarení. Denné dávky žiarenia od 90 do 240 mEr.h.m⁻², ktoré sme použili, významne stimulovali rast živej hmotnosti teliat v období mliečnej výživy a zlepšenú konverziu živín (Brouček a i., 1987). V porovnaní s kontrolnou skupinou sme evidovali o 13 % vyššie prírastky hmotnosti a o 14 % nižšiu spotrebu krmnej zmesi na tvorbu jedného kilogramu prírastku.

Následky ožiarovania u človeka a zvierat sa objavujú po latentnej dobe najskôr na koži. V pokožke sa rozširujú podkožné kapiláry a vzniká erytém. Štiepne produkty vzniknuté denatúraciou bielkovín sa rýchlo dostávajú do krvného obehu. Tieto látky dráždia nervový systém a vyvolávajú nervové reflexné procesy. Ožiarovaný organizmus je teda prvotne ovplyvňovaný reakciou pokožky a druhotne neurohumorálne (Meljukov, 1986). Na vysvetlenie otázky, čo sa stane v organizme s absorbovanou energiou, existuje viacej teórií. Histamínová teória tvrdí, že vzniká histamín a ďalšie látky s podobným účinkom. Ako vedľajšia reakcia nastáva sekrécia žalúdka a pokles krvného tlaku (Baudach

a Schreiber, 1968). Podobne sa diskutuje aj o zvýšenej tvorbe serotoninu. Ďalšia teória je založená na zvýšenej syntéze derivátov so skupinou sulfohydrylovou, ktoré sú hlavným nosičom redukčných pochodov, zúčastňujú sa aj na dýchacích procesoch v bunke a fungujú ako aktivátory fermentatívnych procesov. Súčasne sa podieľajú na odvode škodlivých látok z organizmu. Ich vplyvom sa zvyšuje aktivita štítnej žľazy (Wels, 1953). Pozitívny vplyv na organizmus má, ako uviedol Schreiber (1959), priame pôsobenie UV žiarenia na terminálne retikula autonómneho nervového systému v koži s následným ovplyvnením vnútorných orgánov a CNS.

Ožarovanie ultrafialovými lúčmi vzniká zo 7-dehydrocholesterolu vitamín D₃-cholecalciferol, ktorý je u cicavcov rovnocenný s vitamínom D₂, prijímaným potravou. Hidiroglou a i. (1985) zistili u kráv, ktoré v mesiacoch január a február ožarovali po dobu piatich týždňov umelým ultrafialovým svetlom, preukazné zvýšenie vitamínu D₃ v krvnej plazme. Základnou funkciou vitamínu D je mineralizácia kostí. Pre zabezpečenie tejto funkcie pôsobí vitamín D na zvýšenú absorpciu kalcia v čreve a prejavuje sa aj ako anabolický faktor, podporujúci proteosyntézu (Blahoš a Bleha, 1979; Hidiroglou a Proulx, 1983). Gurejev (1963) zistil po päťdňovom ožarovaní u teliat a mladého dobytku zvýšenie obsahu celkových bielkovín, najmä gamaglobulínov. Podobné výsledky uvádzajú aj Krakosevič a i. (1981) a Pljaščenko (1983).

MATERIÁL A METÓDA

Realizovali sme dva experimenty zamerané na priaznivé pôsobenie ultrafialového žiarenia — prvý v roku 1985 a druhý v roku 1986. V každom experimente sme použili 20 jalovičiek plemena nížinné čiernostrakaté, ktoré boli rozdelené do pokusnej a kontrolnej skupiny. Zvieratá boli chované v jednom objekte, v skupinovom koterčovom ustajnení s hlbokou podstielkou. Obidva experimenty prebehli v jarných mesiacoch — teplotno-vlhkostný režim ako aj kŕmenie uviedli Brouček a i. (1987). Ožarovanie ultrafialovým svetlom sme aplikovali v troch periódach (tab. I), denná dávka bola rozdelená na dve časti — ráno a poobede. Ako zdroj žiarenia sme použili vysokotlaké ortuťové výbojky RVK 400 (280—320 nm). Zvieratá pokusných i kontrolných skupín nemali do výbehu prístup. Odber krvi punkciou *vena jugularis* sme robili vždy pred začiatkom a po ukončení periódy

I. Harmonogram ožarovania ultrafialovým svetlom — Schedule of exposure to ultraviolet light

Periódá	I. experiment			II. experiment		
	počiatočný vek dní	dĺžka dní	denná dávka na m ²	počiatočný vek dní	dĺžka dní	denná dávka na m ²
1. pokusná	30	8	90 mEr.h	25	8	120 mEr.h
1. medzipokusná		7	—		11	—
2. pokusná		9	130 mEr.h		9	180 mEr.h
2. medzipokusná		16	—		18	—
3. pokusná		10	180 mEr.h		10	240 mEr.h

ožarovania. Aktivitu alkalickéj fosfatázy a koncentráciu celkových bielkovín sme stanovovali Bio-La-testami, obsah tyroxínu a trijódtyronínu radioimunologicky (ÚVRJT Košice), sodík, draslík a vápnik pomocou plameňovej fotometrie. Všetky ukazovatele sme analyzovali v krvnom sére.

VÝSLEDKY

V aktivite enzýmu alkalickéj fosfatázy (tab. II) sa neprejavili v rámci períod ani skupín výrazné rozdiely. Hladina celkových bielkovín sa vplyvom ultrafialového svetla zvyšovala, najvýraznejšie v druhej a tretej perióde obidvoch experimentov ($1,9 \text{ g.l}^{-1}$; $2,1 \text{ g.l}^{-1}$; $1,6 \text{ g.l}^{-1}$ a $2,3 \text{ g.l}^{-1}$). Tieto rozdiely neboli signifikantné, ale v dôsledku nižšej úrovne ukazovateľa u zvierat kontrolnej skupiny sa signifikancie zistili v porovnaní medziskupinových rozdielov (tab. II).

Podobne ako koncentráciu celkových bielkovín stimulovalo ultrafia-

II. Aktivita alkalickéj fosfatázy a koncentrácia celkových bielkovín u sledovaných skupín teliat — Alkaline phosphatase activity and the concentration of total protein in the studied groups of calves

Ukazovateľ	Periód	I. experiment			II. experiment		
		pokus $\bar{x}$	kontrola $\bar{x}$	d	pokus $\bar{x}$	kontrola $\bar{x}$	d
Alkalická fosfatáza $\mu\text{kat.l}^{-1}$	I. začiatok	1,20	1,11	0,09	0,95	0,93	0,02
	I. koniec	1,10	1,13	-0,03	1,04	0,90	0,14
	I. rozdiel	0,10	-0,02	—	-0,09	0,03	—
	II. začiatok	1,22	1,05	0,17	0,82	0,89	-0,07
	II. koniec	1,25	1,05	0,20	0,96	0,85	0,11
	II. rozdiel	-0,03	0,00	—	-0,14	0,04	—
	III. začiatok	1,00	0,89	0,11	0,94	0,94	0,00
	III. koniec	1,16	0,92	0,24	1,12	0,97	0,15
	III. rozdiel	-0,16	-0,03	—	-0,18	-0,03	—
Celkové bielkoviny g.l^{-1}	I. začiatok	53,20	54,10	-0,90	54,80	53,90	0,90
	I. koniec	52,80	54,00	-1,20	55,80	54,10	1,70
	I. rozdiel	0,40	0,10	—	-1,00	-0,20	—
	II. začiatok	58,50	56,80	1,70	61,30	55,00	6,30+
	II. koniec	60,40	55,90	4,50+	62,90	55,60	7,30+
	II. rozdiel	-1,90	0,70	—	-1,60	-0,60	—
	III. začiatok	61,30	54,60	6,70+	60,70	58,20	2,50
	III. koniec	63,40	55,30	8,10++	63,00	59,40	3,60+
	III. rozdiel	-2,10	-0,70	—	-2,30	-1,20	—

+ = $P < 0,05$

$n = 10$

++ = $P < 0,01$

III. Obsah tyroxínu a trijódtyronínu u sledovaných skupín teliat v jednotlivých periódach — The concentrations of thyroxine and triiodothyronine in the studied groups of calves in individual periods of exposure

Uk- zo- vateľ	Periód	I. experiment			II. experiment		
		pokus $\bar{x}$	kontrola $\bar{x}$	d	pokus $\bar{x}$	kontrola $\bar{x}$	d
Trijódtyronín	I. začiatok	1,91	2,22	— 0,31	1,35	1,05	0,30
	I. koniec	1,70	2,25	— 0,55	1,41	1,08	0,33
	I. rozdiel	0,21	— 0,03	—	— 0,06	— 0,03	—
	II. začiatok	2,20	2,06	0,14	1,12	1,25	— 0,13
	II. koniec	2,37	1,80	0,57 ⁺	1,35	1,25	0,10
	II. rozdiel	— 0,17	0,26	—	— 0,23	0,00	—
	III. začiatok	1,62	1,83	— 0,21	1,25	1,35	— 0,10
	III. koniec	1,69	1,73	— 0,04	1,11	1,22	— 0,11
	III. rozdiel	— 0,07	0,10	—	0,14	0,13	—
Tyroxín	I. začiatok	62,10	60,90	1,20	54,32	60,45	— 6,13
	I. koniec	75,37	55,91	19,46 ⁺⁺	59,00	61,20	— 2,20
	I. rozdiel	— 13,27 ⁺	4,99	—	— 4,68	— 0,75	—
	II. začiatok	78,06	65,37	12,69	61,55	54,36	7,19
	II. koniec	80,71	65,68	15,03	73,25	53,20	20,05 ⁺
	II. rozdiel	— 2,65	— 0,31	—	— 11,70	1,16	—
	III. začiatok	67,21	57,57	9,64	49,30	57,25	— 7,95
	III. koniec	73,44	52,00	21,44 ⁺	59,17	56,30	2,87
	III. rozdiel	— 6,23 ⁺⁺⁺	5,57	—	— 9,87	0,95	—

trijódtyronín (pokusná skupina): koniec II. periód: začiatok III. periód⁺⁺

⁺ = $P < 0,05$

⁺⁺⁺ = $P < 0,005$

lové žiarenie aj aktivitu štítnej žľazy. Najmarkantnejšie to vidno na obsahu tyroxínu (tab. III), ktorý sa zvýšil u zvierat pokusnej skupiny v prvom experimente už počas prvej periód, pričom rozdiel medzi začiatkovou a konečnou hodnotou v tretej perióde bol veľmi vysoko preukazný. Signifikantné rozdiely sme evidovali aj v porovnaní skupín — 19,5 nmol . l⁻¹ na konci prvej periód a 21,4 nmol . l⁻¹ na konci tretej periód. Rovnaký trend sa prejavil aj v druhom experimente.

Pôsobením ultrafialového žiarenia sa mierne zvyšovala koncentrácia sodíka v sére teliat pokusných skupín (tab. IV). Najvýraznejší efekt sme zistili na konci prvej a tretej periód prvého experimentu a na konci druhej a tretej periód druhého experimentu. Na rozdiel od tohto sa kalémia menila len minimálne. V dôsledku toho sa pomer sodíka a draslíka (tab. V) na konci periód ožarovania rozširoval, najmä v druhom experimente. V obsahu vápnika (tab. V) nedošlo k žiadnym zmenám.

IV. Koncentrácia sodíka a draslíka v sére sledovaných skupín teliat — The concentrations of sodium and potassium in the serums of the studied groups of calves

Uka- zovateľ	Periódá	I. experiment			II. experiment		
		pokus $\bar{x}$	kontrola $\bar{x}$	d	pokus $\bar{x}$	kontrola $\bar{x}$	d
Sodík mmol/l ⁻¹	I. začiatok	132,00	133,50	— 1,50	138,00	139,10	— 1,10
	I. koniec	134,70	135,10	— 0,40	138,90	138,70	0,20
	I. rozdiel	— 2,70	— 1,60	—	— 0,90	0,40	—
	II. začiatok	133,70	133,60	0,10	137,30	139,60	— 2,30
	II. koniec	133,50	133,90	— 0,40	139,10	139,80	— 0,70
	II. rozdiel	0,20	— 0,30	—	— 1,80	— 0,20	—
	III. začiatok	129,90	134,10	— 4,20 ⁺⁺	139,80	143,10	— 3,30
	III. koniec	133,10	131,40	— 0,30	141,90	143,50	— 1,60
	III. rozdiel	— 3,20 ⁺	2,70	—	— 2,10	— 0,40	—
Draslík mmol/l ⁻¹	I. začiatok	5,41	5,44	— 0,03	5,23	5,07	0,16
	I. koniec	5,41	5,21	0,20	5,18	5,20	— 0,02
	I. rozdiel	0,00	0,23	—	0,05	— 0,13	—
	II. začiatok	5,05	4,84	0,21	4,72	4,89	— 0,17
	II. koniec	5,07	5,10	— 0,03	4,66	4,80	— 0,14
	II. rozdiel	— 0,02	— 0,26	—	0,06	0,09	—
	III. začiatok	4,62	4,68	— 0,06	5,15	4,97	0,18
	III. koniec	4,72	4,61	0,11	5,06	4,78	0,28
	III. rozdiel	— 0,10	0,07	—	0,09	0,19	—

+ = $P < 0,05$

++ = $P < 0,01$

$n = 10$

DISKUSIA

V súlade s autormi Gurejev (1963), Krakosevič a i. (1981) a Pljaščenko a i. (1983) sme v experimentoch zistili zvýšenie obsahu celkových bielkovín v sére jalovičiek pokusných skupín, a to nielen v priebehu periód ožarovania, ale aj v porovnaní s kontrolnými zvieratami. To poukazuje na zintenzívnenie proteosyntézy, ktoré súvisí so zvýšením rastu živej hmotnosti ožarovaných zvierat (Brouček a i., 1987). Dôležitým faktorom, ktorý zrejme pozitívne zasahuje do anabolických pochodov a ktorý sa mohol vytvárať pôsobením ultrafialovej radiácie, bol cholekalciferol (Hidiroglou a Proulx, 1983; Hidiroglou a i., 1985). Podobne ako Wels (1953) sme vplyvom ultrafialového žiarenia evidovali zvýšenie koncentrácie tyroxínu, čo nasvedčuje zvýšeniu intenzity látkovej premeny, potrebám pre anabolický efekt. Pravdepodobne tu má významnú úlohu serotonin vznikajúci pri erytemálnej re-

V. Pomer sodíka a draslíka a obsah vápníka v sére sledovaných skupín teliat — The sodium-to-potassium ratio and the content of calcium in the serum of the studied groups of calves

Uka- zovateľ	Periódá	I. experiment			II. experiment		
		pokus $\bar{x}$	kontrola $\bar{x}$	d	pokus $\bar{x}$	kontrola $\bar{x}$	d
Pomer sodíka ku draslíku	I. začiatok	24,59	24,64	-0,05	26,42	27,47	-1,05
	I. koniec	25,22	25,97	-0,75	26,90	26,71	0,19
	I. rozdiel	-0,63	-1,33	—	-0,48	0,76	—
	II. začiatok	26,70	27,66	-0,96	29,11	28,70	0,41
	II. koniec	26,33	26,38	-0,06	29,87	29,31	0,56
	II. rozdiel	0,37	1,28	—	-0,76	-0,61	—
	III. začiatok	28,24	28,84	-0,60	27,24	28,84	-1,60
	III. koniec	28,19	28,57	-0,38	30,02	30,08	-0,06
	III. rozdiel	0,05	0,27	—	-2,78	-1,24	—
Vápnik mmol.l ⁻¹	I. začiatok	2,49	2,44	0,05	2,38	2,42	-0,04
	I. koniec	2,40	2,44	-0,04	2,35	2,42	-0,07
	I. rozdiel	0,09	0,00	—	0,03	0,00	—
	II. začiatok	2,36	2,36	0,00	2,43	2,39	0,04
	II. koniec	2,39	2,37	0,02	2,40	2,41	-0,01
	II. rozdiel	-0,03	-0,01	—	0,03	-0,02	—
	III. začiatok	2,32	2,34	-0,02	2,44	2,45	-0,01
	III. koniec	2,40	2,42	-0,02	2,46	2,45	0,01
	III. rozdiel	-0,08	-0,08	—	-0,02	0,00	—

$n = 10$

akcii, ktorý — ako uvádzajú Blahoš a Bleha (1979) — úzko súvisí s tyreotropným hormónom a s tyroxínom.

Literatúra

- BAUDACH, M. — SCHREIBER, W.: Die Beeinflussung des Histaminspiegels von Kaninchenblut durch UV-Bestrahlung der Bauchhaut. Strahlentherapie, 136, 1968, s. 375-379.
- BLAHOŠ, J. — BLEHA, O.: Endokrinologie. Praha, Avicenum 1979.
- BROUČEK, J. — KOVALČÍK, J. — BRESTENSKÝ, V.: Vplyv umelého ultrafialového svetla na prírastky hmotnosti, spotrebu živín a zdravotný stav teliat. Živoč. Vyr., 32, 1987, č. 8, s. 701-710.
- GUREJEV, L. M.: In: ROSIN, J. A. — SOKOLOV, M. W.: Ispolzovanie ultrafioletovogo izlučeniya. Moskva, Akad. Nauk SSSR 1963, s. 64-67.
- HIDIROGLOU, M. — PROULX, J. G.: Effect on calf growth and blood composition of prepartum injection of vitamin D₃ or 25-hydroxyvitamin D₃ to beef heifers. Can. J. anim. Sci., 63, 1983, s. 251-254.

HIDIROGLOU, M. — WILLIAMS, C. J. — PROULX, J. G.: Plasma vitamin D₃ response in cattle and sheep exposed to ultraviolet radiation. *Int. J. Vitam. Nutr. Res.*, 55, 1985, s. 41-46.

KRAKOSJEVIČ, I. D. — TJUREV, G. V. — ALEKSEJEV, J. V.: Vlijanje iskusstven-nogo ultrafioletovogo oblučenija na rost i zdorovje teljat rannego vozrasta. Sanitarija i gigijena soderžanija životnyh. Moskva, Kolos 1981, s. 215-220.

MELJUKOV, A. N.: Der Einfluss ultravioletter Bestrahlung auf den physiologischen Zustand und die Leistung der Nutztiere. *Int. Z. Landwirtschaft.*, 2, 1968, s. 224-226.

PLJAŠČENKO, S.: Ultrafioletovoje oblučenije teljat rannego vozrasta. Moloč. mjas. Skotov. (Moskva), 1983, č. 9, s. 39-40.

SCHREIBER, H.: Theoretische Gesichtspunkte der UV-Wirkung auf Organismen. *Strahlentherapie*, 110, 1959, s. 170-173.

WELS, P.: Lichtwirkungen in pharmakologischen und physiologischen Zusammenhängen. *Strahlentherapie*, 90, 1953, s. 325-328.

Došlo dňa 16. 1. 1987

БРОУЧЕК, Я. — КОВАЛЧИК, К. — ГАЙДОШИК, Д. — БРЕСТЕНСКИЙ, В. (Научно-исследовательский институт животноводства, Нитра; Государственный ветеринарный институт, Нитра): Влияние искусственного ультрафиолетового освещения на биохимические показатели телят. *Veter. Med. (Praha)*, 32, 1987 (10) : 603-610.

Нами изучались изменения биохимических показателей, которые происходят в сыворотке крови после действия оптимальных доз ультрафиолетового облучения. Облучение проводилось два раза в сутки в трех 8, 9 и 10-дневных интервалах. При первом эксперименте применялись суточные дозы 90, 130 и 180 мЕР. ч/м², при втором эксперименте 120, 180 и 240 мЕР. ч/м². При этом было установлено, что под действием облучения в течение отдельных периодов повышалась общая протеинемия, между опытными и контрольными группами животных были существенные различия. После облучения ультрафиолетовым светом повысилась активность тиреоидизма, концентрация тироксина в конце облучения у опытных групп была достоверно и почти высокодостоверно выше. Самые большие различия были установлены в первом эксперименте (15 нмоль/л — 21,4 нмоль/л). Нами не были установлены изменения при оценке активности щелочной фосфатазы, трийодтиронина, натрия, калия, кальция и соотношения натрия и калия.

облучение ультрафиолетовым светом; общие белки; тироксин; трийодтиронин; щелочная фосфатаза; натрий; калий; кальций; соотношение натрий : калий

BROUČEK, J. — KOVALČIK, K. — GAJDOŠÍK, D. — BRESTENSKÝ, V. (Research Institute of Animal Production, Nitra; State Veterinary Institute, Nitra): *The Effect of Artificial Ultraviolet Light on the Biochemical Parameters of Calves*. *Veter. Med. (Praha)*, 32, 1987 (10) : 603-610.

Changes in the biochemical parameters of the blood serum of calves were studied after exposure to optimum doses of ultraviolet radiation. The calves were exposed to UV-light twice daily in three periods: 8, 9 and 10 days. Daily doses of 90, 130 and 180 mEr . h . m⁻² were used in the first experiment, 120, 180 and 240 mEr . h . m⁻² in the second experiment. As found, exposure to radiation in the individual periods increased total proteinaemia, the differences between the experimental and control groups being significant. Exposure to ultraviolet light induced an increase in the activity of the thyroid gland; at the end of the periods of UV-radiation the concentration of thyroxine in the experimental groups was significantly or highly significantly higher. The largest differences were recorded in the first trial (15 nmol per litre to 21.4 nmol per litre). No changes were detected by the evaluation of the activities of alkaline phosphatase, triiodothyronine, sodium, potassium and calcium and in the sodium : potassium ratio.

exposure to ultra-violet light; total proteins; thyroxine; triiodothyronine; alkaline phosphatase; sodium; potassium; calcium; sodium-to-potassium ratio

BROUČEK, J. — KOVALČÍK, K. — GAJDOŠÍK, D. — BRESTENSKÝ, V. (Forschungsinstitut für Tierproduktion, Nitra; Staatliches Veterinärinstitut, Nitra): *Einfluß des künstlichen ultravioletten Lichtes auf biochemische Merkmale der Kälber*. Veter. Med. (Praha), 32, 1987 (10) : 603-610.

Wir untersuchten die Veränderungen aller biochemischen Merkmale die im Blutserum der Kälber infolge der Wirkung der optimalen Gaben der Ultraviolettstrahlung eintreten. Die Bestrahlung wurde 2X täglich in einem Intervall von 8, 9 und 10 Tagen durchgeführt. Im ersten Experiment wurden 90, 130 und 180 mEr . h . m⁻², im zweiten dann 120, 180 und 240 mEr . h . m⁻² angewendet. Wir stellten fest, daß infolge der Strahlung während der einzelnen Perioden die Gesamtproteinämie stieg; die Unterschiede zwischen der Versuchs- und Kontrollgruppen unbedeutend waren. Durch die ultraviolette Bestrahlung stieg die Aktivität der Schilddrüse, die Konzentration von Thyroxin war am Ende der Bestrahlung bei den Versuchsgruppen wesentlich höher. Die größten Unterschiede konnten wir im ersten Versuch (15 nmol . l⁻¹ bis 21,4 nmol . l⁻¹) verzeichnen. Wir konnten hingegen keine Veränderungen bei der Bewertung der Aktivität der alkalischen Phosphatase, des Trijodthyronins, des Natriums, des Kaliums, des Kalziums und des Natrium : Kalium-Verhältnisses beobachten.

Bestrahlung mit ultraviolettem Licht; Gesamtproteine; Thyroxin; Trijodthyronin; alkalische Phosphatase; Natrium; Kalium; Kalzium; Natrium : Kalium-Verhältnis

Adresy autorov:

Ing. Jan Brouček, CSc., ing. Kornel Kovalčík, DrSc., ing. Vojtech Brestenský, CSc., Výskumný ústav živočíšnej výroby, Hlohovská 2, 949 92 Nitra
MVDr. Dušan Gajdošík, Štátny veterinárny ústav, ul. B. S. Timravy 2, 949 01 Nitra

VPLYV HORMONÁLNEJ STIMULÁCIE NA FOLIKULÁRNE POPULÁCIE OVÁRIÍ BAHNÍC V ESTRICKOM A ANESTRICKOM OBDOBÍ

J. Arendarčík, M. Molnárová, A. Staníková

ARENДАРЧИК, J. — MOLNÁROVÁ, M. — STANÍKOVÁ, A. (Vysoká škola veterinárska, Košice): *Vplyv hormonálnej stimulácie na folikulárne populácie ovárií bahníc v estrickom a anestrickom období*. Veter. Med. (Praha), 32, 1987 (10) : 611-617.

129 bahníc plemena slovenské merino po synchronizácii agelínovými hubkami v estrickom a anestrickom období sme stimulovali rôznymi dávkami PMSG, PGF₂alfa, HCG, SG a FSH. V anestrickom období sme zistili, že PMSG v dávkach 750 a 1000 I. U. zvyšuje počet terciárnych folikulov z 12,3 na 17,2 a 18,6 a dávka 1500 I. U. znižuje ich počet z 18,6 na 13,5. PGF₂alfa zvyšuje priemerový počet terciárnych folikulov z 12,3 na 22,2 a po kombinácii so 750 I. U. PMSG sa zvýši ich počet na 29,3. Zvyšovanie dávky PMSG zvyšuje pomer atretických (A) ku neatretickým (N) terciárnym folikulom a počet ovulácií z 2,5 na 4,0. Po synchronizácii Agelínom a po podaní PMSG v dávkach 750 a 1000 I. U. sa počet terciárnych folikulov zvyšuje zo 16,0 na 18,4 a počet ovulácií z 3,1 na 5,7; počet atretických terciárnych folikulov sa nemení. V estrickom období dávka 1000 I. U. PMSG po PGF₂alfa znižuje počet terciárnych folikulov z 18,9 na 14,5, zvyšuje počet ovulácií z 1,6 na 2,6 ako aj počet atretických terciárnych folikulov. Keď sa po PGF₂alfa podá 750 a 1000 I. U. PMSG s vitamínom A, počet terciárnych folikulov sa nemení, počet atretických terciárnych folikulov je najnižší ($A/N = 1,25$ a $0,95$) a počet ovulácií sa zvyšuje z 1,6 na 3,6. Vysoký počet terciárnych folikulov (47) a ovulácií (4,2) vyvolá dávka 1000 I. U. PMSG a 1000 I. U. HCG. Najvyšší počet ovulácií (5,8) so zvýšením terciárnych folikulov, ale s najvyšším indexom atretických terciárnych folikulov ($A/N = 5,75$) sme zistili po FSH.

superovulácia; ovce; atrežia folikulov; hormóny

Superovuláciou zvýšiť počet ovulácií, oocystov, viacpočetných porodov a počet mláďat získaných od najlepších plemien sa bude v krátkom čase vyžadovať nielen u kráv, ale aj u bahníc a kôz. Podľa výsledkov, ku ktorým dospeli Gherardi a Lindsay (1980), poklesla u oviec ovulačná odpoveď ovárií po viacnásobnom podaní PMSG; u kráv, ako uvádzajú Saumande a Chupin (1986), vysoké dávky PMSG znižujú počet ovulácií; odlišné odpovede ovárií oviec (Armstrong a i., 1983) na FSH a PMSG sú následkom rôzneho biologického poločasu PMSG a FSH. Zaujímavé zistenie uviedol Bysskov (1979), že PMSG navodzuje bunky granulózy atretických folikulov, aby fagocytovali mŕtve bunky, čím chráni bunky pred ranou atreziou folikulu. Preto sme sa v práci zamerali na štúdium superovulačného účinku nielen PMSG, ale aj FSH, HCG, PGF₂alfa a SG u bahníc v estrickom a anestrickom období.

I. Zmeny priemerných počtov terciárnych folikulov a pomeru atretických ku neatre-tickým (A/N) terciárnym folikulom oviec so synchronizovanými a stimulovanými ováriami v anestríckom období — Changes in the average numbers of tertiary follicles and in the ratio of atretic to non-atretic (A/N) tertiary follicles of ewes with the synchronized and stimulated ovaries in the anoestral period

n	PGF ₂ α μg	Agelín mg	PMSG I.U.	Terciárne folikuly	A/N	Ovulácia
11	—	—	—	12,33	1,85	0,0
9	—	—	750	17,25	2,45	2,25 ± 1,0
9	—	—	1000	18,62	3,31	2,57 ± 1,7
9	—	—	1500	13,50	3,50	4,0 ± 1,2
5	250 + 250	—	—	22,20	1,67	0,0
5	250 + 250	—	750	29,33	2,82	1,0 ± 0,7
7	—	20	—	17,90	2,21	0,0
8	—	20	750	16,00	2,00	3,1 ± 2,2
8	—	20	1000	18,44	2,07	5,7 ± 4,4

MATERIÁL A METÓDY

Do pokusu sme zaradili 129 bahníc plemena slovenské merino, dvojročných až štvorročných, cca 40 kg ž. h., v anestríckom (máj—jún) a estríckom (septem-ber—november) období. Počty zvierat kontrolných a pokusných (n) sú uvedené v tab. I a II. Synchronizáciu ruje sme vykonali podávaním PGF₂alfa v prvom a jedenástom dni, alebo intravaginálnymi hubkami impregnovanými 20 mg chlor-

II. Zmeny priemerných počtov terciárnych folikulov a pomeru atretických ku neatre-tickým (A/N) terciárnym folikulom oviec so synchronizovanými a stimulovanými ováriami v estríckom období — Changes in the average numbers of tertiary follicles and in the ratio of atretic to non-atretic (A/N) tertiary follicles of ewes with the synchronized and stimulated ovaries in the oestral period

n	PGF ₂ α μg	PMSG I.U.	Vitamin A I.U.	Terciárne folikuly	A/N	Ovulácia
5	125 + 125	—	—	18,87	1,29	1,6 ± 0,5
5	125 + 125	1000	—	14,50	1,83	2,6 ± 1,9
5	125 + 125	750	50 000	13,50	1,25	2,0 ± 0,0
5	125 ± 125	1000	50 000	14,33	0,95	3,6 ± 3,1

n	Agelín mg	PMSG I.U.	SG I.U.	HCG I.U.	PGF ₂ α μg	FSH I.U.	Terciárne folikuly	A/N	Ovulácia
5	20	—	—	—	—	—	11,5 ± 3,1	3,6	0,8 ± 0,8
4	20	1000	—	—	—	—	41,0 ± 15,0	3,5	2,5 ± 1,6
4	20	—	1000	—	—	—	—	—	2,2 ± 1,1
4	20	1000	—	1000	—	—	47,0 ± 8,5	2,9	4,2 ± 2,3
4	20	1000	—	—	125 + 125	—	36,3 ± 10,8	3,5	3,3 ± 2,3
7	20	—	—	—	—	450	27,3 ± 5,5	5,75	5,8 ± 6,4

superlutínu. Instilované bunky sme vybrali po 11 dňoch a bahnice stimulovali hormonálne PMSG — Antex Leo, Denmark; PGF₂alfa — Oestrophon, Spofa; vitamín A — axerophthol, Spofa; FSH — Folistiman, NDR; HCG — Praedyn, Spofa; SG — sérový gonadotropín, Ivanovice na Hané; Agelín — intravaginálne hubky, Galena; sledovali sme ich vplyv na folikulárne populácie ovárií v estrickom a anestrickom období a porovnávali s počtami ovulácií.

VÝSLEDKY

V anestrickom období (máj — jún) bahnice stimulované PMSG (tab. I) reagovali na podanie 750 I. U. zvýšením priemerného počtu terciárnych folikulov z 12,3 na 17,25, po 1000 I. U. zvýšením na 18,62 a po 1500 I. U. poklesom na 13,5. Po synchronizácii PGF₂alfa (2 × 250 µg) sme pozorovali zvýšenie priemerného počtu terciárnych folikulov na 22,2 (oproti kontrolným 12,3) a po podaní dávok PGF₂alfa (2 × 250 µg) v kombinácii so 750 I. U. PMSG sa toto zvýšenie zvýraznilo (29,33). Po 11-dňovej instilácii agelínových buniek sme zistili zvýšený priemerný počet terciárnych folikulov (17,19), ktorý v kombinácii so 750 I. U. PMSG poklesol na 16,0, ale s 1000 I. U. PMSG sa mierne zvýšil na 18,44.

Pri zisťovaní pomeru atretických a neatretických (A/N) terciárnych folikulov v anestri (tab. I) sme pozorovali jeho zvyšovanie so zvyšujúcou sa dávkou PMSG od A/N = 1,85 (kontrola) na A/N = 2,45 (po 75 I. U. PMSG) cez A/N = 3,31 (po 1000 I. U. PMSG) až A/N = 3,50 (po 1500 I. U. PMSG). Podanie PGF₂alfa (2 × 250 µg) v prvom a jedenástom dni mierne znížilo A/N = 1,67 a v kombinácii so 750 I. U. PMSG A/N = 2,82. Pri synchronizácii Agelínom sme zvyšovanie A/N so zvyšujúcou sa dávkou PMSG nezistili (A/N = 2,21; po 750 I. U. PMSG A/N = 2,0 a po 1000 I. U. PMSG A/N = 2,07). Pri poslednom postupe sme zistili aj najvyššie priemerné počty ovulácií. Keď po podaní len 750 I. U. PMSG sme zistili $2,25 \pm 1,0$ ovulácií, v kombinácii tejto dávky PMSG s PGF₂alfa (2 × 250 µg) to bolo $1,0 \pm 0,7$ a v kombinácii s Agelínom $3,1 \pm 2,2$ ovulácií. Pri podaní len PMSG v dávke 1000 I. U. sme zistili $2,57 \pm 1,7$ ovulácií, v kombinácii tejto dávky s Agelínom $5,7 \pm 4,4$ ovulácií, čo bolo viac ako po podaní len 1500 I. U. PMSG, pri ktorom sme zistili $4,0 \pm 1,2$ ovulácií.

V estrickom období (tab. II) stimulácia 1000 I. U. PMSG, ktorá nasledovala po podaní 2 × 125 µg PGF₂alfa, na rozdiel hodnôt z anestrického obdobia vyvolala pokles počtu terciárnych folikulov z 18,8 na 14,5. Dávka 50 000 I. U. vitamínu A v kombinácii so 750 a 1000 I. U. PMSG po PGF₂alfa (2 × 125 µg) nezmenila priemerné počty terciárnych folikulov (z 13,5 na 14,33), ale pozorovali sme jej priaznivý účinok na pomer A/N. Dávka 1000 I. U. PMSG po PGF₂alfa (2 × 125 µg) v estrickom období zvýšila A/N = 1,83 oproti A/N = 1,29 (kontrola). Dávka vitamínu A spolu so 750 a 1000 I. U. PMSG po PGF₂alfa (2 × 125 µg) dokonca znížovala A/N so zvyšovanou dávkou PMSG (A/N 1,25 a A/N 0,95). Priaznivý účinok vitamínu A podávaného spolu s PGF₂alfa a PMSG v estrickom období sa prejavil aj na zvyšujúcich sa priemerných počtoch ovulácií. Stimulácia len 1000 I. U. PMSG sa prejavila $2,6 \pm 1,9$ ovulácií oproti $1,6 \pm 0,5$ ovulácií po samotnom PGF₂alfa (2 × 125 µg). Dávka vitamínu A po podaní PGF₂alfa spolu so 750 I. U. a 1000 I. U. PMSG sa prejavila $2,0 \pm 0,5$ a $3,6 \pm 3,1$ ovulácií.

Po synchronizácii Agelínom v estrickom období (20 mg na hubku) a po stimulácii PMSG, SG, HCG, PGF₂alfa a FSH podaných jednotlivo alebo v kombinácii sme zistili najvyšší stimulačný účinok po podaní 450 I. U. FSH, ktorý sa prejavil $5,8 \pm 6,4$ ovulácií. Nižší, ale vyrovnanejší účinok mala dávka 1000 I. U. PMSG v kombinácii s 1000 I. U. HCG; prejavila sa $4,2 \pm 2,3$ ovulácií oproti $2,5 \pm 1,6$ ovulácií po podaní len 1000 I. U. PMSG. Tiež stimulácia kombináciou 1000 I. U. PMSG + PGF₂alfa ($2 \times 125 \mu\text{g}$) mala vyšší účinok ako PMSG samotné ($3,3 \pm 2,3$ ovulácií). Ovce synchronizované Agelínom a nestimulované v estrickom období vykazovali $0,8 \pm 0,8$ ovulácií a stimulácia SG (1000 I. U.) mala najnižší účinok ($2,2 \pm 1,1$).

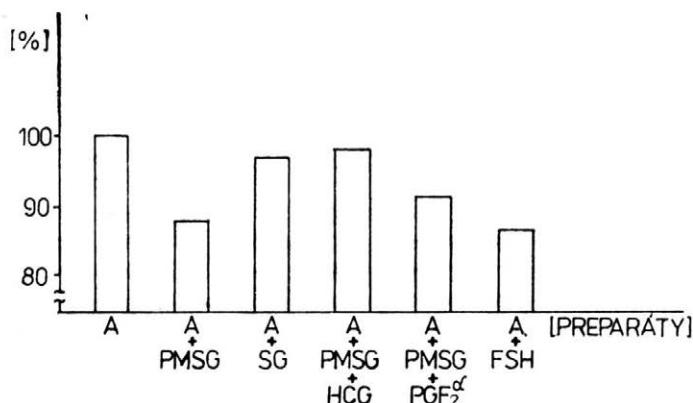
Priemerné počty terciárnych folikulov sa po synchronizácii Agelínom a po stimuláciách zvyšovali, najviac po kombinácii 1000 I. U. PMSG + 1000 I. U. HCG na $47,0 \pm 8,5$ s A/N = 2,9, po dávke 1000 I. U. PMSG na $41,0 \pm 15,0$ s A/N = 3,5. Dávka PGF₂alfa ($2 \times 125 \mu\text{g}$) spolu s 1000 I. U. PMSG vyvolala zvýšenie počtu terciárnych folikulov na $36,3 \pm 10,8$ s A/N = 3,5. Dávka 450 I. U. FSH zvýšila počet na $27,3 \pm 5,5$ s A/N = 5,75 oproti $11,5 \pm 3,1$ s A/N = 3,6 u oviec synchronizovaných len Agelínom.

Percentuálne zastúpenie jednotlivých populácií folikulov na histologických rezoch ovárií oviec synchronizovaných v estrickom období Agelínom a stimulovaných rôznymi hormonálnymi prípravkami sa líšili v jednotlivých ováriách podľa druhu použitých prípravkov a podľa počtu ovulácií.

Priemerné zastúpenie primárnych folikulov do 50 % ($\bar{x} = 42,8 \pm 6,6$) sme zistili vo vaječníkoch, ktoré neovulovali. Vaječníky s dvoma a viacerými ovuláciami mali viac ako 60% ($\bar{x} = 69,5 \pm 8,3$) zastúpenie primárnych folikulov (po stimulácii PGF₂alfa po troch ovuláciách priemerne 80,8%, po štyroch ovuláciách 82,5%).

Priemerné zastúpenie sekundárnych folikulov bolo najvyššie v ováriách, ktoré neovulovali ($28,5 \pm 0,9$ %). Ovária s ovuláciami mali v priemere $16,9 \pm 0,3$ sekundárnych folikulov. Najnižšie hodnoty mali ovária po stimulácii PGF₂alfa (9,24 % tri ovulácie a 9,52 % štyri ovulácie), najvyššie po podaní PMSG (27,9 % pri dvoch ovuláciách a 23,1 % po troch ovuláciách).

Priemerné zastúpenie terciárnych folikulov bolo najvyššie v neovulovaných ováriách ($11,98 \pm 3,1$ %), najnižšie v ováriách s ovuláciami ($6,13 \pm 1,7$ %). Dávka stimulačných hormónov znižovala zastúpenie terciárnych folikulov na rezoch.



1. Zmeny objemu vaječníkov na gram hmotnosti oviec so synchronizovanými a stimulovanými vaječníkmi v estrickom období — Changes in the volume per 1 gram of weight of ewes with synchronized and stimulated ovaries in the oestral period

Pri štúdiu vplyvu podávaných hormónov na objem a hmotnosť ovárií sme zistili zníženie objemu na gram hmotnosti ($V \cdot g^{-1}$) u všetkých stimulovaných bahníc (obr. 1). Najvýraznejšie sa prejavila dávka FSH (450 I. U.), pri ktorej hodnota $V \cdot g^{-1}$ bola 84,1 %. U všetkých ostatných skupín stimulovaných PMSG, SG, HCG, PGF₂alfa sa hodnoty $V \cdot g^{-1}$ pohybovali od 85,7 % do 97,6 %. Tieto hodnoty neboli v priamej korelácii s priemerným počtom ovulácií v skupine. Nepriamo korelovali s pomerom atretických ku neatretickým folikulom (A/N). Skupina oviec stimulovaná FSH (450 I. U.) vykázala $A/N = 2,9$ a $V \cdot g^{-1} = 97,6$ %.

DISKUSIA

Cieľom našej práce bolo zistiť účinok používaných stimulačných hormónov PMSG, FSH a PGF₂alfa, ako aj Agelínu na počet ovulácií a terciárnych folikulov a na výskyt atrézie folikulov. Zistili sme, že počet ovulácií po PMSG v porovnaní s PGF₂alfa, FSH a HCG je najnižší, podobne aj počet terciárnych folikulov v estrickom období. V anestrickom období sa počet ovulácií zvyšuje zvyšujúcou sa dávkou PMSG. Najvyšší počet ovulácií sme zistili po 450 I. U. FSH v estrickom období. Podobné výsledky uvádzajú Elsdén a i. (1978) s tým, že po FSH sa zvýšil počet ovulácií, transferovateľných embryí a gravidných recipientiek, naproti tomu Schams a i. (1979) uvádzajú, že rozdiely medzi FSH a PMSG odozvou nezistili. Gherardi a Lindsay (1980) uviedli, že po podaní PMSG ovciam viackrát ako raz poklesne ovulačná odpoveď. Predpokladalo sa, že to spôsobujú znížené zásoby rastúcich folikulov alebo vytvorenie protilátok. U kráv sa zistilo (Saumande a Chupin, 1986), že vysoké dávky PMSG znižujú počet ovulácií a v ovulačnom procese sa prejavuje akýsi zmätok, vyvolaný pravdepodobne tým, že sa nevyplavuje preovulačný pík LH, ktorý spravidla vzniká následkom vysokej krátkej spätnej väzby PMSG na sekréciu gonadotropínov. Rozdielnu odpoveď na stimuláciu FSH a PMSG u kôz zistili Armstrong a i. (1983a) s tým, že odlišné odpovede ovárií majú byť pripísané rozdielnej biologickejmu polčasú každého podaného preparátu (krátkemu u FSH a dlhému u PMSG). Tí istí autori v ďalšej práci (Armstrong a i., 1983b) uvádzajú, že frakcionované dávky FSH vyvolali u kôz rovnaký počet ovulácií ako jedna dávka PMSG.

Pri podávaní PMSG + HCG a PGF₂alfa sme v našich pokusoch zistili vyšší počet ovulácií a terciárnych folikulov u oviec v estrickom období ako po podaní len PMSG. Podobne Kranzfelder a i. (1984) uvádzajú, že u králikov po stimulácii HCG prvá skupina terciárnych rastúcich folikulov rýchlo rastie. Lerner a i. (1984) zistili, že u potkanov dávka PGF₂alfa inhibuje superovuláciu tým, že blokuje účinok PMSG na ovuláciu.

Literatúra

- ARMSTRONG, D. T. — PFITZNER, A. P. — WARNES, G. M. — RALPH, M. M. — SEAMARK, R. F.: Endocrine responses of goats after induction of superovulation with PMSG and FSH. *J. Reprod. Fertil.*, 67, 1983a, s. 395-401.
ARMSTRONG, D. T. — PFITZNER, A. P. — WARNES, G. M. — SEAMARK, R. T.:

Superovulation treatments and embryo transfer in angora goats. J. Reprod. Fertil., 67, 1983b, s. 403-410.

BYSKOV, A. G.: Atresia. In: Ovarian and follicular development and function. Eds. A. R. Midgley and W. A. Sadler. New York, Raven Press 1979, s. 41-57.

GHERARDI, P. B. — LINDSAY, D. R.: The effect of season on the ovulatory response of Merino ewes to serum from pregnant mares. J. Reprod. Fertil., 60, 1980, s. 425-429.

KRANZFELDER, D. — KORR, H. — MESTWERDT, W. — MAURER-SCHULZE, B.: Follicle growth in the ovary of the rabbit after ovulation inducing application of human chorionic gonadotropin. Cell. Tiss. Res., 238, 1984, s. 611-620.

LERNER, J. L. — OLDANI, CLAUDIA — VITALL, ADRIANA: Inhibition of superovulation and alternation of ova transportation in hamsters by prostaglandin and DL-204-IT, an anti-fertility agent. Prostaglandins, 6, 1981, s. 369-374.

SAUMANDE, J. — CHUPIN, D.: Induction of superovulation in cycle heifers. The inhibitory effect of large doses of PMSG. Theriogenology, 25, 1986, č. 2, s. 233-247.

SCHAMS, D. — MENZER, C. — SCHALLENBERGER, E. — HOFFMANN, B. — PROKOPP, A. — HAHN, B. — HAHN, R.: Superovulation beim Rind. Hormonprofil bei Stimulation mit Serum-Gonadotropin (PMSG) bzw. hypophysären FSH. Zuchthygiene, 14, 1979, s. 11-25.

Došlo dňa 10. 2. 1987

АРЕНДАРЧИК, Й. — МОЛНАРОВА, М. — СТАНИКОВА, А. (Институт ветеринарии, Кошице): Влияние гормональной стимуляции на фолликулярные популяции яичников овцематок в эстральный и анестральный период. Veter. Med. (Praha), 32, 1987 (10): 611-617.

129 овцематок словацкой мериносовой породы стимулировали после синхронизации агелиновыми губками в эстральный и анестральный периоды разными дозами PMSG, PGF₂ альфа, HCG и FSH. В анестральный период PMSG в дозах 750 и 1000 I. И. увеличивает численность терциарных фолликулов с 12,3 до 17,2 и 18,6; доза 1500 I. И. понижает их с 18,6 до 13,5. PGF₂ альфа же увеличивает их с 12,3 до 22,2, а после комбинации с 750 I. И. PMSG — до 29,3. Рост этой дозы ведет к расширению соотношения между атретическими (CA) и неатретическими (N) терциарными фолликулами, а количество овуляций возрастает с 2,5 до 4,0. После синхронизации Агелином и дачи PMSG в 750 и 1000 I. И. количество терциарных фолликулов растет с 16,0 до 18,4, а овуляций — с 3,1 до 5,7; количество же атретических не меняется. В эстральный период 1000 I. И. PMSG после PGF₂ альфа количество терциарных фолликулов сокращается с 18,9 до 14,5, овуляций растет с 1,6 до 2,6, как и атретических терциарных фолликулов. Если после PGF₂ альфа вводили 750 и 1000 I. И. PMSG с витамином А, то количество терциарных фолликулов не менялось, атретических терциарных было самым низким (A/N = 1,25 и 0,95), а овуляций росло с 1,6 до 3,6. Большое количество терциарных фолликулов (47) и овуляций (4,2) вызывается дозами 1000 I. И. PMSG и 1000 I. И. HCG. Наибольший рост количества овуляций (5,8), терциарных фолликулов и индекса атретических терциарных фолликулов (A/N = 5,75) отмечен после дачи FSH.

супероуляция; овцы; атрезия фолликулов; гормоны

ARENDAŘČIK, J. — MOLNÁROVÁ, M. — STANÍKOVÁ, A. (University of Veterinary Medicine, Košice): The Effect of Hormonal Stimulation on the Follicular Populations of Ewe Ovaries in the Oestral and Anoestral Period. Veter. Med. (Praha), 32, 1987 (10): 611-617.

In the oestral and anoestral periods, 129 ewes of the Slovak Merino breed were treated with different doses of the stimulants PMSG, PGF₂ alpha, HCG, SG and FSH after synchronization by means of Ageline tampons. In the anoestral period, PMSG doses of 750 and 1000 i. u. were found to increase the number of tertiary follicles from 12.3 to 17.2 and 18.6, whereas the dose of 1500 i. u. was found to reduce this number from 18.6 to 13.5. PGF₂ alpha increases the average number of tertiary follicles from 12.3 to 22.2 and when it is combined with 750 i. u. PMSG, the increase is to 29.3 tertiary follicles. At higher PMSG doses the ratio of atretic (A) to non-atretic (N) tertiary follicles rose and the number of ovulations increased

from 2.5 to 4.0. After synchronization with Ageline and administration of PMSG at the doses of 750 and 1000 i. u., the number of tertiary follicles increased from 16.0 to 18.4 and the number of ovulations from 3.1 to 5.7; the number of atretic tertiary follicles showed no change. In the oestral period, the dose of 1000 i. u. PMSG administered after PGF₂ alpha reduced the number of tertiary follicles from 18.9 to 14.5 and increased the number of ovulation from 1.6 to 2.6; an increase was also recorded in the number of atretic tertiary follicles. When PGF₂ alpha administration is followed by the administration of 750 and 1000 i. u. PMSG with vitamin A, the number of tertiary follicles remains unchanged, the number of atretic tertiary follicles is the lowest ($A/N = 1.25$ and 0.95), and the number of ovulations increases from 1.6 to 3.6. A high number of tertiary follicles (47) and ovulations (4.2) is induced by the dose of 1000 i. u. PMSG and 1000 i. u. HCG. The highest number of ovulations (5.8) with an increased number of tertiary follicles but also with the highest index of atretic tertiary follicles ($A/N = 5.75$) was recorded after FSH administration.

superovulation; sheep; follicular atresia; hormones

ARENDARČIK, J. — MOLNÁROVÁ, M. — STANÍKOVÁ, A. (Veterinärmedizinische Hochschule, Košice): *Einfluß der hormonalen Stimulierung auf die Follikelpopulationen der Mutterschaf ovarien im Oestrus und Anoestrus*. Veter. Med. (Praha), 32, 1987 (10) : 611-617.

Wir stimulierten 129 slowakische Merinomutterschafe nach der Synchronisierung mit Agelinschwämmchen im Oestrus und Anoestrus mit verschiedenen Gaben von PMSG, PGF₂Alpha, HCG, SG und FSH. Im Anoestrus stellten wir fest, daß PMSG-Gaben von 750 und 1000 I. E. die Zahl der tertiären Follikel von 12,3 auf 17,2 und 18,6 steigern und daß eine Gabe von 1500 I. E. ihre Zahl von 18,6 auf 13,5 herabsetzt. Eine PGF₂Alpha-Gabe hebt die durchschnittliche Zahl der tertiären Follikel von 12,3 auf 22,2 und nach der Kombination mit 750 I. E. PMSG stieg ihre Zahl auf 29,3 an. Die Steigerung der PMSG-Gabe erweitert auch das Verhältnis von atretischen (A) zu nichtatretischen (N) tertiären Follikeln und hebt die Zahl von Ovulationen von 2,5 auf 4,0. Nach der Synchronisierung durch Agelin und nach der Verabreichung von 750 und 1000 I. E. und die Zahl von Ovulationen von 3,1 auf 5,7 an; die Zahl von atretischen tertiären Follikeln bleibt unverändert. Im Oestrus setzt eine Gabe von 1000 I. E. PMSG nach PGF₂Alpha die Zahl von tertiären Follikeln von 18,9 auf 14,5 herab und steigert die Zahl von Ovulationen von 1,6 auf 2,6 und die Zahl von atretischen tertiären Follikeln. Falls nach der Verabreichung von PGF₂Alpha 750 und 1000 I. E. PMSG mit Vitamin A verabreicht werden, bleibt die Zahl von tertiären Follikeln unverändert, die Zahl von atretischen tertiären Follikeln liegt am niedrigsten ($A/N = 1,25$ und $0,95$) und die Zahl von Ovulationen steigt von 1,6 auf 3,6 an. Gaben von 1000 I. E. PMSG und von 1000 I. E. HCG rufen eine hohe Zahl von tertiären Follikeln (47) und von Ovulationen (4,2) hervor. Die höchste Zahl von Ovulationen (5,8) mit einer Steigerung der Anzahl von tertiären Follikeln und mit dem höchsten Index der atretischen tertiären Follikel ($A/N = 5,75$) konnten wir nach der Verabreichung von FSH feststellen.

Superovulation; Schafe; Follikel-Atresie; Hormone

Adresa autorov:

Prof. MVDr. Jozef Arendarčík, DrSc., ing. Marie Molnárová, CSc., RNDr. Angela Staníková, CSc., Vysoká škola veterinárská, Komenského 73, 041 81 Košice

Upozorňujeme čtenáře, že v čísle 11 časopisu

VETERINÁRNÍ MEDICÍNA

mají být uveřejněny články:

- L. Holý a kol.: Výsledky aplikace nechirurgického transferu embryí u skotu v chovatelské praxi
- J. Rubeš, M. Žák, Z. Hořínová: Metoda pro cytogenetické vyšetření raných embryí skotu
- M. Molnárová, J. Arendarčík: Zmeny trypsín inhibičných aktivít krvnej plazmy a cervikálneho hlienu po podaní PGF₂alfa a PMSG v anestrii
- O. Matouch, J. Jaroš, P. Pohl: Přežívání viru vztekliny ve vnějších podmínkách
- J. Ruprich, A. Piskač: Příprava mykotoxinu ochratoxin A k výzkumným a diagnostickým účelům
- M. Muška: Sezónní dynamika synbovilních much (*Diptera: Muscidae*) během pastevního období v lokalitě Jarov
- T. Žuffa, P. Krobot: Dôkaz protilátok proti vírusom infekčnej laryngotracheitídy a parainfluenzy 2 u psov v chovoch na území ČSSR
- D. Zajíček: Tlumení fasciolózy u skotu v ČSR v letech 1970 až 1985

VPLYV TECHNOLOGICKÉHO PROCESU NA OBSAH REZÍDUIŤ CHLÓROVANÝCH PESTICÍDOV V KONZERVOVANÝCH POTRAVINÁCH

J. Garčár, J. Hrušovský, M. Šmirják

GARČÁR, J. — HRUŠOVSKÝ, J. — ŠMIRJÁK, M. (Vojenský veterinárny doškoľovací ústav, Košice): *Vplyv technologického procesu na obsah rezíduí chlórovaných pesticídov v konzervovaných potravinách*. Veter. Med. (Praha), 32, 1987 (10) : 619-626.

Sledovali sme hladiny vybraných rezíduí pesticídov zo skupiny chlórovaných uhľovodíkov — HCB (hexachlórbenzén), γ -HCH (gama izomér hexachlórkyklohexanu), pp'DDE [1,1-dichlór-2,2-bis (p-chlórphenyl)-etylén] — v diele, ktoré bolo použité pri výrobe mäsových konzerv a vo finálnych výrobkoch na konci technologického procesu výroby. Rezíduá sme sledovali v mäsových konzervách označených ako Bravčové vo vlastnej šľave, Hovädzie na slanine, Luncheon meat a Pečeňová paštéta, ktoré sa vyrábali v potravinárskom závode. Metódou plynovej chromatografie sme stanovili kvantitatívny obsah chlórovaných uhľovodíkov na začiatku a na konci technologického procesu výroby. Z výsledkov vyplýva, že v priebehu technologického procesu výroby sa priemerné hladiny sledovaných pesticídnych látok znižovali. Zníženie sa u jednotlivých druhov mäsových konzerv pohybovalo v týchto rozmedziach: u HCB od 15,3 do 31,6 %, u γ HCH od 25,2 do 32,3 % a u pp'DDE od 18,8 do 28,7 %.

mäsové konzervy; chlórované uhľovodíky; plynová chromatografia

Problematika cudzorodých látok je v súčasnosti veľmi aktuálna, pretože hrá dôležitú úlohu v potravinovom reťazci. Jej význam exponuje negatívny účinok a dopad hlavne na posledný článok tohto reťazca — človeka, ktorý priamo závisí od stále stúpajúcej intenzifikácie poľnohospodárskej výroby a používania širokej škály pesticídnych a iných cudzorodých látok.

Vzhľadom na výživu ľudskej populácie je významovo dôležitá a závažná otázka obsahu rezíduí pesticídov v základných potravinových článkoch, ich kvalitatívna a kvantitatívna determinácia, možný dopad na človeka v celom jeho komplexe, ako i hľadanie možností eliminácie týchto negatívnych účinkov. V tomto smere sa pozornosť stále venuje chlórovaným uhľovodíkom, ktoré sú známe svojimi kumulatívnymi účinkami a perzistentnými vlastnosťami.

Štúdiom obsahu rezíduí pesticídov v základných článkoch potravinového reťazca sa zaoberali mnohí autori. V práci, ktorú uverejnili Janiček a i. [1978], nájdeme kvalitatívne a kvantitatívne významný a dostatočne rozsiahly súbor poznatkov o rezíduách pesticídnych látok v potravinách. Belovová a Novíkovová [1982] podobne referujú o problematike znečistenia potravín pesticídmi a inými cudzorodými látkami.

Jedným zo základných potravinových článkov, ktorý tvorí značnú časť denného príjmu potravín, je mäso. Jeho konzumáciou môže byť ľudský organizmus v rôznej kvantitatívnej rovine jednorazovo alebo kontinuálne dotovaný rôznymi druhmi pesticídnych látok. Táto problematika tvorí obsahovú náplň práce, ktorej autori (Gilka a i., 1980) skúmali produkty živočíšneho pôvodu (mäso, orgány, tukové tkanivo a vajcia) hospodárskych zvierat (býkov, ošípaných a hydiny) na obsah cudzorodých látok. Podobným smerom orientovali svoju prácu i Breyl a Krédli (1974), ktorí sledovali hladiny niektorých chlórovaných uhľovodíkov (lindan, DDT, DDE, endrin) v syroch, šunke, tukovom tkanive prasiat a vajciach, pričom konštatovali, že najvyššie množstvo rezíduí sa zistilo v tukovom tkanive prasiat. Mikulík a i. (1981) referujú o výsledkoch sledovania hladín rezíduí chlórovaných uhľovodíkov v bravčovej masti. V dvojročnom časovom odstupe zistili, že hodnoty rezíduí ani v jednom prípade nedosiahli predpismi povolené praktické reziduálne limity. Práce niektorých ďalších autorov (Bartoníček, 1981; Mikulík a Vávrová, 1983; Cvak a i., 1985) sú podobne zamerané.

Údaje o rezíduách pesticídov na báze chlórovaných uhľovodíkov v konzervovaných potravinách sú sporadické a v prevažnej miere sa týkajú konzervovaných potravín typu detskej výživy, prípadne surovín používaných pri ich výrobe alebo pri výrobe sterilizovaného ovocia a zeleniny (Rašeta a i., 1978; Timofejeva a i., 1978; Lipowska a Kubacki, 1980; Uhnák a i., 1982b).

Zhodnotenie výskytu cudzorodých látok v hotových pokrmoch z veľkoobjemových balení prezentujú vo svojej práci Gajdůšková a i. (1983), pričom konštatovali, že všetky vyšetrované vzorky vyhovovali legislatívne stanoveným toleranciám pre chlórované uhľovodíky.

V poslednom období sa čoraz častejšie objavujú v prácach našich i zahraničných autorov výsledky experimentálneho sledovania vplyvu rôznych spôsobov kulinárskej úpravy a technologického spracovania na hladiny rezíduí chlórovaných uhľovodíkov. Tieto práce sa týkajú sledovania v mäse bravčovom a hovädzom, u konzervovaného mäsa, v mäse hydiny, v rastlinných olejoch a pod. (Liska a Stadelman, 1969; Šumkova a i., 1976; Lane a i., 1978; Uhnák a i., 1980, 1982a; Žulenko, 1982).

Cieľom našej práce bolo získať poznatky o hladinách vybraných druhov rezíduí chlórovaných uhľovodíkov v diele, ktoré bolo použité pri výrobe mäsových konzerv, a preveriť vplyv technologického procesu výroby na ich obsah vo finálnych výrobkoch.

MATERIÁL A METÓDY

Experimentálne práce spojené s výrobou mäsových konzerv sa realizovali v potravinárskom závode, ktorý vyrába mäsové konzervy. Pre výrobu mäsových konzerv typu bravčové vo vlastnej štave, hovädzie na slanine, luncheon meat a pečňová paštéta sme vybrali mäso bravčové a hovädzie, prídavné suroviny a pomocné látky v druhovom a hmotnostnom pomere podľa platných THN. Pri dodržaní zásady priemernosti sme z diela pripravovaného pre výrobu jednotlivých druhov mäsových konzerv odobrali po desať vzoriek o hmotnosti 100 g na stanovenie rezíduí pesticídov zo skupiny chlórovaných uhľovodíkov [HCB — hexachlórbenzén, γ -HCH — gama izomér hexachlór-cyklohexánu a pp'DDE — 1,1-dichlór-2,2-bis(p-chlórfenyl)-etylén].

V potravinárskom závode sme ďalej vyrobili uvedené druhy mäsových konzerv v zmysle platnej THN a pri dodržaní smerných technologických postupov výroby. Na konci technologického procesu výroby, pred ich dlhodobým skladovaním, sme odoberali po desať vzoriek z každého druhu mäsových konzerv a tie sme analyzovali na obsah uvedených reziduí pesticídov zo skupiny chlórovaných uhľovodíkov.

Analýzu reziduí chlórovaných uhľovodíkov sme robili na plynovom chromatografe PACKARD — BECKER, model 419 s detektorom elektrónového záchytu Ni^{63} , metodickým postupom, ktorý uviedli Hrušovský a i. (1986).

Pre štatistické hodnotenie získaných výsledkov kvantitatívneho stanovenia chlórovaných uhľovodíkov sme použili tieto charakteristiky: aritmetický priemer $\bar{x}$, smerodajná odchýlka s , variačný koeficient v , dolná hranica intervalu spoľahlivosti L_1 a horná hranica intervalu spoľahlivosti L_2 pre hladinu významnosti 0,05 (Eckschlager a i., 1980).

VÝSLEDKY A DISKUSIA

Výsledky kvantitatívneho sledovania reziduí pesticídov zo skupiny chlórovaných uhľovodíkov (HCB, γ -HCB, pp'DDE) v diele používanom na výrobu mäsových konzerv určených na dlhodobé skladovanie (bravčové vo vlastnej šťave, hovädzie na slanine, luncheon meat a pečeňová paštéta) sú uvedené v tab. I.

V diele pre výrobu bravčového vo vlastnej šťave bola determinovaná priemerná hodnota HCB $0,418 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ tuku, kým finálny výrobok — bravčové vo vlastnej šťave — v našich sledovaniach vykazoval v priemere $0,286 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ tuku. Z uvedených priemerných hodnôt je zrejмый pokles obsahu tohto chlórovaného uhľovodíka o $0,132 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ tuku v porovnaní s východiskovou hodnotou v diele, čo predstavuje 31,6 %.

Pri sledovaní γ -HCH v diele pre výrobu toho istého druhu mäsovej konzervy sme zaznamenali jeho priemerný obsah $0,218 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ tuku. V konzervách označených ako Bravčové vo vlastnej šťave sme zistili priemerný obsah uvedeného chlórovaného uhľovodíka $0,163 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ tuku. Rozdiel hladín v diele a vo finálnom výrobku v priemernom vyjadrení predstavuje úbytok $0,045 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ tuku, čo je 21,6 %.

Analýzou reziduí pp'DDE v diele pre výrobu mäsovej konzervy bravčového vo vlastnej šťave sme zistili priemernú hodnotu $0,310 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ tuku. Finálny výrobok obsahoval v priemere $0,221 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ tuku sledovaného chlórovaného uhľovodíka. Z východiskovej a konečnej priemernej hodnoty vyplýva zníženie pp'DDE o $0,089 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ tuku, teda 28,7 %.

Priemerná hodnota $0,449 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ tuku monitorovala obsah HCB v diele použitom pri výrobe mäsovej konzervy Hovädzie na slanine. Pre tento výrobok bola na konci technologického procesu výroby charakteristická priemerná hodnota $0,321 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ tuku. Z porovnania týchto hodnôt je zrejмый kvantitatívny pokles HCB o $0,128 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ tuku, čo predstavuje 28,5 %.

Dielo pre výrobu hovädzieho na slanine vykazovalo pri jednotlivých analýzách priemernú hodnotu $0,230 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ tuku γ -HCH, kým vo finálnom výrobku sme determinovali jeho priemerný obsah $0,172 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ tuku, čo predstavuje rozdiel $0,058 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ tuku, teda 25,2 %.

Pri sledovaní pp'DDE v diele použitom pri výrobe mäsovej konzervy Hovädzie na slanine sme kvantifikovali jeho priemerný obsah hodnotou $0,316 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ tuku. Pri analýze finálnych výrobkov sme zaznamenali priemer $0,244 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ tuku. I v tomto prípade bol v priebehu

I. Reziduá chlórovaných uhľovodíkov ($\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ tuku) v diele použitom pre výrobu mäsových konzerv a vo výrobkoch na konci technologického procesu výroby — Residues of chlorinated carbohydrates ($\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ of fat) in the raw material used for the production of meat tins and in the products at the end of the technological process of production

Výrobok	Ukazovateľ	Dielo			Konzervy		
		HCB	γ -HCH	pp'DDE	HCB	γ -HCH	pp'DDE
Bravčové vo vlastnej šťave	n	10	10	10	10	10	10
	$x_{\min}$	0,397	0,198	0,286	0,263	0,140	0,197
	$\bar{x}$	0,418	0,218	0,310	0,286	0,163	0,221
	$x_{\max}$	0,438	0,244	0,330	0,311	0,196	0,250
	s	0,014	0,015	0,016	0,015	0,019	0,017
	v	3,330	6,720	5,130	5,310	11,570	7,810
	L_1	0,408	0,206	0,298	0,275	0,149	0,209
	L_2	0,428	0,230	0,322	0,297	0,177	0,233
Hovädzie na slanine	n	10	10	10	10	10	10
	$x_{\min}$	0,421	0,213	0,298	0,288	0,150	0,221
	$\bar{x}$	0,449	0,230	0,316	0,321	0,172	0,244
	$x_{\max}$	0,481	0,256	0,333	0,359	0,189	0,271
	s	0,016	0,015	0,010	0,019	0,011	0,016
	v	3,500	6,700	3,030	6,060	6,660	6,410
	L_1	0,437	0,219	0,309	0,307	0,164	0,233
	L_2	0,461	0,241	0,329	0,335	0,180	0,256
Luncheon meat	n	10	10	10	10	10	10
	$x_{\min}$	0,240	0,149	0,209	0,177	0,098	0,166
	$\bar{x}$	0,259	0,173	0,223	0,211	0,117	0,181
	$x_{\max}$	0,297	0,190	0,240	0,240	0,129	0,215
	s	0,019	0,013	0,009	0,020	0,009	0,018
	v	7,340	7,510	3,860	9,390	8,030	9,770
	L_1	0,245	0,164	0,217	0,197	0,111	0,168
	L_2	0,273	0,182	0,229	0,225	0,124	0,194
Pečeňová paštéta	n	10	10	10	10	10	10
	$x_{\min}$	0,197	0,101	0,169	0,168	0,078	0,122
	$\bar{x}$	0,216	0,120	0,176	0,183	0,087	0,131
	$x_{\max}$	0,242	0,133	0,188	0,191	0,098	0,147
	s	0,015	0,009	0,006	0,007	0,005	0,007
	v	6,830	7,730	3,520	3,640	6,080	5,290
	L_1	0,205	0,114	0,172	0,178	0,083	0,126
	L_2	0,227	0,162	0,180	0,188	0,091	0,136

technologického procesu výroby pozorovaný pokles hladiny pp'DDE o $0,072 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ tuku, čo predstavuje 22,7 %.

V diele použitom na výrobu luncheon meat sme evidovali priemerné množstvo HCB $0,259 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ tuku, kým finálny výrobok po ukončení technologického procesu výroby prezentovala priemerná hodnota $0,211 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ tuku. U tohto druhu sme zaznamenali v priebehu technologického procesu výroby zníženie hladiny HCB o $0,048 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ tuku, čo predstavuje 18,5 %.

Pri determinácii γ -HCH v diele použitom pri výrobe luncheon meat sme zistili priemernú hodnotu $0,173 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ tuku, pričom analyzované mäsové konzervy charakterizovalo priemerné množstvo $0,117 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ tuku. Táto hodnota predstavuje v porovnaní s priemernou hodnotou v diele zníženie o $0,065 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ tuku, čo je 32,4 %.

Dielo pre výrobu luncheon meat obsahovalo v priemere $0,223 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ tuku pp'DDE, kým vo finálnom výrobku sme evidovali priemerné množstvo $0,181 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ tuku. Z rozdielu uvedených hodnôt vyplýva pokles o $0,042 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ tuku, čo v hodnotovom vyjadrení predstavuje 18,8 %.

Pokiaľ ide o sledovanie HCB v diele použitom pre výrobu pečeňovej paštéty, stanovili sme u neho priemernú hodnotu $0,216 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ tuku, pričom konečná determinácia tohto chlórovaného uhľovodíka bola charakterizovaná priemerom $0,183 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ tuku. Pokles priemernej hodnoty v priebehu technologického procesu výroby bol prezentovaný hodnotou $0,033 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ tuku, čo je 15,3 %.

Numerické vyjadrenie obsahu γ -HCH v diele pre výrobu pečeňovej paštéty bolo určené priemernou hodnotou $0,120 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ tuku. Finálny výrobok v rámci jednotlivých analýz obsahoval v priemere $0,087 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ tuku, čo predstavuje pokles o $0,033 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ tuku, teda 27,5 %.

Priemer $0,176 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ tuku kvantitatívne monitoroval obsah pp'DDE v diele použitom pre výrobu pečeňovej paštéty. Vo finálnom výrobku sme jednotlivými analýzami zistili priemerný obsah pp'DDE $0,131 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ tuku. Kvantitatívny úbytok sledovaného chlórovaného uhľovodíka predstavoval $0,045 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ tuku, čo je 25,6 %.

Pri hodnotení našich experimentálnych výsledkov sme vychádzali z komplexnej numerickej projekcie zistených hodnôt sledovaných rezíduí chlórovaných uhľovodíkov v technologickom procese výroby mäso-vých konzerv.

Ak máme konfrontovať nami zaznamenané množstvá rezíduí HCB v sledovaných dielach, ktorých podstatnú časť tvorilo mäso bravčové a hovädzie, s hodnotami, ktoré zistili iní autori, môžeme konštatovať, že v našich sledovaniach boli tieto vo všetkých prípadoch nižšie, ako uvádzajú Mikulík a i. (1981), Bartoníček (1981) a Mikulík a Vávrová (1983), ale vyššie, ako ich prezentujú Cvak a i. (1985).

Hodnoty rezíduí γ -HCH, ktoré sme zistili v sledovanom materiáli pre výrobu mäsových konzerv, sú nižšie, ako uvádzajú Mikulík a i. (1981) a Mikulík a Vávrová (1983), avšak vyššie, ako ich vo svojich prácach prezentujú Breyl a Krédli (1974) a Cvak a i. (1985). V súlade so závermi, ku ktorým dospel Bartoníček (1981), sme v našich sledovaniach zistili, že prevládajú koncentrácie HCB nad γ -HCH. Ak berieme do úvahy skutočnosť, že v dielach použitých pri výrobe uvedených mäsových konzerv sa priemerné hodnoty γ -HCH pohybo-

vali od 0,120 do 0,230 mg . kg⁻¹ tuku, tak pri porovnaní s maximálnym reziduálnym limitom stanoveným pre túto látku našimi legislatívnymi predpismi nedosahovali ani jednu štvrtinu povoleného limitu.

Pokiaľ ide o množstvá rezíduí pp'DDE, ktoré sme zistili v diele určenom na výrobu mäsovej konzervy hovädzieho na slanine, boli v dolnej polovici rozsahu, ktorý udáva Bartoníček (1981). V dielach obsahujúcich ako základnú surovinu bravčové mäso boli reziduá pp'DDE na tej istej kvantitatívnej úrovni, ako prezentujú vo svojich prácach Mikulík a Vávrová (1983) a Breyl a Krédľ (1983).

Pri porovnaní množstiev sledovaných rezíduí chlórovaných uhľovodíkov v jednotlivých druhoch diela a vo finálnych výrobkoch na konci technologického procesu výroby sme evidovali rozdielny stav v kvantitatívnych poklesoch tak z aspektu jednotlivých chlórovaných uhľovodíkov, ako i z pohľadu jednotlivých druhov finálnych výrobkov, mäso-vých konzerv.

Výsledky prác niektorých autorov, ktorí sa zaoberali podobnou problematikou v iných potravinových článkoch a za iných podmienok (Liska a Stadelman, 1969; Šzumková a i., 1976; Lane a i., 1978; Uhnák a i., 1982a, b), potvrdzujú i nami zistenú skutočnosť, že v priebehu technologických úprav surovín môže dochádzať k úbytkom hladín rezíduí chlórovaných uhľovodíkov vo finálnych potravinárskych výrobkoch. Domnievame sa, že nami zistené zníženie hladín možno dať do súvislosti s procesom sterilizácie a s premenou pôvodných látok na iné, degradačné produkty. Zároveň však nie je možné úplne vylúčiť možnosť vzájomnej interakcie týchto látok so samotným obsahom, prípadne s narušeným alebo nevhodným obalom.

Na záver môžeme konštatovať, že naše experimentálne výsledky ukázali, že prítomnosť rezíduí sledovaných chlórovaných uhľovodíkov v dielach použitých pre výrobu mäsových konzerv a vo finálnych výrobkoch so základnými zložkami — bravčovým a hovädzím mäsom — je výrazne podlimitná v porovnaní s povolenými toleranciami, ktoré stanovujú naše legislatívne predpisy. Z výsledkov získaných sledovaním hladín rezíduí chlórovaných uhľovodíkov v úseku technologického spracovania od diela až po finálny výrobok môžeme vysloviť poznatok, že v jeho priebehu dochádza k určitým kvantitatívnym úbytkom týchto látok. Táto skutočnosť však neznamená odstránenie prísunu iných cudzorodých látok do organizmu človeka, vzhľadom na možnosť vzniku degradačných produktov z pôvodných látok.

Literatúra

- BARTONÍČEK, F.: Rezidua pesticidů v živočišných produktech. Veterinářství, 31, 1981, s. 413-415.
BELOVA, A. B. — NOVIKOVA, L. V.: Issledovaniye po probleme čužerodnyh primesej v piščevykh produktach. Maslo-žir. Prom., 38, 1982, s. 44-47.
BREYL, I. — KRÉDL, F.: Chlorované pesticidy v potravinách živočišného pôvodu. Veter. Med. (Praha), 19, 1974, s. 121-127.
BREYL, I. — KRÉDL, F.: Chlorované uhľovodíky v mase a masných výrobcích. Prům. Potravn., 34, 1983, s. 124-126.
CVAK, Z. — STRAKA, J. — KRÉDL, F.: Rezidua chlorovaných pesticidů v potravinách živočišného původu. Veterinářství, 35, 1985, s. 174-176.
ECKSCHLAGER, K. — HORSÁK, I. — KODEJŠ, Z.: Vyhodnocování analytických výsledků a metod. Praha, SNTL 1980. 224 s.

- GAJDUŠKOVÁ, V. — BARTOŠ, J. — MALÍKOVÁ, M. — MASEK, J. — URBA-
NOVÁ, E. — MATYÁŠ, Z. — DOČEKALOVÁ, H.: Zhodnocení výskytu cizorodých
látek v hotových pokrmeh z velkoobjemových balení. Českoslov. Hyg., 28, 1983,
s. 253-259.
- GILKA, J. — BARTOŠ, J. — GAJDUŠKOVÁ, V. — MALÍKOVÁ, M. — MASEK, J.
— MATYÁŠ, Z.: Výskyt cizorodých látek v potravinách živočišného původu ze
zvířat krmených přídatkem zvířecích exkrementů. Veter. Med. (Praha), 25, 1980,
s. 179-184.
- HRUŠOVSKÝ, J. — GARČÁR, J. — ŠMIRJÁK, M.: Reziduá pesticidů na báze
chlorovaných uhlovodíků v konzervovaných potravinách. Voj. zdrav. Listy, 15,
1986, s. 24-27.
- JANIČEK, J. — GAJDUŠKOVÁ, V. — CVAK, Z.: Reziduá pesticidních látek v po-
travinách. Veterinářství, 28, 1978, s. 407-408.
- LANE, L. G. — AMMERMAN, G. R. — LANE, R. H.: Influence of thermal
processing and cooking methods on naturally occurring residues of DDT and its
metabolites in beef. J. Food Sci., 43, 1978, s. 172-174.
- LIPOWSKA, T. — KUBACKI, S.: Problem pozostałości pestycydów w przetworach
owocowo-warzywnych. Przem. Farm. ant. Owoc. Warzywny, 24, 1980, s. 14-17.
- LISKA, B. J. — STADELMAN, W. J.: Effects of processing on pesticides in food.
Residue Rev., 29, 1969, s. 61-86.
- MIKULÍK, A. — VÁVROVÁ, M.: Reziduá chlorovaných uhlovodíků ve vepřovém
sádle v několikaletém odstupu. Českoslov. Hyg., 28, 1983, s. 208-213.
- MIKULÍK, A. — VÁVROVÁ, M. — DOBEŠ, M. — KRÁL, E.: Hladiny reziduí chlo-
rovaných uhlovodíků ve vepřovém sádle v dvouletém časovém odstupu. Veterinář-
ství, 31, 1981, s. 124-126.
- RAŠETA, J. — SPIRÍČ, A. — VIŠACKI, V.: Ostaci pesticida iz grupe hlorovanih
uglevodnika u tkivima mesa svinja a polutrajnim konzervama od svinjskog mesa.
Tehnol. Mesa, 19, 1978, s. 2-4.
- ŠZUMKOWA, J. A. — RUZANKOVA, L. D. — PIERETOLČIN, N. V.: Izmerenie
ostatčino soderžania chloroorganičeskich pesticidov pri tehnologičeskoj perera-
botke mjasnogo syrja. In: Zbor., Ser.: Miasnaja promyšlennost, 24, Moskva 1976.
- TIMOFEJEVA, O. A. — ŠVARCMAN, G. A. — PYŠNAJA, J. B.: Vlijanije ochra-
nenija na ostatki pesticidov v konservach. Konserv. ovošesuš. Prom., 1978, s. 10-12.
- UHNÁK, J. — SZOKOLAY, A. — SACKMAUEROVÁ, M.: Vplyv kulinárnej úpravy
hydínového mäsa na terminálne reziduá chlorovaných uhľovodíkov. Prüm. Potrav.,
31, 1980, s. 292-294.
- UHNÁK, J. — HORVÁTHOVÁ, I. — VENINGEROVÁ, M.: Vplyv technologického
procesu na obsah reziduí chlorovaných pesticidů pri výrobe jedlých olejov. Prüm.
Potrav., 13, 1982a, s. 649-652.
- UHNÁK, J. — BARTHOVÁ, Z. — VENINGEROVÁ, M.: Reziduá pesticidů v rast-
linných surovinách pre výrobu detskej výživy. Českoslov. Hyg., 27, 1982b, s. 471-475.
- ŽULENKO, V. N.: Issledovanie stojkich pesticidov v organoch i tkanjach sel'sko-
chazajstvennych životnyh i puti ich sniženija v mjasnyh produktach. Mjas. Ind.
SSSR, 1982, s. 26-27.

Došlo dňa 10. 11. 1986

ГАРЧАР, Я. — ГРУШОВСКИ, Й. — ШМИРЯК, М. (Военный и исследовательский
институт по усовершенствованию ветврачей, Кошице): Влияние технологического про-
цесса на содержание остаточных количеств хлорсодержащих пестицидов в пищевых
консервах. Veter. Med. (Praha), 32, 1987 (10) : 619-626.

Изучались уровни отобранных остаточных количеств пестицидов из группы хлорсо-
держащих углеводородов — ГХБ (гексахлорбензен), γ -ГХЦГ (гаммаизомер гекса-
хлорциклогексана), пп'ДДЕ (1,1-дихлор-2,2-бис(п-хлорфенил)-этилен), которые содер-
жались в мясе, используемом при производстве мясных консервов и в окончательных
товарах в конце технологического процесса производства. Остаточные количества
наблюдались в мясных консервах, обозначенных — свинина в собственном соусе, го-
вядина на копченном сале, «лан-шмит» и печеночный паштет, которые производились
на пищевом заводе. Методом газовой хроматографии определялось количественное
содержание хлорированных углеводородов в начале и в конце технологического про-
цесса производства. Из результатов вытекает, что во время технологического про-

цесса производства понижались средние уровни изучаемых пестицидов. Понижение у отдельных видов мясных консервов находилось в этих интервалах: у ГХБ с 15,3 до 31,6 % и у γ -ГХЦГ с 25,2 до 32,3 % и у пп'ДДЕ с 18,8 до 28,7 %.

мясные консервы; хлорированные углеводороды; газовая хроматография

GARČÁR, J. — HRUŠOVSKÝ, J. — ŠMIRJÁK, M. (Military Veterinary Extension and Research Institute, Košice): *The Effect of the Technological Process on the Contents of Chlorinated Pesticide Residues in Tinned Food*. Veter. Med. (Praha), 32, 1987 (10) : 619-626.

Trials were conducted to study the residues of pesticides of the chlorinated carbohydrate group — HCB (hexachlorobenzene), γ -HCH (gamma isomer of hexachlorocyclohexane), and pp'DDE (1,1-dichloro-2,2-bis/p-chlorophenyl/-ethylene) — in the raw material used in the production of meat tins and in the final products at the end of the technological process of production. The residues were determined in the meat tins denoted as pork in natural juice, beef with bacon, luncheon meat and liver pâté produced in a food plant. The content of chlorinated carbohydrates at the start and end of the technological process of production was determined by the gas chromatographic method. As suggested by the results, the average concentrations of the studied pesticides decreased in the course of the production process. The decreases ranged as follows in different types of meat tins: 15.3 to 31.6 % in HCB, 25.2 to 32.3 % in γ -HCH, 18.8 to 28.7 % in pp'DDE.

meat tins; chlorinated carbohydrates; gas chromatography

GARČÁR, J. — HRUŠOVSKÝ, J. — ŠMIRJÁK, M. (Veterinärmedizinisches Ausbildungs- und Forschungsmilitärinstitut, Košice): *Einfluß des technologischen Prozesses auf den Gehalt der konservierten Lebensmittel an Residuen von chlorierten Pestiziden*. Veter. Med. (Praha), 32, 1987 (10) : 619-626.

Wir untersuchten den Spiegel der Residuen von ausgewählten Pestiziden der Gruppe der chlorierten Kohlenhydrate — HCB (Hexachlorbenzen), γ -HCH (Hexachlorzyklohexangammaisomer), pp'DDE (1,1-Dichlor-2,2-Bis/p-Chlorphenyl/-Äthylen) — die bei der Herstellung von Fleischkonserven eingesetzt und in Finalprodukten am Ende des technologischen Produktionsprozesses gefunden worden waren. Wir untersuchten die Residuen in den als Schweinefleisch im eigenen Saft, Rindfleisch mit Speck, Luncheon meat und Leberpastete bezeichneten Fleischkonserven die in Lebensmittel-fabriken hergestellt worden waren. Anhand der Gaschromatographie ermittelten wir den quantitativen Gehalt an chlorierten Kohlenhydraten zu Beginn und am Ende des technologischen Produktionsprozesses. Den Ergebnissen ist zu entnehmen, daß im Verlauf des technologischen Produktionsprozesses der durchschnittliche Spiegel der untersuchten Pestizide abfällt. Der Abfall schwankte bei einzelnen Fleischkonservenarten in folgenden Grenzen: bei HCB von 15,3 bis 31,6 %, bei γ -HCH von 25,2 bis 32,3 % und bei pp'DDE von 18,8 bis 28,7 %.

Fleischkonserven; chlorierte Kohlenhydrate; Gaschromatographie

Adresa autorov:

Ing. Jaroslav Garčár, CSc., prof. MVDr. Jozef Hrušovský, DrSc., MVDr. Marián Šmirják, CSc., Vojenský veterinárny doškoľovací a výskumný ústav, PS B-35, 041 15 Košice

VZTAHY A INTERAKCE MEZI ZÁSTUPCEM SKUPINY KARBAMÁTŮ PIRIMICARBEM A PROTEOLYTICKÝMI ZÁRODKY SYROVÉHO MLÉKA

V. Ostrý, P. Polák, Z. Matyáš

OSTRÝ, V. — POLÁK, P. — MATYÁŠ, Z. (Centrum hygieny potravinových řetězců, IHE Brno; Vysoká škola veterinární, Brno): *Vztahy a interakce mezi zástupcem skupiny karbamátů pirimicarbem a proteolytickými zárodky syrového mléka*. Veter. Med. (Praha), 32, 1987 (10) : 627-632.

V modelovém pokusu jsme použili proteolytické zárodky získané ze syrového kravského mléka kultivací na kaseinovém agaru při teplotě 37 °C po dobu 48 hodin. Pro pokus jsme vybrali kolonie proteolytických zárodků s největším dvorcem projasnění. Izolované proteolytické zárodky jsme pomnožili v maso-peptonovém bujónu. Pomnožené zárodky jsme přidávali do mléka v množství $1 \cdot 10^8$ a $5 \cdot 10^8$ zárodků na mililitr mléka. Substrátem pro kultivaci v modelových pokusech bylo sušené odtučněné mléko Eligo, obnovené na tukuprostou sušinu (TPS) 9,0 %. Pirimicarb byl do mléka přidáván rozpuštěný v 0,1 N HCl ve třech koncentracích (50 mg, 5 mg, 0,001 mg) na litr mléka. Vlastní kultivace probíhala při teplotách 5 °C a 17 °C. Vzorky byly fázově odebrány i s příslušnými kontrolami po 12, 24, 36 a 48 hodinách. Z výsledků vyplývá, že pirimicarb nemá vztah k proteolytické činnosti blíže neurčených inokulovaných proteolytických zárodků. Ani vysoké koncentrace této látky neovlivňují v pozitivním ani v negativním smyslu proteolytickou činnost. Pozitivně však můžeme hodnotit vliv mikrobiální činnosti na jeho degradaci. Pirimicarb byl stanoven metodou vysokotlakové kapalinové chromatografie (HPLC). Ninhydrinpozitivní látky jsme stanovili metodou injekční průtokové analýzy (FIA).

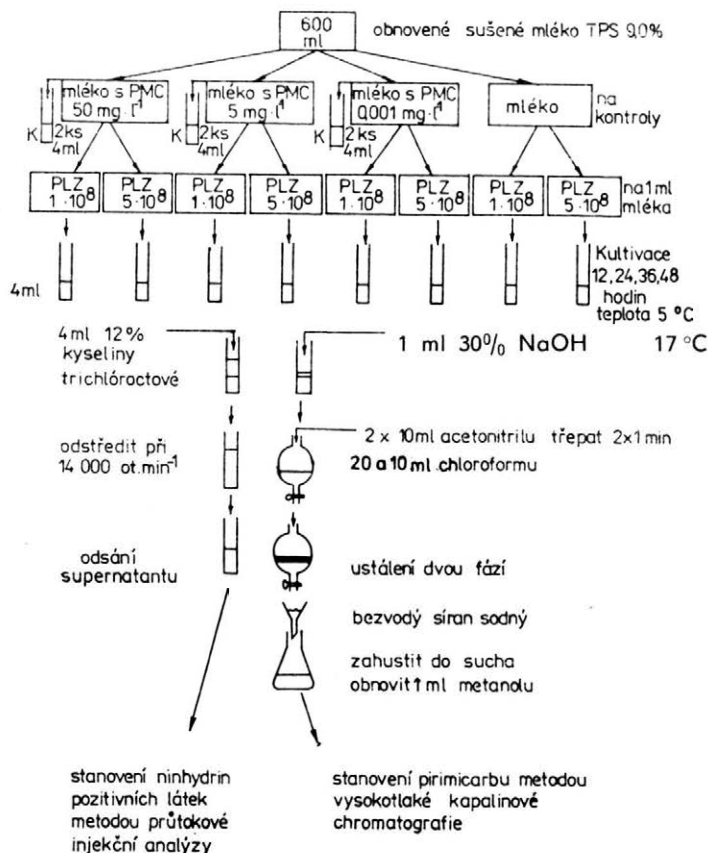
ovlivnění proteolytické činnosti; ninhydrinpozitivní látky; degradace karbamátů

Laboratorní vyšetřování potravin a surovin živočišného původu na přítomnost cizorodých látek má velký význam nejen pro stanovení jejich celkového množství, ale i vzhledem k jejich metabolitům a degradačním produktům. Tyto produkty mohou vznikat interakcemi se složkami mléka, činností nativní mikroflóry i mikroflóry kulturní. Vznikla snaha vypracovat modelový postup hodnocení vybraných cizorodých látek ve vztahu k proteolytickým zárodkům. Ovlivňování však není jednostranné, ale oboustranné i z pohledu působení proteolytické mikroflóry a jejího metabolismu na cizorodé látky. Nastává možnost jejich biotransformace a převedení na méně škodlivé nebo naopak toxičtější metabolity a degradační produkty. O vzájemných vztazích mezi mikroflórou a karbamáty není dostatek informací. Vycházeli jsme z práce (M o u n t a O e h m e, 1981), která se této problematiky dotýká.

MATERIÁL A METODY

Substrátem pro pokusy bylo sušené odtučněné mléko Eligo, obnovené na tuku-prostou sušinu (TPS) 9,0 %. Mléko bylo sterilizováno trojným zahřátím na bod varu po opětovném zchlazení na 30 °C. Proteolytické zárodky jsme izolovali ze syrového kravského mléka bez rodového a druhového určení stanovením celkového počtu mikroorganismů. Ten jsme stanovili na kaseinovém agar (Martley aj., 1970) kultivací při teplotě 30 °C po dobu 48 hodin. Pro pomnožení byly vybrány kolonie s největším dvorcem projasnění. Izolované zárodky byly pomnoženy v masopeptonovém bujónu při teplotě 30 °C po dobu 48 hodin. V této formě jsme je použili pro stanovení pirimicarbů metodou vysokotlaké kapalinové chromatografie. Pro stanovení ninhydrinpozitivních látek jsme použili proteolytické zárodky suspen-dované ve sterilním fyziologickém roztoku. Suspenze byla vytvořena elektromag-netickou míchačkou a sterilním skleněným míchadélkem. Proteolytické zárodky jsme do mléka přidali ve dvou koncentracích ($1 \cdot 10^8$ a $5 \cdot 10^8$ zárodků na mililitr mléka).

Jako modelovou cizorodou látku jsme použili pirimicarb chemického složení 2-dimethylamin-5,6-dimethylpyrimidin-4-yl-N-N-dimethylkarbamát. Jedná se o insekti-cidní karbamát, který tvoří 50 % aplikačního přípravku Pirimor DP fy ICI. Účinná látka pirimicarb byla izolována několikanásobnou extrakcí octanem etylnatým z aplikačního přípravku. Spektroskopické charakteristiky byly zjištěny přístrojem Specord UV-VIS měřením spektra v oblasti 227 až 357 nm. Pirimicarb byl po roz-puštění v 0,1 N HCl přidáván do 4 ml mléka ve třech koncentracích 50 mg, 5 mg, 0,001 mg na litr mléka. Vlastní stanovení pirimicarbů vysokotlakou kapalinovou chromatografií vychází z práce, kterou uveřejnil Knesel (1983). Stanovení ninhydrinpozitivních látek jsme modifikovali podle Poláka (1985). Vzorky jsme připravovali takto: Ke 4 ml modelového mléka jsme přidali 4 ml 12 % trichlóroctové kyseliny, čímž zkoaguloval kasein a bílkoviny mléčného séra. (Bílkoviny mléčného



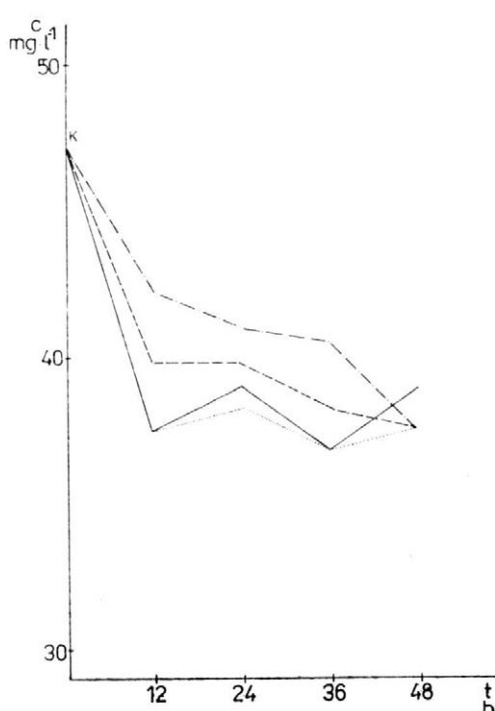
1. Pracovní schéma pří-pravy vzorků s proteo-lytickými zárodky (PLZ) a pirimicarbem (PMC) — Diagram of the preparation of samples with proteolytic germs (PLZ) and with pirimi-carb (PMC)

séra jsou rozpustné v kyselinách při pH 4,6 a nerozpustné v 12% kyselině trichlór-octové.) Po vysrážení bílkovin jsme vzorek odstřeďovali pět minut při 14 000 ot. min⁻¹. Supernatant jsme použili přímo k analýze. Vzorek jsme ředili pufrům pH 3,3 při velkém rozkladu bílkovin. Pracovní schéma je uvedeno na obr. 1.

VÝSLEDKY

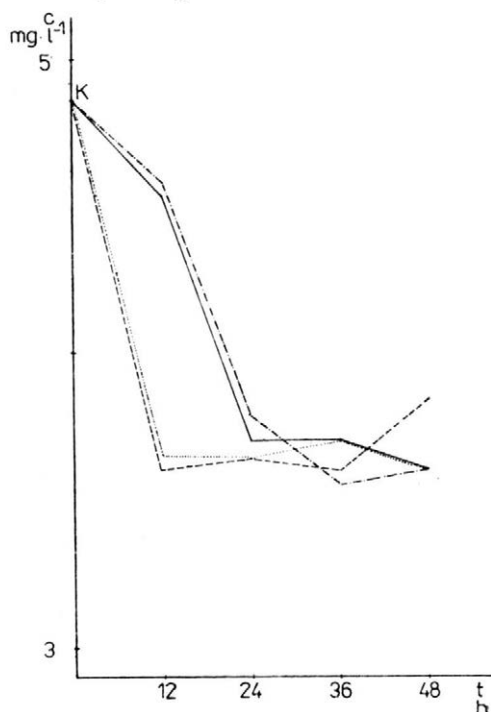
Výsledky vzorků a koncentrací pirimicarbů 50 mg.l⁻¹ jsou uvedeny v obr. 2. Z průběhu křivek můžeme usoudit tyto údaje. Při teplotě 17 °C je pokles koncentrace pirimicarbů během prvních 36 hodin vždy větší a rychlejší než při teplotě 5 °C. Množství 5 . 10⁸ . ml⁻¹ proteolytických zárodků má na pokles koncentrace pirimicarbů ve vzorku vyšší vliv, než je tomu u množství zárodků pětikrát menšího. Maximálního poklesu je dosaženo za 36 hodin. Od 36. hodiny do konce doby kultivace se hladina pirimicarbů mírně zvyší.

Výsledky analýz vzorků a koncentrací pirimicarbů 5 mg.l⁻¹ mléka jsou znázorněny na obr. 3. Z průběhu křivek je patrný vliv kultivace při teplotě 17 °C. Maximální pokles při této teplotě je za 12 hodin. Od 12.



2. Vliv doby kultivace a počtu proteolytických zárodků na hladinu pirimicarbů v mléce 50 mg.l⁻¹ při teplotě 5 °C a 17 °C — The effect of cultivation time and number of proteolytic germs on the concentration of pirimicarb in milk 50 mg per litre at the temperature of 5 °C and 17 °C

— . — . — vzorek při počtu proteolytických zárodků 1 . 10⁸ . ml⁻¹ a při teplotě 5 °C
 — — — — vzorek při počtu proteolytických zárodků 1 . 10⁸ . ml⁻¹ a při teplotě 17 °C
 — — — — vzorek při počtu proteolytických zárodků 5 . 10⁸ . ml⁻¹ a při teplotě 5 °C
 vzorek při počtu proteolytických zárodků 5 . 10⁸ . ml⁻¹ a při teplotě 17 °C



3. Vliv doby kultivace a počtu proteolytických zárodků na hladinu pirimicarbů v mléce 5 mg.l⁻¹ při teplotě 5 °C a 17 °C — The effect of cultivation time and number of proteolytic germs on the concentration of pirimicarb in milk 5 mg per litre at the temperature of 5 °C and 17 °C

hodiny do konce doby kultivace se koncentrace udržuje přibližně na stejné úrovni. U teploty 5 °C je největšího poklesu dosaženo za 24 hodiny kultivace. Od 24. hodiny do konce kultivace se koncentrace udržuje na stejné úrovni. Rozdíl ve snížení koncentrace pirimicarb vlivem množství 5 · 10⁸ · ml⁻¹ proteolytických zárodků je minimální.

U vzorků s kultivací 0,001 mg pirimicarb na litr mléka jsme po 12 hodinách koncentraci pirimicarb nezjistili, množství bylo pod mezí stanovitelnosti použité metody.

U vzorků, u kterých jsme stanovili množství ninhydrinpozitivních látek, můžeme konstatovat, že pirimicarb nemá vztah k proteolytické aktivitě izolovaných proteolytických zárodků. Ani ve vysokých koncentracích neovlivňuje proteolytickou činnost ve smyslu kladném ani záporném.

DISKUSE

V modelovém pokusu jsme použili zástupce karbamátů pirimicarb. U této látky byla zvládnuta metodika pro stanovení této skupiny látek metodou vysokotlaké kapalinové chromatografie (K n e s e l, 1983). Vycházeli jsme také z poznatků (B r y c h t a aj., 1985), že v poslední době je záchyt látek typu inhibitorů cholinesterázy v orgánech a mase hospodářských zvířat stále větší.

Problematika interakcí a možnosti snížení hladiny pesticidů technologickým zpracováním byla velmi podrobně sledována u chlорованých uhlovodíků, organofosfátů, N-metylkarbamátů. Většinou se jedná o vliv technologických postupů na uvedené látky, ale také o snížení hladin těchto látek mikrobiálním působením (G a j d ů š k o v á a L á t, 1972; G a j d ů š k o v á, 1974).

Literatura, která se týká interakcí v biologických materiálech, není četná. Tento fakt souvisí především s kontaminací rostlinných zdrojů sloužících k výživě hospodářských zvířat, ale i s metabolizací těchto látek v živém organismu.

S interakcemi se můžeme setkat při těchto vztazích: cizorodá látka — mikroflóra bacheru, cizorodá látka — půdní mikroflóra, cizorodá látka — složky mléka, cizorodá látka — nativní a kulturní mikroflóra.

V první části práce jsme vycházeli z publikace autorů M o u n t a O e h m e (1981). Zde psychotrofní proteolytické zárodky rodu *Pseudomonas* a *Achromobacter* degradovaly carbaryl (N-metylkarbamát). Z našich výsledků je zřejmé, že i u pirimicarb dochází k degradaci vlivem blíže neurčených inokulovaných proteolytických zárodků. V dřívější práci (O s t r ý aj., 1986) jsme sledovali vlivy mikrobiálního působení na pirimicarb. Byl sledován a hodnocen vliv klasického a dlouhodobého zrání jogurtů a také vliv mikrobiálního osídlení prátu během zrání. I zde koncentrace použitého pirimicarb klesala.

Co se týká ovlivnění enzymatického systému proteolytických zárodků pirimicarbem, vycházeli jsme z poznatků (D a v í d e k aj., 1983; N i k o n o r o w, 1983), že karbamátové insekticidy mohou ovlivnit aktivitu mnoha enzymů. Vedle anticholinesterázového působení byly pozorovány stimulace aktivit některých enzymů, např. cytochromoxidázy. Pro nás byla zajímavá otázka ovlivnění mikrobiálních proteáz ve smyslu kladném i záporném. Můžeme konstatovat, že proteolytická aktivita, cha-

рактизованá stanovením ninhydrinpozitivních látek, se vlivem pirimicarbu výrazně nemění. Další možnost sledování proteolýzy je vzhledem ke kvalitě: sleduje se obsah tyrosinu Lowryho metodou v modifikaci (Juffs, 1976) a stanovují se volné aminokyseliny na automatickém analyzátoru aminokyselin.

Literatura

- BRYCHTA, J. — KREDL, F. — HOLEJŠOVSKÝ, J. — KŘEN, K.: Problematika cizorodých látek v mase z hlediska cílené diagnostiky vyhledávání zdrojů a prevence jejich vzniku. In: Veterinární péče v potravinářském průmyslu. XVI. Lenfeldovy a Höklovy dny. Sbor. Ref., 3, 1985, s. 48-61.
- DAVIDEK, J. — JANÍČEK, B. — POKORNÝ, J.: Chemie potravin. Praha, Stát. nakl. techn. liter. 1983.
- GAJDŮSKOVÁ, V.: Změny některých organofosfátů při technologickém zpracování mléka. Acta hyg., epidemiol., microbiol., příl. 13, 1974, s. 52.
- GAJDŮSKOVÁ, V. — LÁT, J.: Effect of malathion and N-methylcarbamates on growth and morphology of yoghurt-culture organisms. Acta veter. (Brno), 41, 1972, s. 447.
- JUFFS, H. S.: Proteolysis detection in milk. J. appl. Bact., 40, 1976, s. 371-381.
- KNESEL, L.: Problematika stanovení karbamátových insekticidů metodou HPLC. In: Sbor. Ref. Cudzorodé látky v poživatinách. Stará Lesná 1983, s. 38-45.
- MARTLEY, F. G. — YAYASHANKAR, S. R. — LAWRENCE, R. C.: An improved agar medium for the detection of proteolytic organisms in total bacterial counts. J. appl. Bact., 33, 1970, s. 363-370.
- NIKONOROW, M.: Pesticidy a toxicita prostredia. Bratislava, Príroda 1983.
- MOUNT, M. E. — OEHME, F. W.: Carbaryl: a literature review. Residue Reviews, 80. New York Inc., Springer-Verlag 1981.
- OSTRÝ, V. — KNESEL, L. — MATYÁŠ, Z.: Vliv vybraných technologických postupů a interakcí kulturní mikroflóry s účinnou látkou na pirimicarb. In: Souhrny sdělení XIII. celostátního semináře o jakosti potravin a potravinových surovin živočišného původu. Brno, Vysoká škola veterinární 1986, s. 17.
- POLÁK, P.: Stanovení dusíku v biologickém materiálu metodou průtokové injekční analýzy s ninhydrinovou detekcí. [Studentská vědecká práce.] Brno, Vysoká škola veterinární 1985.

Došlo dne 10. 11. 1986

ОСТРЫЙ, В. — ПОЛАК, П. — МАТИАШ, З. (Центр гигиены продовольственных звеньев, ИГЭ Брно; Институт ветеринарии, Брно): Институт ветеринарии, Брно): Связи и взаимодействия между представителем группы карбаматов пириимикарбом и протеолитическими зародышами сырого молока. Veter. Med. (Praha), 32, 1987 (10: 627-632).

V rámci modelového опыта мы использовали протеолитические зародыши, которые мы получили из сырого коровьего молока путем культивации на казеиновом агаре при 37°C в течение 48 час. Для опыта служили колонии этих зародышей с макс. участком проявления. Изолированные зародыши размножали в мясоептонном бульоне и добавляли в молоко в количестве 1. 10⁸ и 5. 10⁸ зарод./мл. Субстратом для культивирования в модельном опыте служил сухой обрат Элиго, восстановленный на обезжиренном сух. вещ. 9,0%. Пириимикарб добавляли в молоко в растворе 0,1 N HCl в 3 концентрациях (50 мг, 5 мг, 0,001 мг)/л молока. Сама культивация протекала при 5°C и 17°C. Образцы брали пофазово и с соответствующим контролем в интервалах 12, 24, 36 и 48 час. Как показывают результаты, пириимикарб не имеет отношения к протеолитическому действию подробно не определенных протеозародышей. Даже высокие концентрации этого вещества не влияют на протеолитическую активность ни положительно, ни отрицательно. Однако положительным представляется влияние микробного действия на деградацию пириимикарба. Пириимикарб определяли по методу высоконапорной жидкой хроматографии. Нингидринпозитивные вещества определяли по методу инъекц. проточного анализа (FIA).

регулировка протеолитического действия; нингидринпозитивные вещества; деградация карбаматов

OSTRÝ, V. — POLÁK, P. — MATYÁŠ, Z. (Centre for Food Chain Hygiene, Institute of Hygiene and Epidemiology, Brno; University of Veterinary Medicine, Brno): *Relationships and Interactions between Pirimicarb as a Representative of the Carbamate Group and Proteolytic Germs in Raw Milk*. Veter. Med. (Praha), 32, 1987 (10) : 627-632.

Proteolytic germs obtained from raw cow's milk by cultivation on casein agar at 37 °C for 48 hours were used in a model trial. Proteolytic germ colonies with the largest clarification area were chosen for the trial. The isolated proteolytic germs were propagated in meat-peptone broth. The multiplied germs were then added to milk at the rates of $1 \cdot 10^8$ and $5 \cdot 10^8$ germs per 1 millilitre of milk. The Eligo skim milk powder reconstituted to SNF 9.0 % was used as substrate for cultivation in the model trials. Pirimicarb, dissolved in 0.1 N HCl, was added to milk at three concentrations: 50 mg, 5 mg and 0.001 mg per 1 litre of milk. The cultivation temperatures were 5 °C and 17 °C. Together with the controls, samples were taken step by step after 12, 24, 36 and 48 h. As suggested by the results, pirimicarb has no relation to the proteolytic activity of the unidentified inoculated proteolytic germs and has no influence, either positive or negative, on this activity, however high its concentration may be. On the other hand, the microbial activity influences the degradation of the chemical, which can be considered as a positive feature. Pirimicarb was determined by high-pressure liquid chromatography (HPLC) and ninhydrin-positive substances were determined by flow injection analysis (FIA).

influencing proteolytic activity; ninhydrin-positive substances; carbamate degradation

OSTRÝ, V. — POLÁK, P. — MATYÁŠ, Z. (Zentrum der Hygiene der Lebensmittelketten, Institut für Hygiene u. Epidemiologie, Brno; Veterinärmedizinische Hochschule, Brno): *Beziehungen und Interaktion zwischen Pirimicarb, dem Vertreter der Karbamatgruppe, und proteolytischen Keimen der Rohmilch*. Veter. Med. (Praha), 32, 1987 (10) : 627-632.

In einem Modellversuch benutzten wir mittels Kultivation auf Kasein-Agar bei einer Temperatur von 37 °C in 48 Stunden aus roher Kuhmilch gewonnene proteolytische Keime. Für den Versuch wählten wir Kolonien proteolytischer Keime mit dem größten Durchlichtungshof aus. Die isolierten proteolytischen Keime vermehrten wir in Fleisch-Pepton-Nährsubstrat. Die vermehrten Keime fügten wir der Milch in Gaben von $1 \cdot 10^8$ und $5 \cdot 10^8$ Keime pro Milliliter Milch hinzu. Als Substrat für die Kultivation in den Modellversuchen diente auf 9 % fettgreie Trockensubstanz (TPS) zubereitete Trockenmagermilch „Eligo“. Das Pirimicarb wurde in die Milch, in 0,1 N HCl aufgelöst, in drei Konzentrationen (50 mg, 5 mg, 0,001 mg pro Liter Milch) zugegeben. Die eigentliche Kultivierung verlief bei Temperaturen von 5 °C und 17 °C. Die Proben wurden phasenweise, gleichzeitig mit den entsprechenden Kontrollen, entnommen u. zw. nach 12, 24, 36 und 48 Stunden. Aus den Ergebnissen geht hervor, daß das Pirimicarb zur proteolytischen Tätigkeit näher nicht bestimmter inokulierter proteolytischen Keime in keinerlei Beziehung steht. Selbst hohe Konzentrationen dieses Stoffes beeinflussen sowohl im positiven als auch negativen Sinne die proteolytische Tätigkeit nicht. Positiv ist jedoch der Einfluß der mikrobiellen Tätigkeit auf seine Degradation zu bewerten. Das Pirimicarb wurde mittels der Methode der Hochdruck-Flüssigkeitschromatographie (HPLC) bestimmt. Ninhydrinpositive Stoffe bestimmten wir mit Hilfe der Methode der Injektions-Durchflußanalyse (FIA).

Beeinflussung der proteolytischen Tätigkeit; ninhydrinpositive Stoffe; Karbamatdegradation

Adresy autorů:

MVDr. Vladimír Ostrý, Centrum hygieny potravinových řetězců Institutu hygieny a epidemiologie, Palackého 1-3, 612 42 Brno

MVDr. Pavel Polák, prof. MVDr. Zdeněk Matyáš, CSc., Vysoká škola veterinární, Palackého 1-3, 612 42 Brno

RAST ATENUOVANÝCH KMEŇOV PARVOVÍRUSU PSOV, VÍRUSOVEJ ENTERITÍDY NORIEK A PANLEUKOPÉNIE MAČIEK A VÍRUSU PSINKY NA ROZDIELNYCH DRUHOCH BUNKOVÝCH KULTÚR

T. Žuffa

ŽUFFA, T. (Bioveta, n. p., Nitra): *Rast atenuovaných kmeňov parvovírusu psov, vírusovej enteritídy noriek a panleukopénie mačiek a vírusu psinky na rozdielnych druhoch bunkových kultúr.* Veter. Med. (Praha), 32, 1987 (10) : 633-640.

Študovali sme rastové vlastnosti atenuovaných kmeňov parvovírusu psov CPVA-BN 80/82, vírusu enteritídy noriek MEVA-BN 63/82 a vírusu panleukopénie mačiek FPVA-BN 110/83 na stabilnej línii mačacích obličkových buniek FE a vírusu psinky CDV-F-BN 10/83 na kultúrach kuracích embryonálnych buniek (KEB) a kultúrach stabilnej bunkovej línie VERO. Pri infekcii kultúr FE jednotlivými parvovírusmi do bunkovej suspenzie pri MOI 2—4 TKID₅₀ na bunku sa prvé množenie intracelulárneho vírusu zaznamenalo za 20 hodín p. i. Vzostup obsahu intracelulárneho a extracelulárneho vírusu prebiehal pri parvovírose psov paralelne až do štvrtého dňa, načo do šiesteho dňa došlo k vzostupu extracelulárneho vírusu a k prudkému poklesu intracelulárneho vírusu; pri víruse enteritídy noriek prebiehalo uvoľňovanie vírusu do kultivačného média paralelne s produkciou bunkového vírusu až do šiesteho dňa, kým vírus panleukopénie mačiek vykazoval, počnúc druhým dňom p. i., nižšie hodnoty voľného vírusu ako na bunky viazaného vírusu. Pri infekcii kultúr KEB alebo VERO vírusom psinky do bunkovej suspenzie, pri MOI okolo 0,004 na bunku, sa replikovaný intracelulárny vírus zisťoval na kultúrach KEB za päť hodín p. i., ale na kultúrach VERO až za 20 hodín p. i., s jeho včasným uvoľňovaním do kultivačného média na obidvoch druhoch tkaniva. Na kultúrach KEB a VERO sme zaznamenali najvyššie hodnoty infekčných titrov v štvrtom dni p. i. s paralelným priebehom množenia vírusu na bunkách a s jeho uvoľňovaním do kultivačného média.

rastové vlastnosti; infekcia kultúr; kultivačné médium

Potreby experimentálnej práce, ako aj efektívnej a ekonomickej výroby vírusových vakcín a diagnostických preparátov, si vyžadujú presne definovať rastové vlastnosti vybraných vírusových kmeňov a podmienky ich kultivácie, zabezpečujúce dosiahnutie maximálnej produkcie vírusových antigénov. Súčasťou vývoja monovalentných vakcín proti parvovíroze psov (CANVIPAR), parvovírusovej enteritíde noriek (MEVAK), vakcíny proti panleukopénii mačiek (FELIVAK) a vakcíny proti psinke (DIVAK), ako aj kombinovaných vakcín proti parvovíroze psov a psinke (CANVIPAR-D), resp. proti vírusovej enteritíde noriek a psinke (MEDIS) (Žuffa a i., 1987a, b), bolo definovanie kinetiky replikácie atenuovaných kmeňov slúžiacich na prípravu uvedených vakcín.

Uvedené parvovírusy, ktoré na bunkových kultúrach prvýkrát pomnožili Bolin (1957), Burger (1961) a Binn a i. (1968), vykazujú dobré rastové vlastnosti na viacerých druhoch primárnych kultúr (Gorham a i., 1965; Buonavoglia a i., 1983), resp. stabilných

bunkových línii (Studdert a i., 1983; Gotto a i., 1984). Rast vírusu psinky, kmeňa Onderstepoort, adaptovaného na kuracie zárodky, popísali na kultúrach kuracích embryonálnych fibroblastoch (KEB) a stabilnej bunkovej línii opičích obličiek VERO Appel a Robson (1973).

Cieľom našej práce bolo definovať kinetiku replikácie atenuovaných kmeňov parvovírusu psov, vírusu enteritídy noriek a vírusu panleukopénie mačiek na stabilnej bunkovej línii FE a vírusu psinky na kultúrach KEB a stabilnej bunkovej línii VERO za definovaných kultivačných podmienok. O dosiahnutých výsledkoch referujeme v predkladanej práci.

MATERIÁL A METÓDY

VÍRUSOVÉ KMENE

Kmeň parvovírusu psov, CPVA-BN 80/82, vírus enteritídy noriek, kmeň MEVA-BN 63/82, a vírus panleukopénie mačiek, kmeň FPVA-BN 110/83, predstavujú vlastné izoláty atenuované cestou sériových pasáží na kultúrach stabilnej línie mačacích obličiek FE. Všetky uvedené kmene jednotlivých parvovírusov sa dobre množia na stabilnej línii FE.

Vírus psinky, kmeň CDV-F-BN 10/83, predstavuje pôvodne vaječný kmeň Onderstepoort, adaptovaný na rast na kultúrach KEB a stabilnej bunkovej línie opičích obličiek VERO.

BUNKOVÉ KULTÚRY

Kultúry stabilnej línie mačacích obličkových buniek FE sme pestovali v Eaglovom médiu MEM a kultúry stabilnej línie opičích obličiek VERO v médiu BEM (FLOW LABORATORIES — Irvin Scotland) obohatenom o 5 až 10 % inaktivovaného prekolostrálneho tetacieho séra (PHYLAXIA, Budapest) s obsahom 200 m. j. penicilínu a 200 µg streptomycínu na 1 ml. Po vytvorení monolayera sme kultúry uvedených bunkových línii trikrát oplákli udržiavacím médiom (MEM alebo BEM) a bunky uvoľnené z kultivačného povrchu skla roztokom verzén-trypsín odstraňovali pri 1000 G počas 10 minút. Primárne kultúry KEB z vajec SPF sme pestovali v médiu M 199 rovnakej proveniencie s obsahom 5 % prekolostrálneho tetacieho séra a antibiotík.

INFEKCIA BUNKOVÝCH KULTÚR

Suspenziu buniek o hustote $9 \cdot 10^6 \cdot \text{ml}^{-1}$ sme infikovali kmeňom CPVA-BN 80/82 pri multiplicitate infekcie 2, resp. FPVA-BN 110/83 a MEVA-BN 63/82 pri multiplicitate infekcie 4. Suspenzia buniek VERO a primárnych kultúr KEB-SPF, obidve o hustote $1,30 \cdot 10^7 \cdot \text{ml}^{-1}$, sme infikovali vírusom psinky, kmeňom CDV-F-BN 10/83, pri multiplicitate infekcie 0,004. Za účelom neutralizácie neadsorbovaného vírusu sme infikované suspenzie buniek po 30-minútovom inkubovaní pri teplote 37 °C zaliali 80 ml udržiavacieho média s obsahom 5 % imúnneho králičieho séra s obsahom HI-protilátok v titoch 1 : 256 až 1 : 512 proti uvedeným parvovírusom, resp. psieho imúnneho séra proti vírusu psinky s titom VN-protilátok 1 : 256 a inkubovali ďalších 60 minút pri rovnakej teplote. Po odstránení média s obsahom imúnneho séra a dvojnásobnom opláknutí infikovaných buniek 80 ml udržiavacieho média sme bunky resuspendovali do príslušného rastového média a zakladali do skúmaviek v množstve 3 až $4 \cdot 10^5 \cdot \text{ml}^{-1}$.

TITRÁCIA VÍRUSU

Na stanovenie obsahu extracelulárneho a intracelulárneho vírusu sme odoberali po tri skúmavky na začiatku inkubácie a potom za 60 a 120 minút a za 3, 5, 7, 9, 11, 20 a 24 hodín. Následne sme vzorky odoberali v 24-hodinových intervaloch.

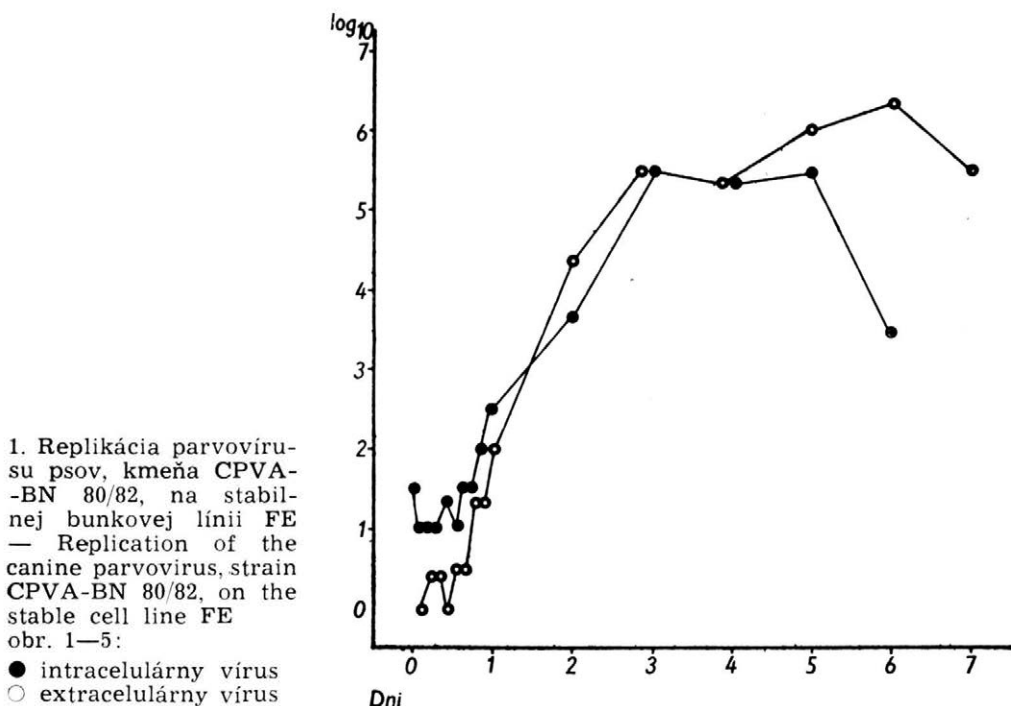
Na titráciu extracelulárneho vírusu sa použil odstredovaním vyčistený supernatant zliaty z infikovaných buniek. Intracelulárny vírus bol pripravený takto: Bunky a bunkový detritus získaný odstredovaním infekčných tkanivových tekutín

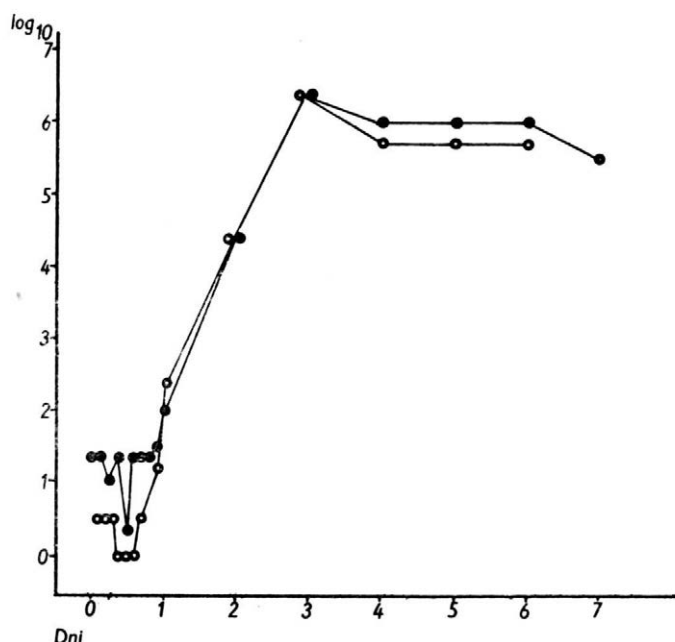
sme po zaliatí udrzovacím médiom a po trojnásobnom zmrazení a rozmrazení pri teplote -70°C opakovane odstredili pri 3500 G počas 20 minút a supernatanty sme použili na titráciu. Infekčné tekutiny parvovírusových kmeňov CPVA-BN 80/82, MEVA-BN 63/82 a FPVA-BN 110/83 boli až do titrácie uložené v skúmavkách pri teplote -20°C , vírus psinky bol v zatavených ampulkách skladovaný pri teplote -70°C . Obsah infekčných jednotiek sme u všetkých vzoriek parvovírusov zisťovali titráciou na skúmavkových kultúrach FE, u vírusu psinky na skúmavkových kultúrach VERO. Log₁₀ riedeniami každej vzorky vírusu sme očkovali po štyri skúmavkové kultúry FE, resp. VERO v dávke 0,1 ml na každé riedenie a výsledok odčítali po sedemdnovom inkubovaní očkovaných kultúr pri teplote 37°C . Obsah vírusu, vyjadrený v TKID₅₀, sme vypočítali podľa formuly Reeda a Muencha.

VÝSLEDKY

Množenie vírusov CPVA-BN 80/82, MEVA-BN 63/82 a FPVA-BN 110/83 na kultúrach bunkovej línie FE prebiehalo takto: Vzostup intracelulárneho vírusu u všetkých troch kmeňov sa zaznamenal za 20 hodín *p. i.*; súčasne bolo zaznamenané jeho kvantitatívne uvoľňovanie do kultivačného média. Vzostup intracelulárneho a extracelulárneho vírusu prebiehal ďalej paralelne a rovnaké hodnoty infekčných titrov voľného a bunkového vírusu sa u CPVA-BN 80/82 / $10^{5,75}$ TKID₅₀ (0,1 ml) zisťovali do štvrtého dňa kultivácie, u vírusu MEVA-BN 63/82 / $10^{6,5}$ TKID₅₀ (0,1 ml) do tretieho dňa a u vírusu FPVA-BN 110/83 / $10^{4,5}$ TKID₅₀ (0,1 ml) do druhého dňa kultivácie.

Pri pokračujúcom vzostupe infekčnosti extracelulárneho vírusu CPVA-BN-80/82 do šiesteho dňa *p. i.*, spojenom s úplnou deštrukciou bunkového monolayera, boli hodnoty titrov extracelulárneho vírusu v piatom dni *p. i.* o pol log₁₀ jednotky a v šiestom dni *p. i.* až o tri log₁₀ jednotky vyššie ako u intracelulárneho vírusu (obr. 1).





2. Replikácia vírusu enteritídy noriek, kmeňa MEVA-BN 63/82, na stabilnej bunkovej línii FE — Replication of the mink enteritis virus, strain MEVA-BN 63/82, on the stable cell line FE

U vírusu MEVA-BN 63/82 dosiahli infekčné titry intracelulárneho a extracelulárneho vírusu najvyššie hodnoty v treťom dni *p. i.* a po mier-
nom poklese infekčnosti do štvrtého dňa sa udržiavala infekčnosť pri
obidvoch na rovnakej úrovni do šiesteho dňa *p. i.*, pričom titry intracelu-
lárneho vírusu boli o pol $\log_{10}$ jednotky vyššie ako titry vírusu extracelu-
lárneho (obr. 2).

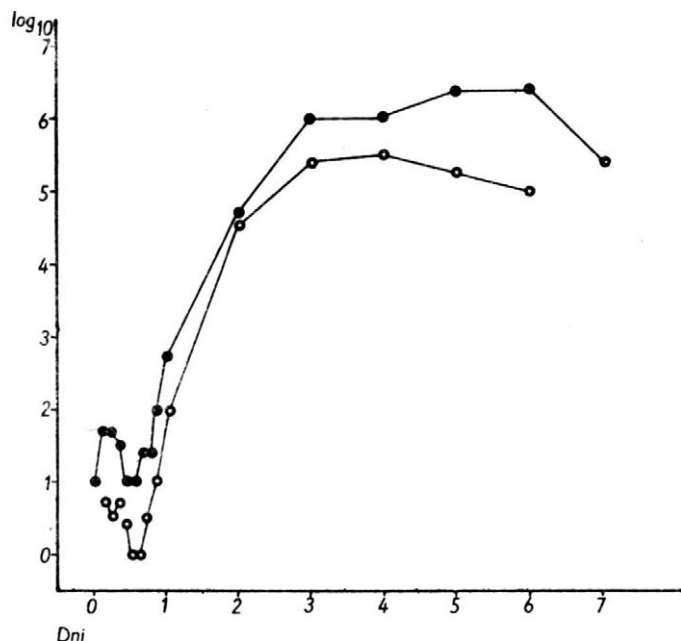
Aktívne množenie vírusu FPVA-BN 110/83 sme zaznamenali už za
24 hodín *p. i.*, s rýchlym, takmer paralelne prebiehajúcim vzostupom
intracelulárneho aj extracelulárneho vírusu do tretieho dňa *p. i.* Nato
hodnoty infekčných titrov intracelulárneho vírusu mierne stúpali až do
šiesteho dňa, ale s výrazným poklesom v siedmom dni, kým extracelulár-
ny vírus vykazoval mierny pokles infekčnosti (obr. 3).

Novoprodukovaný intracelulárny vírus psinky CDV-F-BN 10/83 sa na
kultúrach KEB-SPF dokázal za päť hodín a na kultúrach VERO za 20 ho-
dín *p. i.* Za deväť hodín *p. i.* kultúr KEB-SPF, resp. za 24 hodín *p. i.* kul-
túr línie VERO, sme zaznamenali mierny pokles infekčných titrov pri
intracelulárnom aj extracelulárnom víruse (o 0,5 až 1,0 $\log_{10}$), s násled-
ným výrazným vzostupom do tretieho, resp. štvrtého dňa a s pretrváva-
ním rovnakej infekčnosti u voľného aj na bunky viazaného vírusu na
kultúrach KEB-SPF do šiesteho dňa (obr. 4). Krivky obidvoch zložiek
rastu vírusu psinky na bunkovej línii VERO vykazovali od tretieho až
do šiesteho dňa značné výkyvy (obr. 5).

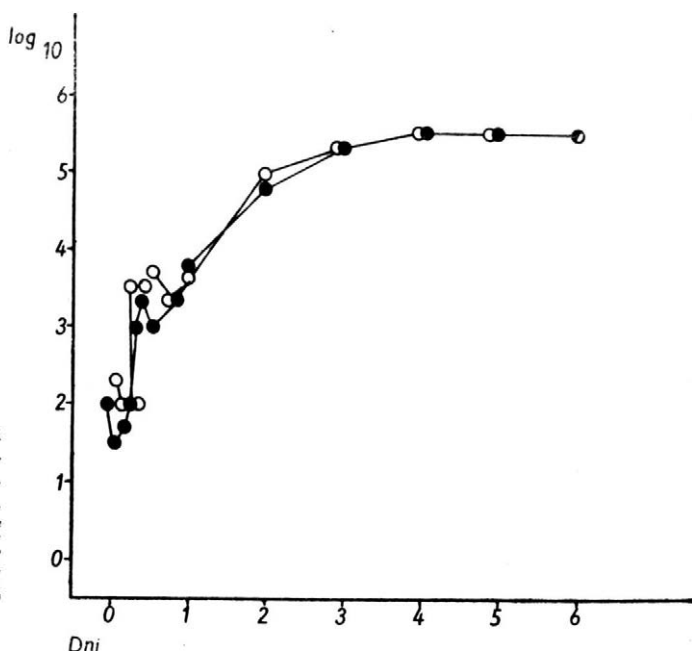
DISKUSIA

Rastové vlastnosti atenuovaných kmeňov parvovírusu psov CPVA-
BN 80/82, vírusu enteritídy noriek MEVA-BN 63/82 a vírusu panleuko-
pénie mačiek FPVA-BN 110/83 sme — v súlade s prácami, ktoré uverej-
nili Flagstad (1975) a Endo a i. (1981) — študovali na kultúrach
stabilnej bunkovej línie mačacích obličkových buniek. Bunková línia FE,

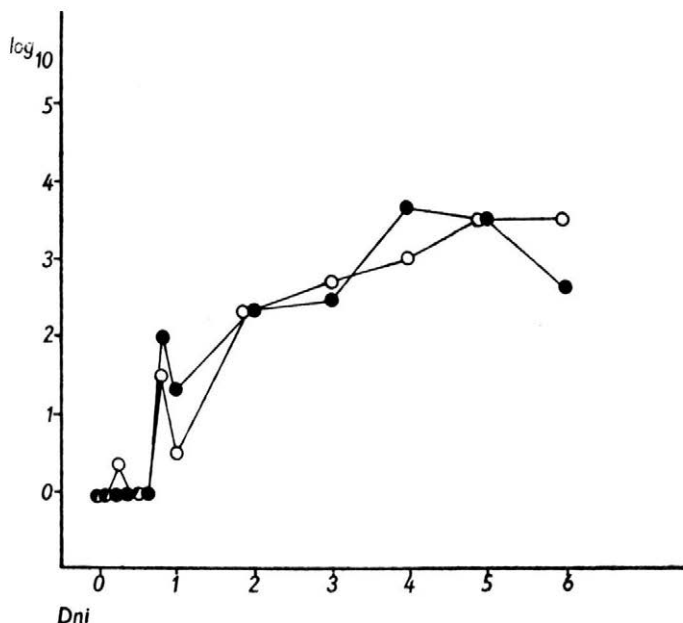
3. Replikácia vírusu panleukopénie mačiek, kmeňa FPVA-BN 110/83, na stabilnej línii FE — Replication of the feline panleucopenia virus, strain FPVA-BN 110/83, on the stable cell line FE



4. Replikácia vírusu psinky, kmeňa CDV-F-BN 10/83, na bunkových kultúrach KEB-SPF — Replication of the canine distemper virus, strain CDV-F-BN 10/83, on the KEB-SPF cell cultures



použitá v našich pokusoch, vykazuje pri dodržaní definovaných kultivačných podmienok dobré rastové vlastnosti charakterizované vysokou mitotickou aktivitou, ktorá je základným predpokladom pre dosiahnutie bohatej produkcie parvovírusov (Johnson, 1967; Flagstad, 1975). Ďalším dôležitým faktorom určujúcim výťažnosť vírusu je čas



5. Replikácia vírusu psinky, kmeňa CDV-F-BN 10/83, na stabilnej línii VERO — Replication of the canine distemper virus, strain CDV-F-BN 10/83, on the stable line VERO

a spôsob infekcie bunkovej kultúry (Endo a i., 1981). Všeobecne zaužívaný spôsob infekcie štvorhodinových až dvanásťhodinových kultúr ďalej rozpracovali Siegel a Gautschi (1973) a Parris a Bates (1976), ktorí pre zvýšenie výťažnosti vírusu na dosažiteľné maximum odporúčajú infikovať kultúry synchronizované v S fáze rastu.

Infekcia čerstvo pripravenej koncentrovanej suspenzie buniek, ako sme ju robili v našich pokusoch, splnila požiadavku biologickej synchronizácie bunkovej kultúry a zabezpečila rýchly nástup replikácie študovaných parvovírusov. Vzostup intracelulárneho vírusu, zaznamenaný pri všetkých študovaných parvovírusoch za 20 hodín *p. i.*, bol odprevádzaný jeho súčasným kvantitatívnym uvoľňovaním do kultivačného média, čo je v súlade so zisteniami autorov Flagstad (1975) a Endo a i. (1981). Naproti tomu zaznamenali O'Shea a Studdert (1978) pri štúdiu rastových vlastností kmeňa 193/70 vírusu pankleukopénie mačiek produkciu intracelulárneho a extracelulárneho vírusu už za osem hodín *p. i.* Dynamika produkcie intracelulárneho vírusu a uvoľňovania extracelulárneho vírusu u troch študovaných parvovírusov bola v dobrej korelácii so zistením autorov O'Shea a Studdert (1978), pričom ale rovnaké hodnoty infekčných titrov sa u našich kmeňov zisťovali o 16 až 24 hodín neskôr. V súlade so zisteniami, ktoré uverejnili Flagstad (1977), Goto a i. (1984) a Higashihara a i. (1981), dosiahli infekčné titre najvyššie hodnoty $10^{5.5}$ TKID₅₀ až $10^{7.5}$ TKID₅₀/ml za 48 až 72 hodín *p. i.*

Vírus psinky, kmeň CDV-F-BN 10/83, sa dobre množil na kultúrach KEB-SPF aj na stabilnej bunkovej línii VERO a jeho rast odprevádzal vývoj zjavných cytopatických zmien. Kinetika replikácie a zisťované titre študovaného vírusu boli v dobrej korelácii a výsledkami, ku ktorým dospeli Hirayama a i. (1985), keď na kultúrach KEB-SPF infekčné titre vírusu dosiahli maximálne hodnoty $10^{5.5}$ TKID₅₀ s paralelným priebehom obsahu bunkového a voľného vírusu, ale rozdielne na kultúrach VERO, na ktorých v našich pokusoch síce boli dosahované hodnoty in-

fekčných titrov rovnaké ($10^{4.5}$ až $10^{5.0}$ TKID₅₀/ml) s výsledkami citovateľných autorov, ale v našom prípade vykazovali značné výkyvy v priebehu študovaného obdobia.

Literatúra

- APPEL, M. — ROBSON, D. S.: Microneutralization test for canine distemper virus. Amer. J. veter. Res., 34, 1973, s. 1459-1463.
- BINN, L. — LAZAR, F. C. — ROGUL, M.: Upper respiratory disease in military dogs: Bacterial, mycoplasmal, and viral studies. Amer. J. veter. Res., 2, 1968, s. 1809-1815.
- BOLIN, V. S.: The cultivation of panleukopenia virus in tissue culture. Virology, 4, 1957, s. 389-390.
- BUONAVOLIA, C. — COMPAGNUCCI, M. — ORFEI, Z.: Dog response to plaque variant of canine parvovirus. Zbl. Veter.-Med., R. B, 30, 1983, s. 526-531.
- BURGER, D.: The relationship of mink virus enteritis to feline panleukopenia virus. MS Thesis, Washington State University, Pullman, WA, 1961.
- ENDO, M. — SHINAGAWA, M. — GOTO, H. — SHIMIZU, K.: Growth characteristics of feline panleukopenia virus in synchronized kitten kidney cells. Jap. J. veter. Sci., 43, 1981, s. 63-70.
- FLAGSTAD, A.: Studies on the growth of feline panleukopenia virus in cell cultures. Acta path. microbiol. scand., R. B, 83, 1975, s. 71-78.
- FLAGSTAD, A.: Feline panleukopenia virus and mink enteritis virus. A serological study. Acta veter. scand., 18, 1977, s. 1-9.
- GORHAM, J. R. — HARTSOUGH, G. R. — BURGER, D. — LUST, S. — SAIO, N.: The preliminary use of attenuated feline panleukopenia virus to protect cats against panleukopenia and mink against virus enteritis. Cornell Veter., 1965, s. 559-566.
- GOTO, H. — HIRANO, T. — UCHITA, E. — WATANABE, K. — SHINAGAWA, M. — ICHIJO, S. — SHIMIZU, K.: Comparative studies of physico-chemical and biological properties between canine parvovirus and feline panleukopenia virus. Jap. J. veter. Sci., 46, 1984, s. 519-526.
- HIGASHIHARA, T. — IZAWA, H. — ONUMA, M. — KODAMA, H. — MIKAMI, T.: Mink enteritis in Japan. I. Isolation and characterization of the causative virus and its pathogenicity in cat. Jap. J. veter. Sci., 43, 1981, s. 841-851.
- HIRAYAMA, N. — SENDA, M. — KURATA, K. — YOSHIKAWA, Y. — YAMANOUCHI, K.: Requirement of methionine for the replication of canine distemper virus in VERO cells. J. gen. Virol., 66, 1985, s. 149-157.
- JOHNSON, R. H.: Feline panleukopenia virus. IV. Methods for obtaining reproducible *in vitro* results. Res. veter. Sci., 8, 1967, s. 256-264.
- O'SHEA, J. D. — STUDDERT, M. J.: Growth of an autonomously replicating parvovirus (Feline panleukopenia): Kinetics and morphogenesis. Arch. Virol., 57, 1978, s. 107-122.
- PARRIS, D. S. — BATES, R. C.: Effect of bovine parvovirus replication of DNA, RNA and protein synthesis in S phase cells. Virology, 73, 1976, s. 72-78.
- SIEGEL, G. — GAUTSCHI, M.: The multiplication of parvovirus Lu III in a synchronized culture system. I. Optimum concession for virus replication. Arch. ges. Virusforsch., 40, 1973, s. 105-118.
- STUDDERT, M. J. — ODA, C. — RIEGEL, C. A. — ROSTON, R. P.: Aspects of the diagnosis, pathogenesis and epidemiology of canine parvovirus. Aust. veter. J., 7, 1983, s. 197-200.
- ŽUFFA, T. — SALAJ, J. — BOUČKOVÁ, I.: Testovanie vakcín Canvipar a Canvipar-D určených na špecifickú profylaxiu parvovirózy psov v terénnych podmienkach. Veterinárství, 1987a, v tlači.
- ŽUFFA, T. — SLOVÁK, V. — SCHWARTZ, J. — HRUŠOVSKÝ, Z.: Terénne testovanie vakcín MEVAK a MEDIS určených na profylaxiu vírusovej enteritidy noriek. Veterinárství, 1987b, v tlači.

Došlo dňa 22. 12. 1986

ЖУФФА, Т. (Биовета, нац. пр., Нитра): Рост атенуированных штаммов парвовируса собак, вирусного энтерита норок, панлейкопении кошек и вируса бешенства на разных видах клеточных культур. *Veter. Med. (Praha)*, 32, 1987 (10) : 633-640.

Изучали ростовые свойства атенуированных штаммов парвовируса собак CPVA-BN 80/82, вируса энтерита норок MEVA-BN 63/82 и вируса панлейкопении кошек FPVA-BN 110/83 на стабильной линии кошачьих почечных клеток FE и вируса бешенства CDV-F-BN 10/83 на культурах куриных эмбриональных клеток (КЕВ) и культурах стабильной клеточной линии VERO. Заражая культуры FE отдельными парвовирусами в клеточной суспензии MOI 2—4 TKID₅₀ на клетку, первое размножение внутриклеточного вируса отметили через 20 час. *p. i.* Рост содержания как интро-, так и экстраклеточного вируса протекал у парвовируса собак параллельно до 4-го дня, а на 6-й день внеклеточный вирус резко возрос, тогда как внутриклеточный резко пал. У вируса энтерита норок вирус высвобождался в среду культивации параллельно с продукцией клеточного вируса вплоть до 6-го дня, когда вирус панлейкопении кошек, начиная вторым днем *p. i.*, показывал заниженные величины свободного вируса и связанного с клетками вируса. При заражении культур КЕВ или VERO вирусами бешенства в клеточной суспензии при MOI около 0,004 на клетку реплицированный внутриклеточный вирус определяли на КЕВ через 5 час. *p. i.*, но на VERO — лишь спустя 20 час. при своевременном его высвобождении в среду культивации на обоих видах тканей. На КЕВ и VERO отмечали макс. величины инфекционных титров на 4-й день *p. i.* с параллельным ходом размножения вируса на клетках и с его высвобождением в среду культивации.

ростовые свойства; инфекция культур; среда культивации

ZUFFA, T. (Bioveta, National Corp., Nitra): *The Growth of the Attenuated Strains of Canine Parvovirus, Mink Enteritis Virus, Feline Panleucopenia Virus and Canine Distemper Virus on Various Kinds of Cell Cultures.* *Veter. Med. (Praha)*, 32, 1987 (10) : 633-640.

The growth characteristics were studied in the attenuated strains of canine parvovirus CPVA-BN 80/82, mink enteritis virus MEVA-BN 63/82 and feline panleucopenia virus FPVA-BN 110/83 on the stable feline kidney cell line FE, and in the attenuated canine distemper virus CDV-F-BN 10/83 on chicken embryo cell cultures (KEB) and cultures of the stable cell line VERO. When the FE cultures were infected with different parvoviruses in cell suspension at MOI 2—4 TKID₅₀ per cell, the first multiplication of the intracellular virus was recorded 20 hours *p. i.* In the canine parvovirus, the content of intracellular and extracellular virus continued increasing parallelly until the fourth day; then, from the fourth to the sixth day, the content of extracellular virus still increased whereas that of intracellular virus fell rapidly. In the case of the mink enteritis virus the release of the virus into the culture medium continued parallelly with the production of the cellular virus until the sixth day. In the case of the feline panleucopenia virus the values concerning free virus and virus bound to cells were lower, starting from the second day *p. i.* When KEB or VERO cultures were infected in cell suspension with the canine distemper virus at MOI about 0.004 per 1 cell, the replicated intracellular virus was first recorded in the KEB cultures five hours after infection but in the VERO cultures only 20 hours after infection, with a timely release of the virus into the culture medium in both kinds of tissue. In the KEB and VERO cultures the highest values of infection titres were recorded on the fourth day *p. i.*, the course of virus multiplication on the cells being parallel with its release into the culture medium.

growth characteristics; infection of cultures; culture medium

Adresa autora:

MVDr. Tomáš Žuffa, Bioveta, n. p., 949 92 Nitra

K významnému výročí Velké říjnové socialistické revoluce

Uplynulo již sedmdesát let od doby, kdy v říjnu 1917 převzal v prvním státě na světě proletariát historickou úlohu Marxovy teorie o vybudování beztřídní společnosti, která nezná vykořisťování jednotlivců ani národů. Potvrdil se stěžejní závěr marxismu-leninismu, že dějiny společnosti nejsou souhrnem nahodilých jevů, ale že se zákonitě progresivně vyvíjejí v ostrém ideologickém boji.

V celém tomto vývojovém procesu nabývá věda stále většího významu. Není však nadřazena ostatním společenským jevům, poněvadž člověk — jako součást lidské společnosti — se stává plně svobodným, dosáhne-li sociálního a duchovního osvobození a podaří-li se mu pochopit podstatu morálního bohatství člověka a společnosti, která je zárukou jeho životních i tvůrčích jistot a sociální jednoty.

Bouřlivý rozvoj vědy v posledních desetiletích poskytl nevidané možnosti, jak využít přírodní bohatství a jak zlepšit životní podmínky všech národů i lidí. Došlo ke kvalitativnímu skoku ve výrobních vztazích a ve výrobních silách lidstva, ale také k takovým objevům, které mohou zničit všechn život na naší planetě. Je proto třeba dát moderní vědu do služeb lidu a přiblížit ji praxi tak, jak je definováno již v klasických pracích K. Marxe, B. Engelse a V. I. Lenina.

Velký říjen dal vědecké základně hlavní úkol — boj proti buržoazní ideologii, revizionismu, dogmatismu a kosmopolitismu. Základem přírodovědného a společenskovedního zkoumání se stala dialekticko-materialistická metodologie. Všechny vědní obory v prvním socialistickém státě proto začaly tvořit rozvíjet teorie vědeckého socialismu, revoluční ideály a marxismus-leninismus.

Pro veterinární medicínu se historických mezníkem staly dekrety Rady lidových komisářů, podepsané V. I. Leninem, které vycházely z jeho vytučené zásady: „Epizootie zvířat jsou nepřítelem politickým, ekonomickým a sociálním. Boj s nimi je nutno vést bojovým způsobem nejenom veterinárními pracovníky, ale všemi stranickými, státními a společenskými organizacemi.“ Z historických dokladů připomeňme alespoň dekret ze dne 19. 1. 1919 o mobilizaci veterinárních odborníků v boji s epizootiemi, dekret z 20. 8. 1919, ve kterém se ukládá všem vědeckým veterinárním ústavům a mikrobiologickým laboratorům vyrobit dostatečné množství léčebných a diagnostických látek a kvalitních vakcín za účinné a všestranné pomoci všech orgánů státní moci. Dekretem byla také založena Akademie věd a Vsesvazový institut veterinární medicíny v Kuzmínkách u Moskvy. V dalším poměrně krátkém období byla za soustavné péče strany a sovětské vlády vybudována svým rozsahem obdivuhodná síť vědeckých a výzkumných ústavů a nejdemokratičtější soustava veterinární péče na světě, která ve své podstatě představuje novou státní formu organizace veterinární činnosti v živočišné výrobě i spoluzodpovědnost za preventivní ochranu zdraví obyvatelstva.

Carismus a kapitalismus, za něhož bylo zdraví na prodej a výsledky vědy byly přístupny pouze majetným třídám, neposkytoval možnosti pro rozvoj veterinární prevence. Léčebné zákroky si platili jednotlivci a na kolektivní ochranu nebylo dostatek veřejných prostředků. Velká říjnová socialistická revoluce tuto skutečnost odstranila a nová vláda dělníků a rolníků uvolnila dostatek prostředků k velkorysé ochraně zdraví zvířat. Tím se splnily naděje předních pokrokových vědců-materialistů, kteří teprve za sovětské vlády mohli plně rozvinout svoji vědeckou erudici.

Výzkumné práce v nově se formující socialistické společnosti nabývaly mimořádného významu a přispěly ke vzniku nových vědních oborů. Uvádíme jen některé, jejichž práce měly vliv na prohlubování naší veterinární vědy a praxe. Byla to materialistická biologie, materialistická fyziologie a učení I. P. Pavlova a školy: helmintologická K. I. Skrjabina, epizootologická S. N. Vyševského, farmakologická N. A. Sošenstvenského, anatomická A. F. Klimova, anatomicko-patologická K. G. Boljova. Velmi známé a prioritní byly práce I. I. Ivanova o inseminaci hospodářských zvířat a mnoho dalších na úseku patologické fyziologie, mikrobiologie, terapie apod.

Starší i nově budovaná vědecká, výzkumná a experimentální pracoviště vycházela v přístupech a v metodice z klasických prací Marxových, Engelsových a Leninových, zejména z Leninovy práce „Materialismus a empiriokriticismus“. Věda začala naplňovat základní zákon socialismu — neustálé uspokojování životních potřeb pracujících. Změnilo se poslání odborníků a vědců, kteří postupně rozvíjeli a zdokonalovali nové obory veterinární medicíny: zoohygienu, parazitologii, pavlovovskou i patologickou fyziologii, výživu, dietetiku a další.

Vědecké poznatky I. P. Pavlova o vyšší nervové soustavě, o zvyšování dědičných znaků odolnosti a pevného zdraví, o přechodu od formální genetiky jako pasivní metody v šlechtitelské práci, ideologické vyvrácení metafyzického, idealistic-

S počtem hrdosť vzpomínáme na prvň príukopníky náší veterinární vědy
prádejské vztahy se sovětským vědci, odborníkmi i lidem. Pokrokoví veterinární
lékaři vedli zemědělskou poradnu v komunistickeém časopise "Strp.", v níž sezna-
movali naše drobné rolníky se sovětskými zkušenostmi, zejména v chovu hospo-
dářských zvířat. Akademik Koloda již na začátku 30. let udržoval osobní i písemný
stýk se sovětským anatomiem Klimovem a Akuejevským. Vůbec jedním z prvních,
velkých myslitelů, organizátorů, znalec marxistické filozofie a neúnavný propagátor
těsné kulturní a vědecké spolupráce. Po návratu ze studijní cesty do SSSR v roce
1927 zveřejnil kromě jiného, že zlepšení řízení hospodářských problémů našich
rolníků lze dosáhnout jedině socialistickou přestavbou. Také MVDr. K. Rašín při
studijní cestě do SSSR nacerpal mnoho nových poznatků, kterých využil k oboha-
cení naší parazitologie. Casopis "Zvěrolékařský obzor" i přes přísný cenzurní dohled
referoval od roku 1933 o obsahu casopisu "Sovětskája veterinarnija".

Příslušníci mladá generace zvěrolékařů si v roce 1936 pod vedením prof. MVDr.
V. Vršíše prosadili a jako vůdce první odborná delegace z Československa usku-
tečnili oficiální návštěvu veterinárních výzkumných ústavů, učilist, sovchozů a kol-
choz v SSSR. Většina z nich pak pochopila, že se zde vytvořila nová socialistická
věda a veterinární práce, svou realitou a důkladností metodologicky a ideologicky
odlišná od dosavadních vědeckých postupů.

Další přátelské a odborné styky byly přerušeny fašistickou okupací našeho
statu. Po osvobození slavnou Sovetskou armádou v roce 1945 se však nepodařilo
bezprostředně navázat na předválečné významné zkušenosti. Tak jako v celém státě
i na úseku veterinární vědy a práce došlo k ostrému názorovému tříbení postojů
a hledání pravdy, která byla zkreslována deformujícími a dezorientujícími politic-
kými vlivy. Muselo se proto začít znovu nadnou ideologickou konfrontaci v nové
budované vědecké a pedagogické poválečné základně.

V roce 1949 se pak kontakty se sovětskou vědou obnovují návštěvou profesora
Kovalenka a Svincova. V roce 1952 předávají cenne podněty pro naši veterinární
pěstí profesori a doktoři věd Kazněcov, Gribanov, Liščadev a Koropov. K další ve-
děcké spolupráci inspirovaly zejména naši mladou generaci předpavy R. I. Skryba-
bina v roce 1953 v Brně a poznamkali prof. MVDr. A. Janecká, I. Braunerová, A. Hrstky
a K. Rašina ze studijní cesty do SSSR v tomtož roce. V této souvislosti si ještě při-
pomene konferenci o přítomnosti ohniskových nákaz, která se konala v listopadu
roku 1954 v Bratislavě. Na této konferenci J. N. Pavlovskij a jeho žáci na konkrét-
ních případech prokazali význam materiálistického poznávání přírody pomocí dia-
lektické metodologie.

Po tomto období se pak již přátelské, vědecké, odborné, studijní a poradenské
styky každoročně početně i obsahově rozšiřují a v roce 1957 jsou završeny "Doho-
dou vlády SSSR a CSR o spolupráci na úseku veterinárnímu". Zasadly této dohody se
stalý podnikem k vypracování četných společných výzkumných úkolů a k výměně
zkušeností ze všech úseků veterinární medicíny.

Nevjstí podíl na tom měla výsoce aktivní veterinární sekce zemědělské ko-
mise RVHP, družby našich výsokých škol veterinárních, Československé akademie
zemědělské a výzkumných institutů s předními pracovišti v SSSR.
Tří současné době se podílíme zejména na výzkumu nových biotechnologií, molekula-
rni genetiky, imunogenetiky a embryogenetiky, účinných biopreparátů, diagnos-
tických metod, produkčních chorob, cizorodých látek, nukleární veterinární medi-
ciny i na programu Interkosmos atd. Vytvořily se nové interdisciplinární laboratoře
a výzkumná pracoviště.

Velká třídní sociálistická revoluce přinesla nejen revoluční zvrat ve vývoji
a uspořádání lidské společnosti, ale poskytl a boji nového se starým i nebyvalé
možnosti pro tvůrčí činnost ve veterinární medicíně. Vytvořil se velký ekonomický
vědeckotechnický a intelektuální potenciál, který přispěl k likvidaci mnoha nebez-
pečných nákaz, parazitů a hromadných onemocnění zvířat i ke zlepšení biologické
a zdravotní hodnoty potravin.

Přejme si proto, aby sovětská i naše veterinární věda a práce dále rozvíjely
myšlenky Velkého třídní ve jménu zdraví člověka a trvaleho míru.

VÝSLEDKY APLIKACE NECHIRURGICKÉHO TRASFERU EMBRYÍ U SKOTU V CHOVATELSKÉ PRAXI

L. Holý a kol.

HOLÝ, L. a kol. (Vysoká škola veterinární, Brno): *Výsledky aplikace nechirurgického transferu embryí u skotu v chovatelské praxi*. Veter. Med. (Praha), 32, 1987 (11) : 643-653.

V práci jsou analyzovány výsledky superovulační stimulace dárkyň a nechirurgického přenosu embryí u skotu. Po superovulaci vyvolané PMSG (Bioveta, Ivanovice na Hané) jsme dosahovali zisku 6,2, resp. 6,3 vajíček a embryí, z nichž bylo 66 až 70 %, tj. 4,2, resp. 4,3 embryí využitelných. Při kombinaci PMSG s antigonadotropinem (Antisergon, Bioveta, Ivanovice na Hané) se embrya jen poněkud zkvalitnila a zvýšila se jejich využitelnost. Po úpravě doby podání Antisergonu se zisk u vajíček a embryí zvýšil na 10,3 s 82,3% využitelností (8,5 embryí na superovulaci a dárkyni). Po stimulaci superovulace Folicitropinem (Léčiva, Praha) jsme získávali 12,7 vajíček s využitelností 10,1 embryí (79,8 %) a po použití FSH-P (Burns-Biotec) bylo na superovulaci získáno 13,8, resp. 10,9 embryí. Nekrvavý transfer embryí jsme v průběhu posledních dvou a půl let provedli celkem u 1321 příjemců. V roce 1984 dosahovala koncepce 52,4 %, v roce 1985 se průměr přežívání zvýšil na 58,33 % a v první polovině roku 1986 dosahoval 65,5 %.

superovulace; ipsilaterální přenos; embryo

Biotechnická metoda transferu embryí se v posledních letech úspěšně šíří po celém světě a zaujímá v řízené reprodukci a chovatelské praxi stále konkrétnější postavení. Největšího rozmachu dosáhla tato metoda v Severní Americe, zejména ve Spojených státech, a zdá se, že kvota 100 000 transferů ročně zde není číslem konečným (Hahn, 1985a). Podle předběžných odhadů má v roce 1990 v těchto podmínkách dosáhnout počet přenosů čísla 500 000 a více (Morales, 1985). V západní Evropě odhaduje Hahn (1985a) dosavadní počet transferů na 25 000 až 30 000 ročně a rovněž potvrzuje, že i zde je zjevná tendence k jeho intenzivnějšímu využívání.

V posledních několika letech vyvíjejí ve směru transferu embryí velkou aktivitu také země RVHP, především v rámci mohutného rozvoje a aplikace nových biotechnologií. Využívání této metody v socialistických velkochovech s velkými koncentracemi a řízeným chovem zvířat je významnou předností a je pro rozvoj této biotechniky i pro její široké uplatnění nezbytnou podmínkou (Holý, 1986a).

Základním znakem současného transferu embryí je především změna jeho provozní realizace. Z dřívějšího centrálního pojetí se transfer postupně decentralizuje a dostává se přímo do jednotlivých podniků, kde se zapojuje do systému řízené reprodukce podle společenských potřeb

a chovatelských záměrů. Tím také dochází k podstatnému snižování realizačních nákladů i k výhodné kombinaci transferu s klasickým způsobem reprodukce především u jalovic, které jsou hlavním zdrojem příjemců.

Obecně platí, že transfer embryí je metodou k urychlení procesu zlepšování užitkových vlastností zvířat a ke zvýšení počtu potomstva od osvědčených krav. Proto se tato metoda stává důležitým nástrojem genetické manipulace s jedinečnou možností zásahu do zušlechťovacích programů jednotlivých stád a populací [Brackett aj., 1981; Adams, 1982; Shea aj., 1984; Massey a Oden, 1984; Donaldson, 1984a; Hahn, 1985a, b; Roselius, 1985; Baum, 1986; König a Rothe, 1986; Rommel aj., 1986; Holý, 1986a a další]. Při systematickém uplatňování této metody je také možné urychlit chovatelský pokrok [Wideman, 1982; Hahn, 1985b; Baumung, 1986] a stane-li se v průběhu příštích let transfer embryí organickou a systematickou součástí řízené reprodukce, bude možné krýt celý obrát stáda z elitní části 15 až 20 % stáda [Holý, 1986a].

Další výhodou, kterou transfer embryí u skotu nabízí, je možnost zvyšovat natalitu, aniž by se zvyšovaly stavy krav — cestou umělé indukce neidentických a identických dvojčat [Sreenan a Behan, 1974, 1976; Anderson aj., 1976, 1980, 1982; Renard aj., 1977; Betteridge, 1977; Tervit aj., 1977; Heyman aj., 1978; Newcomb aj., 1978; Newcomb, 1980; Holý aj., 1980; Pivko aj., 1982; Fulka aj., 1983 a další]. Tento způsob povýšení uniparity skotu na řízenou biparitu je vysoce aktuální zejména v současné době, kdy je zajišťování produkce zástavového skotu velmi vážným problémem výroby.

V předkládané práci jsme se zabývali problematikou superovulace a aplikací nekrvavého transferu embryí jako součástí řízené reprodukce v podmínkách chovatelské a výrobní praxe.

MATERIÁL A METODY

Dárkyně a příjemkyně jsme vybírali z fondu stád spolupracujících podniků Jm., Sm., Vč. kraje, kde jsme aplikovali nekrvavý způsob transferu embryí v rámci vědeckovýzkumné činnosti naší vysoké školy.

Superovulační stimulaci dárkyň jsme zajišťovali buď PMSG domácí nebo zahraniční proveniencí, někdy v kombinaci s antigonadotropními faktory (Antisergon, Bioveta, Ivanovice na Hané), nebo za pomoci FSH-P domácí výroby (Foliotropin, Spofa) nebo výroby zahraniční (Burns-Biotec, USA).

PMSG byl podáván jednorázově v dávce od 2000 do 3500 M. J. i. m. uprostřed cyklu (D_{8-12}), vždy na žluté tělísko potvrzené rektálním vyšetřením, s následnou luteolýzou za 48 a 60 hodin po vstupní gonadotropní injekci. Pokud byl aplikován Antisergon, byl podáván buď v době první inseminace, nebo o 10 až 12 hodin později.

Preparáty FSH-P jsme vyvolávali superovulaci v délce čtyř dnů sérií osmi injekcí a celkovou sestupnou dávkou 33 až 50 mg. Pokud byl používán Foliotropin (Spofa), který je adjustován v lahvičkách po 10 K. J., ustálili jsme se na dávkování 2—2, 2—2, 1—1, 1—1, popřípadě u větších krav 2—2, 2—2, 2—1, 1—1 nebo 2—2, 2—2, 2—2, 1—1 lahviček (dávek). Luteolýza byla prováděna Oestrophanem v dávce 2 ml, podávaným i. m. s pátou a šestou injekcí FSH-P. Gonadotropní stimulaci jsme dělali dvakrát denně, vždy v 7.00 a 19.00 hodin.

Inseminaci dvojitou dávkou zmrazeného semena zajišťovala plemenářská služba zhruba za 56 hodin po první aplikaci luteolytik se dvěma následnými reinseminacemi ve 12hodinových intervalech.

Embrya jsme odebírali výplachem děložních rohů roztokem PBS s přídavkem 10% desaktivovaného fetálního séra skotu výhradně samospádovou metodou, větší-

nou v D₇ cyklu a vhodnost embryí byla posuzována morfologicky podle předem stanovených kritérií. Za příjemce jsme volili jalovice se synchronizací cyklu na ± jeden den a ipsilaterální přenos jsme uskutečnili za malé epidurální anestze a zásadně bez použití uterus-relaxancií.

VÝSLEDKY

Celkem jsme vyhodnotili 608 využitých superovulací, což odpovídá 70 až 85 % efektivitě ze všech superovulovaných dárkyň. V počátečních fázích vědeckovýzkumné činnosti, kdy jsme superovulaci vyvolávali výhradně PMSG domácího původu (tab. I), jsme od 264 dárkyň získávali 6,2 vajíček, resp. embryí s využitelností 4,3 (70 %) embryí pro další přenos nebo jiné zpracování.

Při dostupnosti antigonadotropního přípravku Antisergon jsme tento preparát využili u 49 superovulací proti 191 kontrolám (tab. I). V kombinaci PMSG s Antisergonem se zisk vajíček a embryí pohyboval kolem 6,4, u kontrol kolem 6,3, při poměru využitelnosti embryí 4,8 : 4,2 (75 : 66 %). Antigonadotropní ošetření tedy ovlivnilo především vyšší využitelnosti embryí.

V průběhu posledního roku, zejména po zpřísnění výběru a přípravy dárkyň, ale i po zlepšení kvality jednotlivých biopreparátů, jsme po podání PMGS v kombinaci s Antisergonem získávali výrazně lepší výsledky, které uvádíme v tab. I pod čarou spolu s hodnocením vlivu gonadotropinů na bázi FSH-P. Z tabulky je patrné, že po podání PMSG (Bioveta, Ivanovice na Hané) a po změně doby aplikace Antisergonu jsme získávali v průměru 10,3 vajíček a embryí, z nichž 8,5, tj. 82 %, bylo využitelných.

I. Výsledky superovulace po aplikaci sérových a hypofyzárních gonadotropinů — Results of superovulation after the administration of serum and pituitary gonadotropins

Typ gonadotropinu	Počet hodnocených superovulací	Počet C. L. na vaječnicích	Zisk embryí na dárkyňi (výťažnost v %)	Vhodných embryí na dárkyňi	Potenciální počet telat z jedné superovulace	Procento vhodných embryí
PMSG Bioveta, ČSSR	264	9,0	6,2 (68,8 %)	4,3	2,15–2,58	70,0
PMSG, Bioveta, ČSSR – bez použití Antisergonu	191	8,8	6,3 (71,59 %)	4,2	2,10–2,52	66,0
PMSG, Bioveta, ČSSR – v kombinaci s Antisergonem	49	8,0	6,4 (80,00 %)	4,8	2,40–2,88	75,0
PMSG, Bioveta, ČSSR – v kombinaci s Antisergonem (1986), 3000 m. j.	23	9,1	10,3 (111,95 %)	8,5	5,52	82,3
Folicitropin, Spofa, ČSSR	43	10,6	12,7 (119,81 %)	10,1	6,58	79,8
FSH - BURNS - Biotec, USA	38	11,63	13,8 (118,65 %)	10,9	7,10	79,1

Při použití preparátů typu FSH-P byl efekt superovulace ještě výraznější. Po podání Foliotropinu (Spofa) bylo při efektivitě výtěžnosti kolem 120 % získáno od 43 vhodně reagujících dárkyň v průměru 12,7 vajíček a embryí, z nichž 10,1 bylo použitelných (79,8 %).

Účinek hypofyzárního přípravku FSH-P Burns-Biotec (USA) jsme vyhodnotili u 38 superovulací, které představují 85 % z počtu stimulovaných. Pozornost věnovaná přípravě a výběru dárkyň byla korunována ziskem 13,8 vajíček a embryí a využitelností 10,9 embryí na jednu superovulaci (79,1 %).

Propracování nekrvavého odběru a ipsilaterálního přenosu embryí, vývoj a výroba vhodného a biologicky neškodného instrumentária z tuzemských materiálů, jakož i podstatné zlepšení systému výběru, přípravy a ošetření dárců a příjemců, zdokonalení selekce a posuzování kvality embryí vedlo k tomu, že jsme v kooperujících podnicích mohli zavést transfer embryí systematicky a ve větším rozsahu s výsledky, které uvádíme v tab. II.

V průběhu roku 1984 jsme uskutečnili celkem 267 ipsilaterálních nekrvavých přenosů s průměrnou efektivitou přežívání 52,4 %. Výkyvy v koncepci od 38,7 do 66 % úzce souvisely především s úrovní přípravy příjemců, která byla většinou podceňována.

V prvních sedmi měsících roku 1985 jsme transplantační aktivitu podstatně zvýšili a reolizovali jsme 301 přenosů s 55,1% efektivitou. Od druhé poloviny roku 1985 jsme celý transplantační proces dále zdokonalovali, zejména pokud jde o přípravu dárců a příjemců. Provedli jsme 203 přenosů, z nichž koncipovalo 128 zvířat, tj. 63,1 %. Výsledky se vyznačovaly značnou stabilizací a nepoklesly pod 58 %. Za rok 1985 náš kolektiv tedy uskutečnil celkem 504 transfery, z nichž zabřezlo 294 příjemeček, tj. 58,3 %, při variabilitě koncepcí od 47,5 do 100 %.

V první polovině roku 1986 jsme uskutečnili dalších 550 ipsilaterálních přenosů s průměrnou efektivitou 65,5 % a variabilitou zabřezávání od 54 do 87,5 %.

Celkem jsme tedy v průběhu roku 1984, 1985 a první poloviny roku 1986 provedli 1321 ipsilaterálních nekrvavých přenosů, z nichž zabřezlo 794 příjemeček, tj. 60,1 %, s nejvýraznějším trendem vzestupu efektivity a intenzitou zapojení této metody do procesu řízené reprodukce v JZD Sloupnice, okr. Ústí n. Orlicí, kde se v roce 1986 zvýšila úroveň přežívání embryí na 69,9 %.

DISKUSE

Výsledky ipsilaterálního nekrvavého transferu embryí, dosahované ve spolupráci s kooperujícími socialistickými podniky, lze považovat za uspokojivé a srovnatelné s renomovanými zahraničními pracovišti. Přispělo k tomu zejména to, že se významným způsobem zlepšila exaktnost práce a činnost našeho zázemí, tj. externích spolupracovníků a kooperujících zemědělských podniků, které pochopily nutnost systematické práce s vědomím, že sporadicky využívaný transfer může přinést jen sporadický — tj. dílčí — efekt, který nedovolí plné uplatnění a rozvoj této metody v reprodukční a chovatelské praxi.

II. Výsledky zabřezávání po nekrvavém ipsilaterálním přenosu embryí v průběhu let 1984 až 1986 — The results of conception after non-surgical ipsilateral embryo transfer in 1984 to 1986

Podnik	1984			1985						1986			Poznámka
				I. – VII.			VIII. – XII.						
	počet přenosů	bře- zích	procen- to bře- zosti	počet přenosů	bře- zích	procen- to bře- zosti	počet přenosů	bře- zích	procen- to bře- zosti	počet přenosů	bře- zích	procen- to bře- zosti	
Sloupnice	93	43	46,2	109	61	55,9	75	44	58,6	246	172	69,9	do 24. 7.
Nový Jičín	57	33	57,9	53	29	54,7	38	26	68,4	50	27	54,0	do 7. 7.
Brumovice	19	11	57,9	40	24	60,0	24	15	62,5	79	50	63,3	do 23. 7.
Kooperace Nivnice, Vlčov, Bánov	32	16	50,0	49	17	34,7	46	28	60,8	80	48	60,0	do 30. 6.
Prušánky				50	35	70,0	14	9	64,2	63	39	61,9	do 15. 7.
Maleč										8	7	87,5	
PLR Akademia Rolnicza, Poznaň							6	6	100,0	24	17	70,8	
SS Šumava	12	8	66,6										
Otice	31	12	38,7										
Slušovice	23	14	60,8										
Celkem	267	140	52,4	301	166	55,1	203	128	63,1	550	360	65,5	
→ Σ										1321	794	60,1	

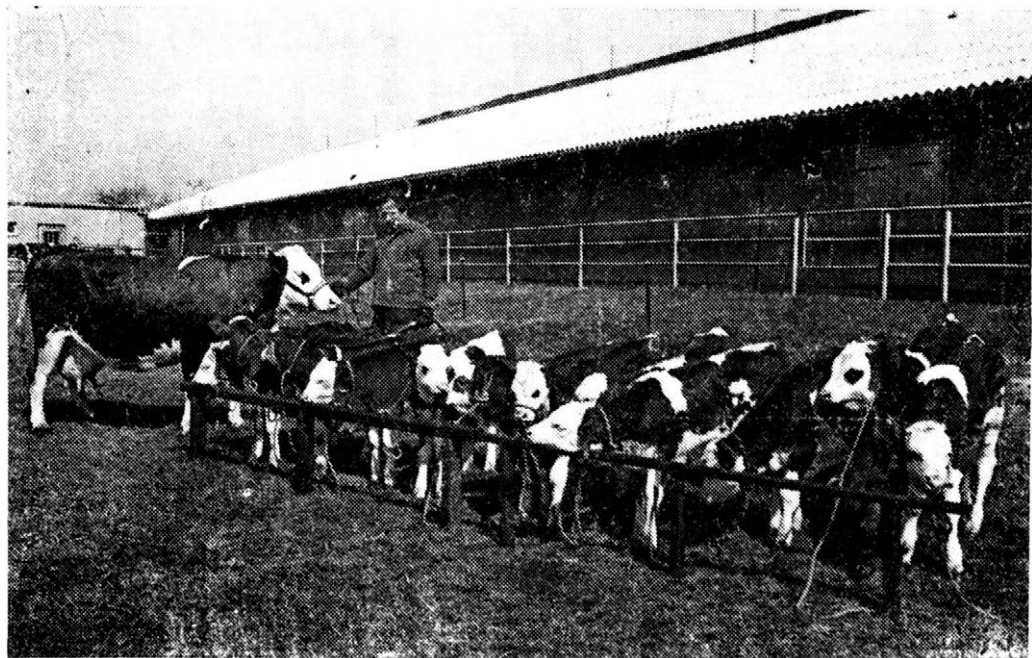
Předmětem častých diskusí, zejména v souvislosti s nízkou odpovědí dárce na gonadotropní stimulaci nebo při nedostatečné produkci a zisku embryí, bývá druh, kvalita, vhodnost a účinnost jednotlivých gonadotropních přípravků. Souhlasíme plně s názorem, který vyslovili Görlach aj. (1985) a další, že mezi jednotlivými hormonálními přípravky, pokud jsou svým obsahem biologicky hodnotné a účinné, není podstatných rozdílů, i když se zdá, že preparáty na bázi FSH-P poskytují jistější, vyhraněnější a početnější reakci. Lze také potvrdit skutečnost, že při superovulační odezvě záleží spíše na kvalitě dárce, tj. na jejich biologické přípravě, zdraví a výběru, než na druhu gonadotropních přípravků (Donaldson, 1982).

Využívání PMGS antigonadotropinů má zlepšit nejen kvalitu a efektivitu superovulace, ale i výtěžnost a využitelnost embryí (Dhont aj., 1978; Bouters aj., 1982, 1983a, b; Rommel aj., 1986 a další). Efekt těchto přípravků zřejmě závisí na době jejich podání v návaznosti na luteolytika. V našem případě se tento efekt výrazněji projevil až při pozdějším podání Antisergonu, zejména pokud jde o zlepšení využitelnosti embryí (tab. I).

Hodnocení superovulační reakce v době odběru klinickou či jinou cestou je jen relativní a je tím méně přesné, čím je ovariální reakce větší. Při stimulaci dárce PMSG bývají na vaječníku reakce bouřlivější a rovněž žlutá tělíska nabývají větších dimenzí než po FSH-P, čemuž odpovídají i hladiny progesteronu. Po stimulaci FSH jsou žlutá tělíska nápadně menší, což také snižuje velikost vaječníku i hladiny krevního progesteronu. Právě tyto skutečnosti asi zlepšují výtěžnost, kvalitu i využitelnost embryí (Elsden, 1980; Donaldson, 1982 a další) po podání přípravků FSH-P.

V souvislosti s disproporcemi mezi klinickým hodnocením superovulačního efektu a ziskem embryí je také třeba brát v úvahu, že po proběhlé superovulaci se některá žlutá tělíska vůbec nemusí vyvinout, nebo podlehnou rychlé regresi. Na vaječníku může z původního počtu ovulací zůstat jen redukované množství funkčních luteálních útvarů, takže zisk embryí může být vyšší, než je odhadnutý počet žlutých tělísek na vaječníku. Tohoto fenoménu, na který poprvé upozornili Bouters aj. (1980), jsme si v průběhu vědeckovýzkumné činnosti všimli i my a domníváme se, že jde buď o důsledek nedostatečného luteinizačního impulsu, nebo o nedostatek LH receptorů ve vaječníku, či o insuficienci luteální tkáně blíže neobjasněnou. Z uvedených důvodů považujeme klinické posouzení postsuperovulačního vaječníku jen za vyšetření orientační, které využíváme především pro posouzení povahy reakce a vhodnosti dárce k odběru, nikoliv pro prognózu zisku embryí. Je sice pravda, že početnější superovulační reakce dávají předpoklady k větší produkci embryí, ale i při menších reakcích lze získat počet embryí vyšší, než je počet žlutých tělísek na vaječníku. V našich pokusech byl zisk embryí v poslední době zhruba o 20 % vyšší než počet žlutých tělísek zjišťovaných na vaječnicích (tab. I).

V rámci superovulace a jejího efektu je stále otevřenou otázkou moment hormonální stimulace dárce ve vztahu k poslednímu porodu. V rozporu s autory Greve a Lehn-Jensen (1977) jsme zjistili, že výhodnější jsou superovulace uskutečněné do 60 poporodních dnů, protože



1. Dárkyně č. 68 102 z JZD Sloupnice byla po porodu šestého telete za dva měsíce superovulována, z čehož po nekrvavém transferu vzešlo 13 telat. Za měsíc po odběru embryí kráva znovu zabřezla a porodila vlastní tele — jalovičku. Za 62 dní po porodu byla superovulace opakována a bylo z ní získáno dalších 19 březostí — Donor no. 68 102 from the Sloupnice co-operative farm was superovulated two months after the birth of her sixth calf; thirteen calves were then produced after non-surgical transfer from the superovulation. A month after embryo collection the cow got in calf again and bore her own heifer calf. Sixty-two days later superovulation was repeated and another 19 pregnancies were obtained

dárkyně produkují více embryí, lépe zabřezávají a jejich návratnost do reprodukčního procesu je rychlejší (Holý aj., 1987a, b).

Při příležitosti vyhodnocování výsledků transferu je pro správné posuzování jeho efektivity nutno připomenout, že pouhé a výhradní sdělování úrovně přežívání embryí bez znalostí efektivity superovulace poskytuje informace neúplné a mnohdy i desorientující. Jestliže se, například, přenese deset embryí s 50% přežitelností, je to výsledek dobrý. Je-li však těchto deset embryí získáno od pěti dárkyň, pak jde o efekt nedostatečný a neúčelný, protože se z jedné využitě superovulace získává de facto jediná březost, která je přirozeně vysoce nákladná a posunuje transfer do neekonomických dimenzí.

Efektivitu superovulace, a tím i transferu vůbec, jsme v poslední době výrazně zlepšili tím, že jsme zvýšili výtěžnost na 8,5 až 10,9 vhodných embryí (tab. I), z nichž je při současné dosahované přežitelnosti potenciálně možný zisk 5,5 až 7,1 březostí na jednu superovulaci. Dnes již není výjimkou, že z jedné superovulace přenášíme 15 a více embryí a získáváme 12 až 19 březostí, resp. telat (obr.1).

S úrovní superovulace a s efektivitou transferu embryí vůbec souvisí nakonec i otázka jeho využitelnosti jako nástroje genetické manipulace a opatření ke zlepšení zušlechťovacích programů jednotlivých stád. Sta-

ne-li se v průběhu příštích let transfer embryí organickou a systematickou součástí řízené reprodukce jalovic a krav (Kliever, 1986; Dickerson, 1986) a dosáhne-li se z jedné využití superovulace pěti až šesti březostí, resp. telat, pak při zařazení do transplantačního procesu elity stáda, tj. 15 až 20 % krav, bude možné krýt celý obrat stáda tímto způsobem (Holý, 1986). Bude-li zajišťován vstup jalovic do reprodukčního procesu v plném rozsahu transferem embryí, pak lze stádo nahradit kvalitním potomstvem během několika málo let. Méně vhodných kategorií plemenic ze stáda pak bude možné využít k řízené produkci dvojčat pro pokrytí potřeb výroby masa.

Výsledky dosažené ve výtěžnosti a přežitelnosti embryí jsou nejen uspokojivé, ale i velmi perspektivní a jsou srovnatelné s mnoha významnými světovými pracovišti, která rozvíjejí transfer embryí jako neoddelitelnou součást řízené reprodukce (Donaldson, 1982, 1984; Sheaja, 1984; Hahn, 1984, 1985; Rommelaj, 1986; König a Rothe, 1986 a další). Aby se tato metoda v chovu mohla plně uplatnit a aby ve větší nebo menší míře mohla nahrazovat klasickou metodu rozmnožování zvířat, bude třeba nejen vytvořit žádoucí podmínky a přehodnotit dosavadní možnosti, ale i vypracovat takový systém organizace a realizace transferu, který by odpovídal jak zájmům podniků, tak i potřebám výroby i požadavkům vědeckotechnické revoluce na přechodu do třetího tisíciletí.

Literatura

- ADAMS, L. E.: Mammalian egg transfer. Florida, CRC, Press Boca Raton 1982.
- ANDERSON, G. B. — DURANT, R. — CUPPS, P. T.: Induction of twins in different breeds of cattle. *J. anim. Sci.*, Vol. 54 B, 1982, s. 1234.
- ANDERSON, G. B. — BRUCE, B. — DURANT, R. — CUPPS, P. T. — THOMAS, P.: Use of embryo transfer for the production of twins in beef cattle. 9th Int. Congr. Anim. Reprod., Vol. 3, 1980, s. 454.
- ANDERSON, G. B. — CUPPS, P. T. — DROST, M. — HORTON, M. B. — WRIGHT, R. W.: Induced twinning in beef heifers by embryo transfer. *J. anim. Sci.*, 43, 1976, s. 272.
- BAUM, N.: Anwendung des Embryotransfers im Rahmen des Zuchtprogrammes für die Intensivierung der Rinderzüchtung in der DDR. *Tierzucht*, 5, 1986, s. 194-195.
- BAUMUNG, A.: Die züchterische Nutzung des ETR zur Erweiterung des reproduktiven Potentials und Erhöhung der Selektionsintensität. *Tierzucht*, 5, 1986, s. 202-204.
- BETTERIDGE, K. J.: Embryo transfer in farm animals. *Dep. Agric. Can.*, 1977, s. 8.
- BOUTERS, R. — MOYAERT, I. — CORYN, M. — SPINCEMAILLA, J. — VANDERPLASSCHE, M.: Premature regression of the corpora lutea in superovulated cows. *Theriogenology*, 14, 1980, s. 207-216.
- BOUTERS, R. — MOYAERT, I. — CORYN, M. — VANDEPLASSCHE, M.: Pathogenesis of premature luteal regression in superovulated cows. 2. Congr. Internat. Transp. d'embryons, Annecy, 1982, s. 63-64.
- BOUTERS, R. — MOYAERT, M. — CORYN, M. — VANDERPLASSCHE, M.: The use of PMSG antiserum in superovulated cattle: Endocrinological changes and effects on timing of ovulation. *Zuchthygiene*, 18, 1983a, s. 172-177.
- BOUTERS, R. — MOYAERT, I. — CORYN, M. — VANDERPLASSCHE, M.: Weitere Erfahrungen mit einem PMSG-Antiserum bei superovulierten Rindern. *Veter.-Humanmed. Tagung, München 1983b*, s. 18.
- BRACKETT, B. G. — SEIDEL, G. E. — SEIDEL, S. M.: New technologies in animal breeding. New York, London, Paris, San Diego, San Francisco, Sao Paulo, Sydney, Tokyo, Toronto, Acad. Press 1981.
- DHONT, D. — BOUTERS, R. — SPINCEMAILLE, J. — CORYN, M. — VANDE-

- PLASSCHE, M.: The control of superovulation in the bovine with a PMSG-antiserum. *Theriogenology*, 9, 1978, č. 6, s. 529-534.
- DICKERSON, G. E.: Plemenářské programy pro 3. tisíciletí. Mezinár. Symp.: Skot pro 3. tisíciletí, Slušovice 1986, s. 81.
- DONALDSON, L. E.: Embryo transfer in cattle. San Antonio, Texas, 1982, s. 54.
- DONALDSON, L. E.: The day of the estrous cycle that FSH is started and superovulation in cattle. *Theriogenology*, 21, 1984a, č. 1, s. 97.
- DONALDSON, L. E.: Effect of age of donor cows on embryo production. *Theriogenology*, 21, 1984, č. 6, s. 963.
- DONALDSON, L. E.: Cattle breed as a source of variation in embryo transfer. *Theriogenology*, 21, 1984b, č. 6, s. 1013.
- ELSDEN, R. P.: Bovine embryo transfer. Soc. Theriogen., Proc. Amer. Meet., Omaha, Nebraska, 1980, s. 10-12.
- FULKA, J. — PAVLOK, A. — MOTLÍK, J. — PIVKO, J.: Přenos embryí skotu izolovaných z odpořazených dárčů a kultivovaných v králíčích vejcovodech. *Živoč. Vyr.*, 28, 1983, č. 2, s. 133-138.
- GÖRLACH, A.: Ergebnisse des Embryotransfers (ET) beim Besamungsverein. Neustadt a. d. Aisch E. V. (BVN). Zuchtwahl u. Besam., 1985, s. 108.
- GREVE, T. — LEHN-JENSEN, H.: Fertility of high yielding dairy cows following superovulation and non surgical recovery of embryos. *Theriogenology*, 9, 1977, s. 353-362.
- HAHN, J.: Embryotransfer der zeitiger Stand und Zielsetzung aus veterinärmedizinischer Sicht. Zuchtwahl u. Besam., 1985, č. 2, s. 108.
- HAHN, R.: Embryotransfer beim Besamungsverein. Neustadt a. d. Aisch E. V. Organisation und Kosten. Zuchtwahl u. Besam., 1985b, č. 5, s. 108.
- HEYMAN, Y. — RENARD, J. P. — OZIL, J. P. — DU MESNIL DU BUISSON: Cervical embryo transfer at different stages in cattle. V. Control of reproduction in the cow. The Hague, Sreenan J. M. 1978.
- HOLÝ, L.: Využití transferu embryí při zajišťování výroby mléka a masa. Mezinár. Symp.: Skot pro 3. tisíciletí. Slušovice 1986a.
- HOLÝ, L.: Planmässige Zwillingsproduktion unter Nutzung des Embryotransfers beim Rind. Tierzucht, 5, 1986b, s. 206.
- HOLÝ, L. a kol.: Ovulace, vajíčko a jeho vlastnosti a vývoj v různém prostředí. [Závěrečná zpráva výzkumného úkolu.] Brno, Vysoká škola veterinární 1986.
- HOLÝ, L. — JIRÍČEK, A. — ŽÁK, M. — MAXIÁN, A.: Vztah superovulace a odběru embryí k mléčné produkci krav-dárkyň. *Živoč. Vyr.*, 32, 1986, č. 3, s. 233-237.
- HOLÝ, L. — JIRÍČEK, A. — ŽÁK, M. — MAXIÁN, A.: Superovulace a výplach dělohy ve vztahu k následné koncepci krav-dárkyň. *Veter. Med. (Praha)*, 32, 1987, č. 6, s. 321-330.
- HOLÝ, L. — VAŇATKA, F. — VRTĚL, M. — JIRÍČEK, A. — KUDELKA, E. — HOLOMEK, I.: Krvavý a nekrvavý přenos embryí do kontralaterálního rohu u inseminovaných příjemců ve vztahu ke koncepci a produkci dvojčat. *Živoč. Vyr.*, 25, 1980, s. 431-439.
- KLIEWER, R. H.: Šlechtění dojného skotu pro 3. tisíciletí v USA. Mezinár. Symp.: Skot pro 3. tisíciletí. Slušovice 1986, s. 99.
- KÖNIG, I. — ROTHE, K.: Stand und Ergebnisse des Embryotransfers in der DDR. Tierzucht, 5, 1986, s. 196-197.
- MASSEY, J. M. — ODEN, A. J.: No seasonal effect on embryo donor performance on the Southwest region of the USA. *Theriogenology*, 21, 1984, č. 1, s. 196.
- MORALES, J.: Situación actual y proyecciones del transplante de embriones en Cuba Habana. CIMA 1986.
- NEWCOMB, R.: Investigation of factors affecting superovulation and non-surgical embryo recovery from lactating British Friesian cows. *Veter. Rec.*, 106, 1980, s. 48.
- NEWCOMB, R. — CHRISTIE, W. B. — ROWSON, L. E. A.: Non surgical recovery of bovine embryos. *Veter. Rec.*, 1978, s. 102-114.
- PIVKO, J. — FULKA, J. — MOTLÍK, J. — PAVLOK, A. — TOMÁNEK, M. — MAJERČIAK, P. — GRAFENAU, P. — VANČIŠIN, J.: Přenos embryí hovädzieho dobytku pri riadenej produkcii dvojčiek. *Veter. Med. (Praha)*, 27, 1982, č. 7, s. 395-404.
- RENARD, J. P. — HEYMAN, Y. — DU MESNIL DU BUISSON, F.: Unilateral and bilateral cervical transfer of bovine embryos at the blastocyst stage. *Theriogenology*, 7, 1977, s. 189-194.
- ROMMEL, P. — REHBOCK, F. — KANITZ, W.: Superovulation, Besamung und Embryotransfer beim Rind. Tierzucht, 5, 1986, s. 197-198.

- ROSELIUS, R.: Transferergebnisse mit Rinderembryonen in Nüchel/Bremerhaven 1983/1984. Dtsch. tierärztl. Wschr., 92, 1985, č. 1, s. 11-12.
- SHEA, B. F. — JANZEN, R. E. — McDERMANT, D. P.: Seasonal variation in response to stimulation and related embryo transfer procedure in Alberta over a nine year period. Theriogenology, 21, 1984, č. 1, s. 186.
- SREENAN, J. M. — BEEHAN, D.: Egg transfer in the cows; pregnancy rate and egg survival. J. Reprod. Fertil., 41, 1974, s. 497.
- SREENAN, J. M. — BEEHAN, D.: Effect of site of transfer on pregnancy and twinning rates following bilateral egg transfer in the cow. J. Reprod. Fertil., 48, 1976, s. 223.
- SREENAN, J. M. — BEEHAN, D.: Methods of induction of superovulation in the cow and transfer results. V: Transfer in cattle. Rowson I. E. A. Luxembourg, 1976, s. 19.
- TERVIT, H. R. — HAVIK, P. G. — SMITH, J. F.: Egg transfer in cattle, pregnancy rate following transfer to the uterine horn ipsilateral or contralateral to the functional corpus luteum. Theriogenology, 7, 1977, s. 3-10.
- WIDEMAN, D.: The genetic basis for embryo transfer. In: Embryo transfer in cattle. San Antonio, Texas, L. E. Donaldson 1982.

Došlo dne 10. 2. 1987

ГОЛЫ, Л. и колл. (Институт ветеринарии, Брно): Результаты бескровной пересадки эмбрионов крупного рогатого скота в животноводческой практике. Veter. Med. (Praha), 32, (11) 643-653.

Анализируются результаты суперовуляционного стимулирования доноров и бескровной пересадки. Суперовуляция, вызванная PMSG (Биовета, Ивановице на Гане), дала прибыль в 6,2 или 6,3 яиц и эмбрионов, из которых 66—70% (т. е. 4,2 и 4,3) эмбрионов годны для использования. При комбинации PMSG с антигонадотропином (Антисергон, Биовета, Ивановице на Гане) качество эмбрионов несколько повысилось, как и их применимость. После упорядочения срока дачи Антисергона упомянутая прибыль возросла до 10,3 с 82,3% применимости (8,5 эмбрионов на суперовуляцию и донора). После стимулирования Фолитропином (Лечива, Прага) получили 12,7 яиц с применимостью 10,1 эмбриона (79,8%), а после FSH-P (Бурна-Биотек) — 13,8 и 10,9 эмбрионов. Бескровную пересадку провели за последние два с половиной года у 1321 реципиентки. В 1984 г. зачатие составило 52,4%, в 1985 г. — 58,33%, а в первой половине 1986 г. — 65,5%.

суперовуляция; ипсилатеральная пересадка; эмбрион

HOLÝ, L. et al. (University of Veterinary Medicine, Brno): The Results of the Practical Use of Non-surgical Embryo Transfer in Cattle. Veter. Med. (Praha), 32, 1987 (11) : 643-653.

The results are analyzed of superovulation stimulation in the donors and the non-surgical embryo transfer in cattle. After superovulation induced by means of PMSG (Bioveta, Ivanovice in Haná) 6.2 and 6.3 ova and embryos were obtained, of which 66 to 70%, i. e. 4.2 and 4.3 embryos, respectively, were applicable in transfer. When the combination of PMSG with antigonadotropin (Antiserгон, Bioveta, Ivanovice in Haná) was used, the embryos had somewhat better quality and their applicability was increased. After adjustment of the time of Antiserгон administration the number of recovered ova and embryos was increased to 10.3 with 82.3% applicability (8.5 embryos per superovulation/donor). After superovulation stimulated with Follicotropin (Léčiva, Praha) the yield of ova was 12.7, and 10.1 of the embryos (79.8%) were applicable. After the use of FSH-P (Burna-Biotec) 13.8 and 10.9 embryos were obtained per one superovulation. Non-surgical embryo transfer was performed in 1321 recipients over the last two years and a half. In 1984 the conception rate was 52.4%, in 1985 the average survival increased to 58.33% and in the first half of 1986 it reached 65.5%.

superovulation; ipsilateral transfer; embryo

HOLÝ, L. (Veterinärmedizinische Hochschule, Brno): *Ergebnisse der Applikation der sog. unblutigen Übertragung von Rinderembryonen in der tierzüchterischen Praxis*. Veter. Med. (Praha), 32, 1987 (11) : 643-653.

In der vorliegenden Arbeit werden die Ergebnisse der Superovulationsstimulierung der Spender-Kühe und der unblutigen Übertragung von Rinderembryonen analysiert. Nach einer durch die PMSG-Wirkung hervorgerufenen Superovulation (Bioveta, Ivanovice na Hané) erreichten wir einen Gewinn von 6,2 bzw. 6,3 Eiern und Embryonen, von denen 66 bis 70 %, d. h. 4,2 bzw. 4,3 Embryonen benutzbar waren. Bei einer Kombination von PMSG und Antigonadotropin (Antiseragon, Bioveta, Ivanovice na Hané) wiesen die Embryonen nur eine relativ höhere Qualität auf und ihre Ausnutzbarkeit stieg etwas an. Nach der Regelung der Verabreichung von Antiseragon konnte der Gewinn bei Eiern und Embryonen auf 10,3 bei einer Ausnutzbarkeit von 82,3 % (8,5 Embryonen je Superovulation und Spender-Kuh) erhöht werden. Nach der Stimulierung der Superovulation durch Foliotropin (Léciva, Praha) betrug der Gewinn 12,7 Eier mit einer Ausnutzbarkeit von 10,1 Embryonen (79,8 %) und nach der Applikation von FSH-P (Burns-Biotec) erreichten wir je Superovulation 13,8 bzw. 10,9 Embryonen. Die unblutige Übertragung von Embryonen wurde in den letzten zweieinhalb Jahren insgesamt bei 1321 Empfänger-Kühen durchgeführt. Die Konzeptionsrate betrug im Jahre 1984 52,4 %, im Jahre 1985 erreichte der Überlebensdurchschnitt 58,33 % und in den ersten sechs Monaten des Jahres 1986 65,5 %.

Superovulation; ipsilaterale Übertragung; Embryo

Adresy autorů:

Doc. MVDr. Luboš Holý, CSc., MVDr. Miloslava Lopatářová, MVDr. František Vaňatka, CSc., MVDr. Miloš Vrtěl, CSc., Vysoká škola veterinární, Palackého 1-3, 612 42 Brno

MVDr. František Čáhel, JZD, 687 54 Bánov

MVDr. Antonín Jiříček, MVDr. Jiří Mazurek, JZD, 763 15 Slušovice

MVDr. Jiří Kaděra, Okresní veterinární zařízení, 686 01 Uherské Hradiště

MVDr. Vladimír Klimeš, Okresní veterinární zařízení, 746 01 Opava

MVDr. Petr Krontorád, Okresní veterinární zařízení, 562 01 Ústí nad Orlicí

MVDr. Leoš Kroupa, Školní zemědělský podnik VŠV

Ing. Jiří Řehánek, JZD, 696 21 Prušánky

Upozorňujeme čtenáře, že v čísle 12 časopisu

VETERINÁRNÍ MEDICÍNA

mají být uveřejněny články:

- V. Kmeť, G. I. Kalačnjuk, Š. Koník, J. Lenárt, A. Bomba: Použitie kolonizačného preparátu Amylastim v stimulácii bachorového typu trávenia mláďat prežúvavcov
- J. Lidický, B. Ševčík, J. Pícha, D. Píchová, M. Flegel: Porovnání účinku terleucinového a tryptofanového superanalogu LH-RH na sekreci gonadotropinů u jalovic
- J. Gilka, V. Gajdůšková, M. Malíková, J. Mašek, H. Dočekalová, R. Hais, A. Láníková, M. Pavlasová: Cizorodé látky v mase a orgánech býků a prasat po zkrmování past, včetně pasty s drůbežím masem
- P. Bedrník, P. Jurkovič, A. Firmanová, J. Kučera: Účinnost ionophorních antikokcidik na kokcidie izolované z terénu v letech 1984 až 1985
- V. Konrád, R. Škarda, E. Švický, J. Marčaník, P. Kačmár: Patologicko-morfologický obraz subchronickej intoxikácie psův trimorfamidom

CONTENTS

Kačmárik J., Gamčík P., Pošivák J., Dávid V., Hrušková P., Piešová E.: Superovulation after the Administration of PMSG in Cows of Various Breeds	577
Granátová M.: Cultivation and Control of the Cells Producing the Bovine Leucosis Virus	587
Derka J., Pospíšil R.: An Evaluation of the Synthetic Activity of Lymphocyte Nucleoli and the Phagocytic Activity of the Leucocytes of Peripheral Blood in Cattle Infected with the IBR Virus	595
Bouček J., Kovalčík K., Gajdošík D., Brestenský V.: The Effect of Artificial Ultraviolet Light on the Biochemical Parameters of Calves	603
Arendarčík J., Molnárová M., Staníková A.: The Effect of Hormonal Stimulation on the Follicular Populations of Ewe Ovaries in the Oestral and Anoestral Period	611
Garčár J., Hrušovský J., Šmirják M.: The Effect of the Technological Process on the Contents of Chlorinated Pesticide Residues in Tinned Food	619
Ostrý V., Polák P., Matyáš Z.: Relationships and Interactions between Pirimicarb as a Representative of the Carbamate Group and Proteolytic Germs in Raw Milk	627
Žuffa T.: The Growth of the Attenuated Strains of Canine Parvovirus, Mink Enteritis Virus, Feline Panleucopenia Virus and Canine Distemper Virus on Various Kinds of Cell Cultures	633

INHALT

Kačmárik J., Gamčík P., Pošivák J., Dávid V., Hrušková P., Piešová E.: Superovulation nach der Applikation von PMSG bei Kühen verschiedener Rassen	577
Granátová M.: Kultivierung und Kontrolle der das bovine leukämische Virus produzierenden Zellen	587
Derka J., Pospíšil R.: Bewertung der synthetischen Aktivität des Lymphozytenkernes und der phagozytären Aktivität der Leukozyten des peripherischen Blutes der Rinder nach der Infektion mit dem IBR-Virus	595
Bouček J., Kovalčík K., Gajdošík D., Brestenský V.: Einfluß des künstlichen ultravioletten Lichtes auf biochemische Merkmale der Kälber	603
Arendarčík J., Molnárová M., Staníková A.: Einfluß der hormonalen Stimulierung auf die Follikelpopulationen der Mutterschaf ovarien im Oestrus und Anoestrus	611
Garčár J., Hrušovský J., Šmirják M.: Einfluß des technologischen Prozesses auf den Gehalt der konservierten Lebensmittel an Residuen von chlorierten Pestiziden	619
Ostrý V., Polák P., Matyáš Z.: Beziehungen und Interaktion zwischen Pirimicarb, dem Vertreter der Karbamatgruppe, und proteolytischen Keimen der Rohmilch	627
Žuffa T.: Wachstum der geschwächten Stämme von Parvovirus der Hunde, von Virusenteritis der Nerze und von Panleukopänie der Katzen sowie von Staupe-Virus auf unterschiedlichen Zellenkulturen	633



Rukopisy odevzdány k tisku 25. 6. 1987 — Podepsáno k tisku 15. 9. 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.