

VĚDECKÝ ČASOPIS



VETERINÁRNÍ MEDICÍNA

11

ČÍSLO 32 (LV)
PRAHA
PROSTOPAD 1987
CENA 10 Kčs
ISSN 0590-3214

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

Polák L.: K významnému výročí Velké říjnové socialistické revoluce . . .	641
Holý L., Lopatářová M., Vaňatka F., Vrtěl M., Cahel F., Jiříček A., Mazůrek J., Kaděra J., Klimeš V., Krontorád P., Kroupa L., Řehánek J.: Výsledky aplikace nechirurgického transferu embryí u skotu v chovatelské praxi . . .	643
Rubeš J., Žák M., Hořínová Z.: Metoda pro cytogenetické vyšetření raných embryí skotu . . .	655
Molnárová M., Arendarčík J.: Zmeny trypsín inhibičných aktivít krvnej plazmy a cervikálneho hlienu oviec po podaní PGF ₂ alfa a PMSG v anestrii . . .	659
Matouch O., Jaroš J., Pohl P.: Přežívání viru vztekliny ve vnějších podmínkách . . .	669
Ruprich J., Piskač A.: Příprava mykotoxinu ochratoxin A k výzkumným a diagnostickým účelům . . .	675
Muška M.: Sezónní dynamika synbovilních much (<i>Diptera: Muscidae</i>) během pastevního období v lokalitě Jarov . . .	681
Žuffa T., Krobot P.: Dôkaz protilátok proti vírusom infekčnej laryngotracheitídy a parainfluenzy 2 u psů v chovoch na území ČSSR . . .	689

SOUBORNÝ PŘEHLED

Zajíček D.: Tlumení fasciolózy u skotu v ČR v letech 1970 až 1985 . . .	695
---	-----

СОДЕРЖАНИЕ

Голы Л., Лопатаржова М., Ванятка Ф., Вртел М., Цагел Ф., Иржиček A., Мазурек Й., Кадера Й., Клиmesh В., Кронторад П., Кроупа Л., Ржеганек Й.: Результаты бескровной пересадки эмбрионов крупного рогатого скота в животноводческой практике . . .	643
Рубеш Й., Жак М., Горжинова З.: Метод для цитогенетического исследования ранних эмбрионов скота . . .	655
Молнарова М., Арендарчик Й.: Изменчивость трипсинов ингибирующих активностей плазмы крови и цервикальной слизи овец после назначения PGF ₂ альфа и PMSG в анестре . . .	659
Матух О., Ярош Я., Погл П.: Выживание вируса бешенства в условиях внешней среды . . .	669
Руприх Й., Пискач А.: Получение микотоксина охратоксин А для исследований и диагностики . . .	675
Мушка М.: Сезонная динамика мух паразитирующих на крупном рогатом скоте (<i>Diptera: Muscidae</i>) во время периода пастбы в месте нахождения Яров . . .	681
Жуффа Т., Кробот П.: Доказательство антивеществ против вирусам инфекционного ларинготрахеита и парагриппа 2 у собак в разведениях на территории ЧССР . . .	689
Зайичек Д.: Подавление фасциолёза у скота в ЧСР в 1970—1985 гг. . .	695

METODA PRO CYTOGENETICKÉ VYŠETŘENÍ RANÝCH EMBRYÍ SKOTU

J. Rubeš, M. Žák, Z. Hořínová

RUBEŠ, J. — ŽÁK, M. — HOŘÍNOVÁ, Z. (Výzkumný ústav veterinárního lékařství, Brno; Jednotné zemědělské družstvo, Slušovice): *Metoda pro cytogenetické vyšetření raných embryí skotu*. Veter. Med. (Praha), 32, 1987 (11) : 655-658.

Cílem práce bylo vypracovat jednoduchou a spolehlivou metodu cytogenetického vyšetření embryí skotu. Celá embrya zbavená zóny pellucidy, popř. části těchto embryí, jsme kultivovali pět hodin v médiu s 0,05 μ g kolcemidu na mililitr. Hypotonizace probíhala po dobu 10 až 15 minut ve směsi média a destilované vody v poměru 1 : 2 při teplotě 37 °C. Byla použita postupná fixace nejprve směsí kyseliny octové, metylalkoholu a vody (1 : 4 : 5), potom kapáním směsí kyseliny octové a metylalkoholu (1 : 1) na embryo již na podložním skle při kontrole mikroskopem. Chromozómy byly barveny 3% roztokem Giemsova barviva 10 minut.

skot; embryo; chromozómy; metodický postup

S rozvojem nových metod řízené reprodukce skotu se otvírají další možnosti využití cytogenetiky. Předpokládá se, že v budoucnosti bude mít v chovu skotu velký význam produkce jedinců biotechnologickými metodami, jako jsou přenos embryí, dělení embryí, detekce pohlaví, kultivace oocytů a blastomér, oplození *in vitro*, produkce chimér a transfer genů do embryí (Church aj., 1985).

Zájem o cytogenetické vyšetření embryí skotu vzbudila zejména možnost sexace touto metodou. Při složitějších manipulacích s embryi však bude toto vyšetření důležité i pro eliminaci nevhodných embryí.

Obecně je známo, že právě v nejranějších stádiích vývoje organismu je výskyt chromozomálních poruch největší a že tyto poruchy vedou k odumrtí zárodků většinou v embryonálním stadiu. Až 8 % embryí skotu nese ve stadiu blastocysty chromozomální poruchu (Eldridge aj., 1978). Ve stadiu zygoty zjistili King se spolupracovníky (1985) dokonce 30 % chromozomálně narušených embryí. Gayerie d'Abreu aj. (1984) zjistili mezi 265 třídními až devítidenními embryi skotu 7,2 % embryí chromozomálně abnormálních. Murray aj. (1985) našli 11 % embryí skotu s chromozomálními aberacemi.

Je mnoho údajů dokazujících vzrůst chromozomálních aberací u embryí, která byla získána hormonální superovulací (Luckett a Mukherjee, 1986; King aj., 1985; Koenig aj., 1986).

Velké množství chromozomálních poruch embryí vzniká při procesu oplodnění. Jsou důkazy pro to, že počet aberací se zvyšuje při oplodnění *in vitro* (Schulman aj., 1985).

Fechheimer a Harper (1980) prokázali cytogenetickým vy-

šetřením různě starých bovinních fetů, že většina chromozonálně porušených embryí odumírá před implantací.

Z uvedených údajů je vidět, že chromozomální aberace u embryí mohou výrazně snižovat efektivitu biotechnologií v oblasti reprodukce hospodářských zvířat. Je proto nezbytné, abychom byli metodicky připraveni využít možností cytogenetických metod nejen pro sexaci, ale i pro včasnou selekci porušených embryí.

Cílem této práce bylo vypracovat metodu umožňující cytogenetické vyšetření embryí.

MATERIÁL A METODA

K vývoji metody byla použita celá embrya skotu, devět a sedm dní stará. Postup byl dále ověřen na jedné polovině rozdělených sedmidenních embryí.

Celá embrya zbavená zóny pellucidy nebo jejich části určené pro cytogenetické vyšetření jsme kultivovali po dobu pěti hodin v médiu M 199 (ÚSOL Praha) s 20 % bovinního fetálního séra antibiotiky (100 IU PNC + 100 µg STM .ml⁻¹) a kolcemidem (0,05 µg .ml⁻¹) v 5% atmosféře CO₂.

Po kultivaci bylo embryo hypotonizováno umístěním na 10 až 15 minut do 37 °C teplé směsi kultivačního média s destilovanou vodou v poměru 1 : 2.

Hypotonizovaná embrya byla přenesena do směsi kyseliny octové, metylalkoholu a vody v poměru 1 : 4 : 5 na dobu 40 až 60 sekund. Tato fixace probíhala na hodinovém sklíčku. Po první fixaci byla embrya přenesena na odmaštěné suché podložní sklo a na buňky bylo ihned třikrát až pětikrát přikapáváno v minutových intervalech po kapce směsi kyseliny octové a metylalkoholu v poměru 1 : 1.

Po zaschnutí byly preparáty barveny 10 minut 3% roztokem Giemsova barviva ve fosfátovém pufru při pH 6,8.

VÝSLEDKY

Popsanou metodou jsme vyšetřili 20 celých devítidenních embryí. U 80 % embryí jsme získali dvě až deset mitóz na embryo (obr. 1).

Dále jsme vyšetřili 30 celých sedmidenních embryí, u nichž jsme v 70 % případů získali jednu až pět mitóz na embryo.

Z 20 zpracovaných polovin sedmidenních embryí neslo jednu až dvě mitózy 65 % embryí.

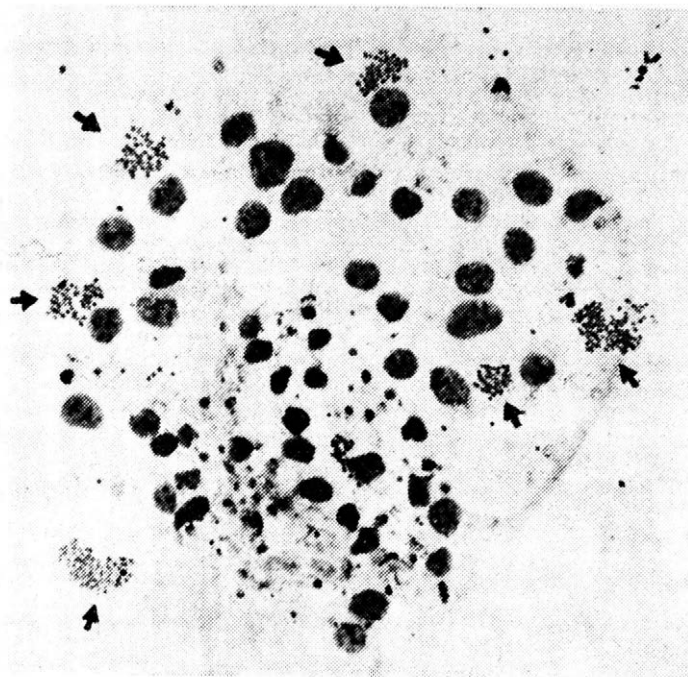
Podíl nehodnotitelných mitóz z mitóz získaných nepřesahoval 10 %.

DISKUSE

V popsané metodě cytogenetického vyšetření jsme použili krátkodobou kultivaci polovin a celých embryí skotu v médiu s kolcemidem. Získání mitóz bylo limitováno dostatečným počtem vyšetřovaných buněk. Mitotický index činí kolem 5 %. Můžeme tedy očekávat, že v embryu jsou pouze dvě až tři buňky v mitóze (Cribiu a Popescu, 1982). Uvedení autoři proto doporučují kultivovat fragment embrya po dobu 24 až 48 hodin. To ovšem vyžaduje zvládnout techniku zmrazování dělných embryí. Prodloužení kultivace výtěžnost mitóz zvyšuje.

Hlavním problémem metodik používaných pro cytogenetické vyšetření embryí je špatné rozprostření buněk embrya a chromozómů v mitózách. Za tyto komplikace je do značné míry odpovědná nevhodná fixace buněk, která zásadně ovlivňuje rozložení buněk embryí a chromozómů v mitóze. V cytogenetických metodách používaných u embryí doporučují různí autoři fixaci směsí kyseliny octové a metylalkoholu v poměru 1 : 3 nebo 1 : 1 (King, 1984). Tyto fixační roztoky často podporují shlukování buněk embryí, a tím vedou ke ztrátám mitóz. Proto

1. Devítidenní embryo skotu, zpracované popsanou metodou (šipky označují mitózy) — A nine-day old cattle embryo treated by the described method (the mitoses are denoted by arrows)



jsme použili fixaci stupňovitou, kterou doporučili W r a m s b y a L i e d - h o l m [1984] pro chromozomální vyšetření lidských oocytů. Tento postup dává u embryí skotu velmi dobré výsledky. Předfixovaná embrya nemají tendenci se rozpadat, jsou umístěna na podložní sklo, na které je při kontrole mikroskopem přikapáván druhý fixační roztok. V něm se embrya rozpadají a jejich buňky se rozprostírají. Počtem kapek fixačního roztoku lze podle chování embrya tento proces řídit, což značně zvyšuje efektivitu postupu.

Popsaná metoda je poměrně jednoduchá a dává větší množství hodnotitelných mitóz, než udávají jiní autoři (C r i b i u a P o p e s c u, 1982; M u r r a y a j., 1985).

Cytogenetického vyšetření lze použít pro studium některých poruch reprodukce hospodářských zvířat, zejména embryonální mortality, a pro eliminaci chromozomálně porušených embryí při aplikaci biotechnologických metod v reprodukci. Cytogenetické vyšetření je vhodné k sexaci embrií. V této oblasti má také velký význam pro rychlé ověřování přesnosti a spolehlivosti nově vyvíjených metod sexace, které nevyžadují traumatizující zásah do embryí.

Literatura

- C R I B I U, E. P. — P O P E S C U, C. P.: L'étude cytogénétique de l'embryon et du taureau. *Elevage Insem.*, 190, 1982, s. 21-23.
 E L D R I D G E, F. E. — L A R S E N, L. L. — J A M E S, R. C. — C O W A N, C. M.: Chromosome studies of bovine blastocysts. *J. Dairy Sci.*, 61, 1978, s. 82.
 F E C H H E I M E R, N. S. — H A R P E R, R. L.: Caryological examination of bovine fetuses collected at an abattoir. In: 4th Eur. Colloq. Cytogenet. Domest. Animals. Uppsala, 1980, s. 194-199.
 G A Y E R I E d' A B R E U, F. — L A M M I N G, G. E. — S H A W, R. C.: A cytogenetic investigation of early stage bovine embryos — relation with embryo mortality. In: 10th Int. Congr. Anim. Reprod. Artif. Insem. Briefs Commun., díl 2, 1984, s. 82.

- CHURCH, R. B. — SCHAUFEL, F. J. — MECKLING, K.: Embryo manipulation and gene transfer in livestock. *Can. J. anim. Sci.*, 65, 1985, s. 527-537.
- KING, W. A.: Sexing embryos by cytological methods. *Theriogenology*, 21, 1984, s. 7-17.
- KING, W. A. — BETTERIDGE, K. J. — BOUSQUET, D. — GREVE, T.: Cytologically detectable abnormalities in bovine zygotes after *in vivo* and *in vitro* fertilization. *J. Dairy Sci.*, 68, Suppl. 1, 1985, s. 248-249.
- KOENIG, J. L. F. — ELDRIDGE, F. E. — ZIMMERMAN, D. R. — KOPF, H. D.: Chromosomal abnormalities in swine ova as affected by superovulation and selection for high ovulation rate. In: 7th Eur. Colloq. Cytogenet. Domest. Animals. Varšava, 1986, s. 23-24.
- LUCKETT, C. — MUKHERJEE, B.: Embryonic characteristics in superovulated mouse strains. *J. Hered.*, 77, 1986, s. 39-42.
- MURRAY, J. D. — MORAN, C. — BOLAND, M. P. — DOFF, A. M. — NANCARROW, C. D.: Cytogenetic analysis of 34 early stage bovine embryos from superovulated Hereford donors. *Can. J. Genet. Cytol.*, 27, 1985, s. 483-485.
- SCHULMAN, J. D. — DORFMANN, A. — EVANS, M. I.: Genetic aspects of *in vitro* fertilization. In: SEPÁLA, M. — EDWARDS, R. G.: *In vitro* fertilization and embryo transfer. New York, N. Y. Acad. Sci., 1985, s. 466-475.
- WRAMSBY, H. — LIEDHOLM, P.: A gradual fixation method for chromosomal preparations of human oocytes. *Fertil. and Steril.*, 41, 1984, s. 735-738.

Došlo dne 26. 3. 1987

РУБЕШ, Й. — ЖАК, М. — ГОРЖИНОВА, З. (Научно-исследовательский институт ветеринарной медицины, Брно; Единый сельскохозяйственный кооператив, Слушovice): **Метод для цитогенетического исследования ранних эмбрионов скота.** *Veter. Med. (Praha)*, 32, 1987 (11) : 655-658.

Целью работы являлась разработка простого и надежного метода цитогенетического исследования эмбрионов скота. Весь эмбрион, избавленный зоны *pellucida*, иногда части этих эмбрионов мы культивировали пять часов в среде с 0,05 мг колцемидом/мл. Гипотонизация проходила в течение 10—15 минут в смеси среды с дистиллированной водой в отношении 1:2 при температуре 37 °C. Использовалась последовательная фиксация вначале смеси уксусной кислоты, метилового спирта и воды (1:4:5), потом капанием смеси уксусной кислоты и метилового спирта (1:1) на эмбрион уже на подкладном стекле при контроле микроскопом. Хромосомы окрашивались 3% раствором красителя Гиемса 10 мин.

скот; эмбрион; хромосомы; метод

RUBEŠ, J. — ŽÁK, M. — HOŘINOVÁ, Z. (Veterinary Research Institute, Brno; Co-operative Farm, Slušovice): **A Method for the Cytogenetic Examination of the Early Embryos of Cattle.** *Veter. Med. (Praha)*, 32, 1987 (11) : 655-658.

The objective of the study was to work out a simple and reliable method of the cytogenetic examination of bovine embryos. Whole embryos free of the *zona pellucida*, or parts of these embryos, were cultivated for five hours in a medium with 0.05 µg colcemide per 1 millilitre. The embryos were hypotonized for 10 to 15 minutes in a mixture of medium and distilled water (1:2 ratio) at the temperature of 37 °C. Stepwise fixation was used: first in a mixture of acetic acid, methyl alcohol and water (1:4:5), followed by dropping a mixture of acetic acid and methyl alcohol (1:1) onto the embryo already on the microscope slide during microscopic control. The chromosomes were stained with a 3% solution of Giemsa dye for 10 minutes.

cattle; embryo; chromosomes; methodical procedure

Adresy autorů:

MVDr. Jiří Rubeš, CSc., MVDr. Zuzana Hořinová, Výzkumný ústav veterinárního lékařství, Hudcova 70, 621 32 Brno
MVDr. Miroslav Žák, JZD Agrokombinát, 763 15 Slušovice

ZMENY TRYPSÍN INHIBIČNÝCH AKTIVÍT KRVNEJ PLAZMY A CERVIKÁLNEHO HLIENU OVIEC PO PODANÍ PGF₂ALFA A PMSG V ANESTRI

M. Molnárová, J. Arendarčík

MOLNÁROVÁ, M. — ARENDARČÍK, J. (Vysoká škola veterinárska, Košice): *Zmeny trypsin inhibičných aktivít krvnej plazmy a cervikálneho hlienu oviec po podaní PGF₂alfa a PMSG v anestri*. Veter. Med. (Praha), 32, 1987 (11) : 659-668.

Zmeny koncentrácií inhibitorov proteolytických enzýmov po podaní hormónov pôsobiach na činnosť ovárií môžu mať za následok nerovnováhu vo vývoji folikulov. Serínovým proteázam sú prisudzované dôležité úlohy počas vývoja folikulu, ovulácie a činnosti žltého telieska. V snahe zistiť zmeny trypsin inhibičných aktivít (TIA) krvnej plazmy a cervikálneho hlienu po podaní PGF₂alfa (100 + 100 µg v januári a 250 + 250 µg v máji, 0. a 11. deň) a 750 I. U. PMSG (jednorazovo podaný 10. deň) sme v 14-dňovom pokuse sledovali denné zmeny. TIA sme stanovili zo spomalenia hydrolýzy syntetického substrátu N-alfa-tosyl-p-nitroanilidu (TAPA) hovädzím trypsinom. Pri vyjadrení TIA krvnej plazmy v percentách hodnôt kontrolných je nápadný pokles v 11. a 12. dni januárového pokusu (celkovej aj nízkomolekulovej TIA). V májovom pokuse sme tento pokles zaznamenali len v 11. dni pri celkovej TIA, nízkomolekulová TIA sa naopak zvyšovala, najmä po podaní PMSG. Priemerné hodnoty plazmatických TIA sa počas 14-dňového pokusu zvyšovali po podaní PGF₂alfa (c TIA na 109,8 ± 22,1 %, n TIA na 135,42 ± 54,0 % v januári; c TIA na 112,59 ± 50,5 %, n TIA na 109,48 ± 55,9 % v máji). Po podaní aj PMSG zostali zvýšené TIA oproti kontrolným (c TIA na 107,13 ± 24,0 %, n TIA na 133,40 ± 52,1 % v januári; c TIA na 113,87 ± 51,3 %, n TIA na 118,33 ± 55,6 % v máji). Priemerné hodnoty TIA cervikálneho hlienu sa po podaní PGF₂alfa zvýšili na 3,06 ± 1,7 % oproti kontrolným 2,59 ± 1,1 %, po podaní aj PMSG na 2,82 ± 1,9 % (január, TIA na 1 mg hlienu).

proteolytické enzýmy; hormóny; ovária; serínové proteázy; folikul

Kontrola proteolytických aktivít v tkanivách je primárne vykonávaná inhibítormi. Ich funkciou je rýchlo inaktivovať príslušné proteínázy, kompetitívne alebo nekompetitívne. Každý inhibítor kontroluje špecifickú proteolytickú reakciu rýchlejšie ako inú proteolytickú aktivitu a zmeny v molekule inhibítora môžu tento efekt značne meniť. Inhibítor asociuje s enzýmom veľmi rýchlo (milisekundy) za tvorby komplexov, disociácia enzýmu z komplexu prebieha naopak veľmi pomaly (Molnárová, 1973a, b, 1975, 1979). Ľudská krvná plazma obsahuje najmenej deväť proteínázových inhibitorov, ktoré reprezentujú približne 10 % celkových bielkovín plazmy (Travis, 1936). Alfa₁-antitrypsín (alfa₁-AT) je hlavnou antiproteázou ľudského séra a tvorí 90 % sérovej antiproteázovej aktivity. Bagdasarjan a i. (1981) dokázali prítomnosť alfa₁-proteázového inhibítora v bunkách ovariálnej strómy a predpokladajú možnosť

jeho syntézy týmito bunkami. Aj keď nie je úplne jasná funkcia anti-proteáz na ováriálnej úrovni, predpokladajú ich účasť pri proteolytických procesoch spojených s ovuláciou. Abramowitz a Birnbaumer (1979) zistili, že serínové proteázy stimulujú adenylátcyklázu v ováriách krýs a že HCG stimulácia ováriálnej adenylátcyklázy krýs a králikov môže byť blokováná syntetickými proteázovými inhibítormi. Autori pripisujú integrálnu úlohu proteázam pri hormonálnych stimuláciách adenylát cyklázy. Krishnan a i. (1983) izolovali z ľudských a ovčích ovárií inhibítory väzby LH/HCG a FSH na gonadálne receptory. Ich vlastnosti boli podobné, ako opísali iní autori pre inhibítory väzby LH, HCG a FSH. V antrálnych folikuloch kráv sú v *theca interna* prítomné receptory pre HCG/LH, ktorých schopnosť indukovať zmeny cAMP a syntézu steroidných hormónov opísali McNatty a i. (1985). Folikuly s typom receptorov schopných po stimulácii LH syntetizovať pomocou cAMP dehydroepiandrosterón, androstendión a testosterón považujú za neatretické. Folikuly s typom receptorov schopných po stimulácii LH pomocou cAMP syntetizovať progesterón, ale nie androgény, označujú za prechodné atretické a folikuly s LH receptormi neschopné syntetizovať steroidy cez cAMP v odpovedi na LH považujú za atretické. Nerovnomerný vývoj folikulu, ktorý má za následok abnormálny oocyt a „nepriateľský“ reprodukčný trakt, opisujú Moor a i. (1985) ako gonadotropínami indukované zmeny v proteínovom zložení oocytu. Až v poslednom čase je pozornosť venovaná iným biochemickým parametrom folikulárnej tekutiny ako steroidogénzii. Imoedemhe a Shaw (1986) zistili, že koncentrácia alfa₁-antitrypsínu nie je závislá od objemu folikulárnej tekutiny, ale oveľa viac od fertilizačnej schopnosti oocytu, čo je v relácii k jeho zrelosti. Zmeny proteázových a anti-proteázových aktivít v genitálnom trakte sú špecifickým fyziologickým fenoménom, smerovaným k vytváraniu optimálneho prostredia pre uvoľnenie, transport a stretnutie gamiet v samičom genitálnom trakte. Zníženie alfa₁-antitryptickej aktivity cervikálneho hlienu v čase ovulácie (Schumacher a i., 1977) a podobne vo folikulárnej tekutine túto teóriu podporujú.

Cieľom predkladanej práce je stanoviť zmeny trypsín inhibičných aktivít (TIA) krvnej plazmy a cervikálneho hlienu oviec po podaní PGF₂-alfa a PMSG v anestríckom období (január a máj).

MATERIÁL A METÓDA

Do pokusov sme zaradili 29 oviec v anestríckom období (január a máj). V januárovom pokuse boli ovce, ktoré sa vo februári—marchi obahnili, v jesennom prípušťacom období neboli pripustené a boli až do vykonania pokusu chované oddelene. Ovce v májovom pokuse minimálne raz rodili. Priemerná hmotnosť dvojročných až trojročných bahnic bola v januári $31,69 \pm 6,0$, v máji $34,81 \pm 6,3$ kg. Ovce pochádzali z tzv. zemskeho chovu zo školského majetku v Zemplínskej Teplici. Po klinickom a koprologickom vyšetrení boli do pokusu zaradené ovce klinicky zdravé. PGF₂alfa sme podávali v 0. a 11. deň pokusu, v januári $100 + 100 \mu\text{g}$, v máji $250 + 250 \mu\text{g}$ Oestrophanu SPOFA. 750 I. U. PMSG, Antex Leo, sme podali jednorazovo i. m. 10. deň pokusu. Usporiadanie pokusu uvádza tab. I.

Krv na biochemické stanovenia trypsín inhibičných aktivít (TIA) celkovej a frakcie nízkomolekulových TIA sme odoberali z *v. jugularis* na heparín a krvnú plazmu sme až do spracovania uložili pri teplote -25°C . Cervikálny hlien sme odoberali na vatové tampóny a po zvážení eluovali 0,05 M tris-HCl pufrom (pH = 8,1). TIA krvnej plazmy aj eluátu cervikálneho hlienu sme stanovovali zo zníženia rýchlosti hydrolýzy syntetického nízkomolekulového chromogénneho substrátu

I. Schéma pokusov s podávaním hormonálnych prípravkov bahničiam v anestri — Scheme of the trials with the administration of hormonal preparations to ewes in their anoestral period

Skupina bahnic	n	PGF ₂ alfa (μg) 0. a 11. deň	PMSG (I.U.) 10. deň	Obdobie
I.	4	—	—	január
II.	4	100 + 100	—	január
III.	4	100 + 100	750	január
IV.	7	—	—	máj
V.	5	250 + 250	—	máj
VI.	5	250 + 250	750	máj

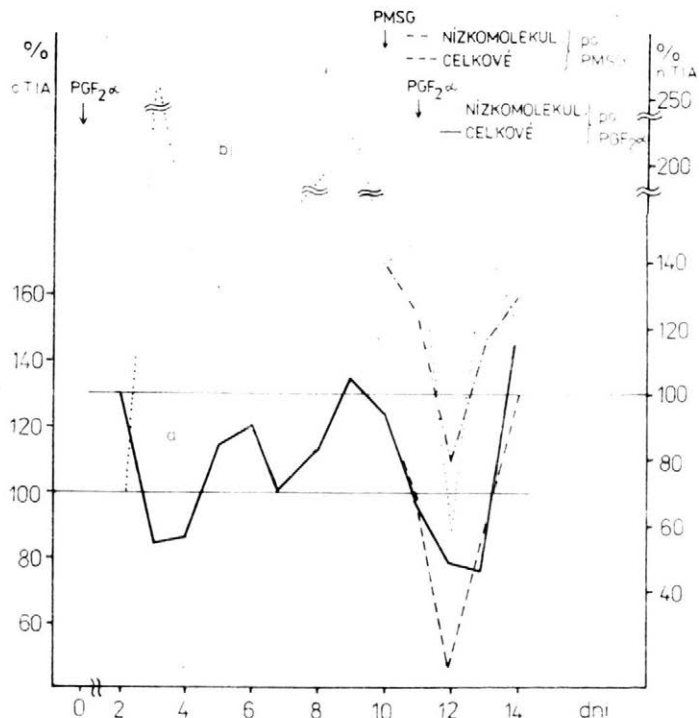
N-alfa-tosyl-p-nitroanilidu (TAPA) hovädzím trypsínom (Bartík a i., 1974). Na stanovenie frakcie nízkomolekulových TIA sme použili supernatant krvnej plazmy po pridaní kyseliny chloristej, centrifugácii a neutralizácii (Haendle a i., 1970; Molnárová, 1975). Zmeny inhibície TIA krvnej plazmy sme vyjadrovali v percentách hodnôt kontrolných zvierat, zmeny TIA cervikálneho hlienu v percentách inhibície hydrolýzy TAPA na miligram hlienu.

VÝSLEDKY

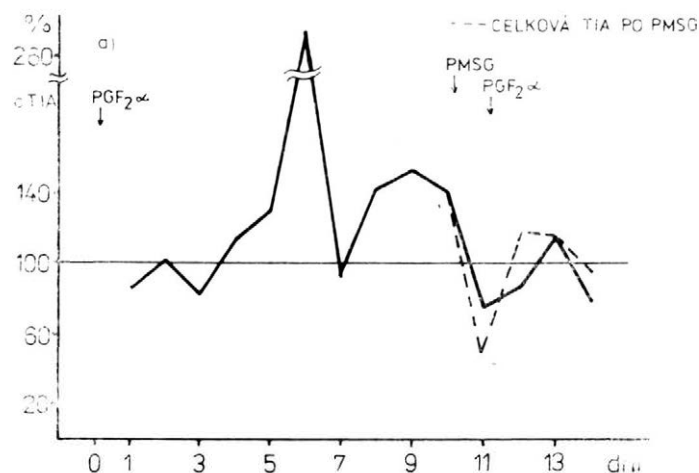
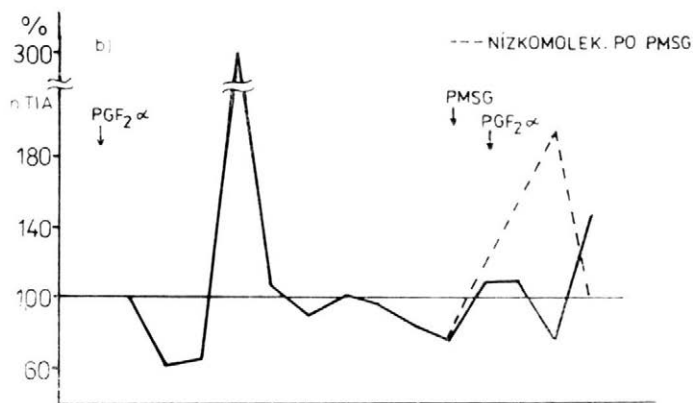
Koncentrácie trypsín inhibičných aktivít [TIA] v krvnej plazme kolíšu počas spontánneho ovariálneho cyklu, ale aj počas cyklu hormonálne stimulovaného. Zmeny TIA krvnej plazmy oviec ošetrovaných prvý a jedenásty deň (január) podaním 100 + 100 μg prostaglandínu F₂alfa a skupiny po podaní 750 I. U. PMSG v 10. dni sú znázornené na obr. 1. Hodnoty sú vyjadrené v percentách hodnôt kontrolných zvierat. Plná čiara (1a) znázorňuje zmeny celkových TIA krvnej plazmy počas 14-dňového pokusu. Krivka zaznamenáva pokles tretí, štvrtý, jedenásty a dvanásty deň. Tento pokles je zvýraznený v 12. dni (20 hodín po podaní druhej dávky PGF₂alfa). Bodkovaná krivka (1b) znázorňuje zmeny TIA v krvnej plazme po jej ošetrovaní kyselinou chloristou (frakcia nízkomolekulových TIA). V treťom a deviatom dni hodnoty vystúpili cez 200 % hodnôt kontrolných a podobne ako u celkovej TIA sme zaznamenali pokles v 12. dni.

Dynamika zmien TIA v krvnej plazme oviec ošetrovaných v máji podaním prvý a jedenásty deň 250 + 250 μg PGF₂alfa a jednej skupiny oviec so stimulovanými ováriami dávkou 750 I. U. PMSG je znázornená na obr. 2. Maximálne hodnoty sme zaznamenali v šiestom a deviatom dni, minimálne v jedenástom dni, zvýraznené po podaní PMSG. Zmeny hodnôt frakcie nízkomolekulových TIA naproti tomu vykázali maximum v štvrtom dni po podaní PMSG.

Dynamika zmien TIA v cervikálnom hlienu ošetrovaných oviec v januári podaním v prvom a jedenástom dni 100 + 100 μg PGF₂alfa a skupiny so stimulovanými ováriami po podaní 750 I. U. PMSG je znázornená na obr. 3. Hodnoty inhibície sú vyjadrené v percentách inhibovaného trypsínu na miligram hlienu. Bodky vyjadrujú hodnoty jednotlivých odberov. Maximálne hodnoty sme zaznamenali v štvrtom a jedenástom dni po podaní PMSG a v dvanástom dni po podaní PFG₂alfa.



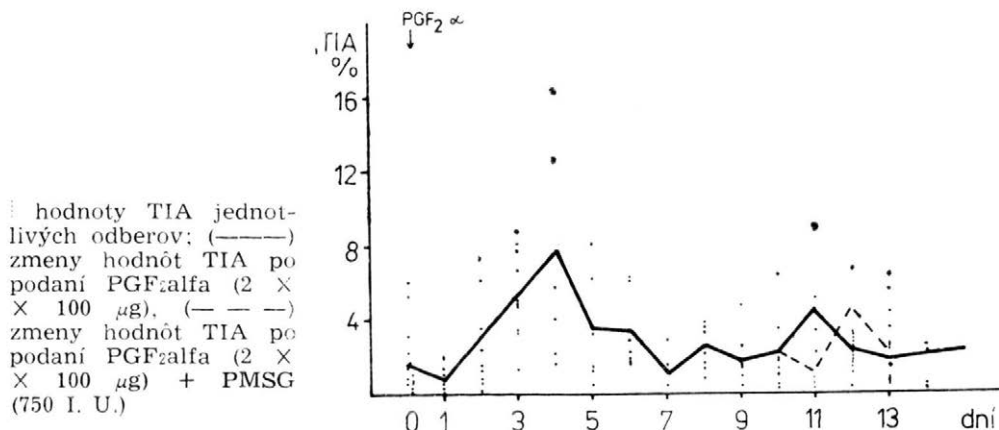
a) (—) celková TIA po podaní PGF₂alfa (2 × 100 µg), (---) celková TIA po podaní PGF₂alfa (2 × 100 µg) + PMSG (750 I. U.); b) (...) nizkomolekulová TIA po PGF₂alfa (2 × 100 µg), (-.-.-) n TIA po PGF₂alfa (2 × 100 µg) + PMSG (750 I. U.). Šípky naznačujú dni podávania hormónov (PGF₂alfa 0. a 11. deň pokusu, PMSG 10. deň pokusu)



a) (—) c TIA po PGF₂alfa (2 × 250 µg), (---) c TIA po PGF₂alfa (2 × 250 µg) + PMSG (750 I. U.); b) (—) n TIA po PGF₂alfa (2 × 250 µg), (---) n TIA po PGF₂alfa (2 × 250 µg) + PMSG (750 I. U.). Šípky naznačujú dni podávania hormónov (PGF₂alfa 0. a 11. deň pokusu, PMSG 10. deň pokusu)

1. Zmeny trypsin inhibičných aktivít (TIA) celkovej (c TIA) a frakcie nízkomolekulových (n TIA) krvnej plazmy oviec po podaní PGF₂alfa a PMSG v anestri (január), vyjadrené v percentách kontrolných hodnôt — Changes in the trypsin inhibiting activities (TIA) of the total (c TIA) blood plasma and low-molecular blood plasma fraction (n TIA) of ewes after the administration of PGF₂ alpha and PMSG in the anoestrus (January), expressed as the percent of the control values

2. Zmeny trypsin inhibičných aktivít (TIA) celkovej (c TIA) a frakcie nízkomolekulových (n TIA) krvnej plazmy oviec po podaní PGF₂alfa a PMSG v anestri (máj), vyjadrené v percentách kontrolných hodnôt — Changes in the trypsin inhibiting activities (TIA) of the total (c TIA) blood plasma and low-molecular blood plasma fraction (n TIA) of ewes after the administration of PGF₂ alpha and PMSG in the anoestrus (May), expressed as the percent of the control values



3. Zmeny trypsin inhibičných aktivít (TIA) cervikálneho hlienu oviec po podaní PGF₂alfa a PMSG v anestri (január) — Changes in the trypsin inhibiting activities (TIA) of the cervical mucus of ewes after the administration of PGF₂ alpha and PMSG in the anoestrus (January)

Priemerné hodnoty zmien celkovej TIA krvnej plazmy sa po podaní 2 × 100 µg PGF₂alfa v januári zvýšili na 109,8 ± 22,1 % priemerných hodnôt zistených u kontrolných oviec a po podaní 750 I. U. PMSG sa zmenili na 107,13 ± 24,0 % hodnôt kontrolných. Podobne vo frakcii nízkomolekulových TIA sme zaznamenali po podaní 2 × 100 µg PGF₂alfa v januári zvýšenie na 135,42 ± 52,4 %, podanie 750 I. U. PMSG túto priemernú hodnotu v podstate neovplyvnilo (133,4 ± 52,11 %).

Priemerné hodnoty zmien celkovej TIA krvnej plazmy sa po podaní 2 × 250 µg PGF₂alfa v máji zvýšili na 112,59 ± 50,5 % priemerných hodnôt kontrolných a po podaní 750 I. U. PMSG na 113,87 ± 51,34 %. Priemerné hodnoty zmien frakcie nízkomolekulových TIA krvnej plazmy sa zvýšili na 109,48 ± 55,95 % po PGF₂alfa a na 118,33 ± 55,58 % po PGF₂alfa + PMSG.

DISKUSIA

Z výsledkov našich pokusov vyplýva, že po hormonálnom ovplyvnení ovárií oviec dochádza k zmenám koncentrácií trypsin inhibičných aktivít (TIA) celkových (aj frakcie nízkomolekulových) v krvnej plazme a cervikálnom hliene. Domnievame sa, že tieto zmeny sú súčasťou zložitého re-

gulačného mechanizmu a zisťované kvalitatívne a kvantitatívne zmeny na tejto úrovni by mohli pomôcť vysvetliť niektoré zmeny fertility samíc po podaní PGF₂alfa a PMSG. Reprodukčné orgány v priebehu estrálneho cyklu prechádzajú fyziologickými zmenami, ktoré sú sprevádzané biochemickými zmenami v metabolizme proteínov. Rahi a Srivastava (1984) uvádzajú, že koncentrácie proteínov a enzýmové aktivity sú v porovnaní s kontrolami signifikantne vyššie v ováriách, oviduktoch a ute-roch škiečkov, ktoré superovulovali. Stres rozličných typov ovplyvňuje gonadálnu funkcie samíc (Armstrong, 1986) a mení aj metabolizmus trypsínových inhibítorov (Proksch a i., 1973). Aby sme vylúčili zmeny TIA v krvnej plazme, spôsobené inými zásahmi ako pokusnými, vyjadrujeme ich v percentách hodnôt kontrolných.

Porovnaním zmien plazmatických TIA v januárovom a májovom pokuse vidíme, že zmeny celkovej TIA majú podobný charakter v 11. a 12. dni pokusu, ale sa líšia v štandardných odchýlkach v priemerných hodnotách za čas pokusu ($107,13 \pm 24,0$ % po PGF₂alfa + PMSG, $109,80 \pm 22,10$ % po PGF₂alfa v januári a $113,87 \pm 51,34$ % po PGF₂alfa + PMSG, $112,59 \pm 50,50$ % po PGF₂alfa v máji), čo charakterizuje väčšie výchyľky TIA ako odpoveď na podané hormonálne prípravky v máji ako v januári. V kvantitatívnych a kvalitatívnych charakteristikách populácie terciárnych folikulov sa to prejavilo najmä vo výhodnejšom pomere neatre-tických (N) a atretických (A) terciárnych folikulov ($N/A = 0,27$ v januári oproti $N/A = 0,41$ v máji) a v počtoch ovulácií ($0,75 \pm 0,8$ v januári oproti $1,2 \pm 0,4$ v máji) po stimulácii PMSG (Arendarčík a i., 1986). Zmeny frakcie nízkomolekulových TIA sa líšili najmä v 10. a 14. dni januárového a májového pokusu. Zmeny priemerných hodnôt boli vyššie v januári ($135,42 \pm 54,0$ %, $133,4 \pm 52,1$) ako v máji ($109,48 \pm 55,9$ %, $118,33 \pm 55,0$ %), výchyľky sa príliš nelíšili. Pri porovnávaní vplyvu stimulácie PMSG na plazmatické TIA pri predbežnom ošetrení PGF₂alfa a bez tohoto ošetrenia vidíme rozdiel. Dávka len 750 I. U. PMSG v máji spôsobila zníženie cTIA ($\bar{x} = 82,38 \pm 32,0$ % oproti $93,81 \pm 27,0$ %), podiel počtu neatre-tických (N) a atretických (A) terciárnych folikulov bol rovnaký ($N/A = 0,41$), ale celkový priemerný počet terciárnych folikulov bol nižší ($17,25 \pm 7,05$ oproti $27,5 \pm 6,5$ po PGF₂alfa + PMSG), počet ovulácií vyšší ($2,25 \pm 1,0$ oproti $1,2 \pm 0,4$ po PGF₂alfa + PMSG) (Arendarčík a i., 1983; Molnárová a i., 1987). Pozorované zmeny TIA sú v súlade aj s pozorovaniami, ktoré opísali Spänel-Borovski a Heiss (1986).

Aj keď má je pokladaný za anestrické obdobie, je známe, že nemusí byť obdobím úplného pokoja ovariálnej činnosti a že ovce, ktorým sa zlepši kvalita a kvantita prijatého krmiva, môžu zvýšiť ovariálnu činnosť (Lindsay a Signoret, 1980). Ovce použité v májovom pokuse boli minimálne tri týždne po odstave a boli prevážané 14 dní pred pokusom, kŕmenie používané počas pokusu bolo po kvalitatívnej aj kvantitatívnej stránke hodnotnejšie. Hormonálne odpovede na zmenené kŕmne podmienky sú ale tiež limitované, lebo extrémny vo výžive môžu pôsobiť ako potencionálne stresové situácie (Chesworth a Easdon, 1983). Títo autori pripisujú relatívne nízku fertilitu oviec v anestri po ošetrení progestagénom a PMSG zmenenému pomeru koncentrácií prolaktínu a progesterónu.

Predpokladané fyziologické funkcie prostaglandínov pri reguláciách plodnosti spočívajú v modulovaní hormonálneho efektu na cieľový orgán.

Nasvedčuje tomu ich rýchla biosyntéza a metabolická degradácia (B y g d e m a n, 1983). Podanie PGF₂alfa stimuluje kontraktilitu ovariálnej muskulatúry, zvýšenie sekrécie prolaktínu a kumulácia PGF₂alfa vo folikulárnej tekutine stimuluje uvoľňovanie lytických enzýmov v apexe folikulu a jeho germinálnom epiteli, čo má za následok ruptúru folikulárnej steny. B o n o a i. (1980) dokázali, že PGF₂alfa môže u nedospelých oviec stimulovať uvoľňovanie LH a že centrálnie pôsobí na uvoľňovanie rastového hormónu a prolaktínu a nepriamo tiež na uvoľňovanie ACTH. Domnievajú sa, že rozdiely sú spôsobené rozdielnou citlivosťou hypotalamických oblastí na humorálne stimuly u mladých oviec.

Podanie prostaglandínov E a menej F rôznym zvieratám stimuluje uvoľňovanie LH sekundárne ovplyvňovaním uvoľnenia LHRH (B y g d e m a n, 1983). PGF₂alfa pri perfúziách *in vitro* mení dilatáciu ovariálnych kapilár po stimulácii ovulácie, a môže tak meniť prísun biologicky aktívnych látok do ovárií (K i t a i a i., 1985). Vplyv PMSG na hladinu progesterónu oviec ošetrovaných fluorogestonacetátom (FGA) alebo PGF₂alfa v januári opisujú H a c k e t a H i d i r o g l o v (1984). Zistili, že PMSG zvyšuje celkové množstvo uvoľneného progesterónu u oviec ošetrovaných 12 dní 40 mg FGA pravdepodobne zvýšeným počtom ovulácií. Na druhej strane ale nezistili zvýšenie produkcie progesterónu po podaní dvoch injekcií (15 mg) PGF₂alfa v rozmedzí 11 dní; súčasne s druhou injekciou PGF₂alfa bolo podaných 500 I. U. PMSG. Rozdiely v koncentráciách progesterónu po ošetrovaní samotným FGA alebo PGF₂alfa nezistili. Domnievajú sa, že to mohlo byť spôsobené aj časovým podaním PMSG s onľadom na druhú injekciu PGF₂alfa. V našich pokusoch pozorovaná stimulácia priemerného počtu terciárnych folikulov pri použití PGF₂alfa + PMSG oproti PMSG samotnému by mohla byť týmto vysvetľovaná.

Vplyv superovulačných dávok PMSG na vývoj preovulačného folikulu opisujú M o o r a i. (1985). Oocyty folikulov oviec po ošetrovaní FSH nemerili pri kultivácii bielkovinové zloženie oocyty, podobne ako oocyty folikulov kontrolných oviec. Oocyty z folikulov oviec po superovulačnej dávke 1250 I. U. PMSG z 28 % menili zloženie syntetizovaných proteínov na zloženie, ktoré je normálne spojené s dozrievaním. Pri porovnávaní steroidogenézie zistili, že celková produkcia a najmä sekrécia estrogénov je viac ako dvojnásobne vyššia vo folikuloch z PMSG ošetrovaných oproti FSH ošetrovaným zvieratám. Domnievajú sa, že aktivácia germinálneho kompartmentu v preovulačnom folikule má za následok vytváranie „starého“ alebo abnormálneho oocyty a „nepriateľský“ reprodukčný trakt. L é v e i l l é a i. (1987) zistili, že podanie PMSG škrečkom má za následok vytváranie abnormálne extracelulárne zhromažďovanie zóny pellucidy a jej degradáciu (fagocytózu) bunkami granulózy, ktoré ju obkolesujú. Úlohu proteáz a ich inhibítorov na ovariálnej úrovni pomáha vysvetliť pozorovanie autorov B a g d a r a s i a n a i. (1981), ktorí zistili, že bunky ovariálnej strómy obsahujú alfa₁-proteázový inhibítor, ktorý je hlavným sérovým proteázovým inhibítorom. Vyslovili možnosť, že alfa₁ antiproteáza je týmito bunkami syntetizovaná a domnievajú sa, že má úlohu regulovať proteolytické deje pri ovulácii. I m o e d e m h e a S h a w (1986) opisujú koncentrácie alfa₁ antitrypsínu (alfa₁-AT) vo folikulárnej tekutine. Dokázali, že nie sú závislé od objemu folikulárnej tekutiny, ale sú v tesnej relácii k schopnosti oocyty byť oplodnený. Koncentrácia 2 g alfa₁-AT na liter je kritickou diskriminačnou hodnotou medzi zrelým folikulom a folikulom s otáznou zrelosťou. 85 % oocytov z folikulov

s α_1 -AT $\leq 2 \text{ g.l}^{-1}$ je schopných oplodnenia. Mechanizmus zodpovedný za dozrievanie oocyту a ruptúra folikulu stále ešte nie sú úplne jasné. Autori sa domnievajú, že pozornosť musí byť venovaná biochemickému mikroprostrediu oocyту. Pozorované zmeny proteázových a anti-proteázových aktivít v genitálnom trakte sú špecifické fyziologické fenomény. Sú smerované k vytváraniu optimálneho prostredia pre uvoľňovanie, transport a spojenie gamiet v samičom genitálnom trakte. Zníženie α_1 -AT koncentrácií v čase ovulácie vo folikulárnej tekutine a v cervikálnom hliene (Molnárová, 1975; Schumacher, 1977 a iní) môže túto teóriu podporovať.

Inhibitory proteolytických enzýmov prítomné v cervikálnom hliene majú dôležitú úlohu pri spermálnej penetrácii a môžu ovplyvniť fertilizačnú kapacitu v období ovulácie (Fordney-Settlage, 1981). Množstvo sekretového cervikálneho hlienu sa mení v priebehu estrického cyklu a jeho zloženie je pod hormonálnou kontrolou. Zvýšená hladina estrogénov počas preovulačnej a ovulačnej periódy mení vlastnosti cervikálneho hlienu v korelácii s penetračnými schopnosťami spermií — znižuje obsah rozpustných proteínov a imunoglobulínov, zvyšuje množstvo hlienu a napomáha vytvárať micelárnu štruktúru hlienu. Používanie hormonálnych prípravkov na stimuláciu činnosti ovárií mení aj vlastnosti cervikálneho hlienu, a môže tak ovplyvňovať fertilitu ošetrovaných samíc, a tým aj úspešnosť celého zásahu. Akrosín spermií je označovaný ako trypsinu podobná proteáza. Beyler a Zaneveld (1979) skúšali úlohu tohoto enzýmu pri penetrácii cez cervikálny hlien. Použili k tomu syntetické nízkomolekulové inhibitory a zistili, že akrosín nie je nevyhnutný pre penetráciu spermií cez cervikálny mukos. Túto úlohu pripisujú skôr proteázam prítomným v semennej plazme. Znížená proteolytická aktivita semennej plazmy semena použitého pri inseminácii môže byť spolu so zvýšenou antiproteázovou aktivitou cervikálneho hlienu po hormonálnom ovplyvnení niektorou z príčin zníženej fertility.

Literatúra

- ABRAMOWITZ, J. — BIRNBAUMER, L.: Effect of trypsin, protease inhibitors and ethanol on *corpus luteum* adenyl cyclase. Biol. Reprod., 21, 1979, s. 213-217.
- ARENDARČIK, J. — MOLNÁROVÁ, M. — TOKOŠ, M.: Stimulation of sheep ovaries, production of ova, speed of their displacement and localization in the sexual tract, trypsin inhibiting activity (TIA) in plasma and cervical mucus. Poľnohospodárstvo, 29, 1983, č. 12, s. 1092-1103.
- ARENDARČIK, J. — MOLNÁROVÁ, M. — HALAGAN, J. — STANIČKOVÁ, A. — PÁSTOROVÁ, B.: Fyziologické mechanizmy ovplyvňujúce plodnosť hospodárskych zvierat, morfológické a RIA metódy. [Záverečná správa VÚ ŠPZV.] Košice, Vysoká škola veterinárska 1986. I. a II. časť. 230 s.
- ARMSTRONG, D. T.: Environmental stress and ovarian function. Biol. Reprod., 34, 1986, s. 29-39.
- BAGDARASIAN, A. — WHEELER, J. — STEWARD, G. J. — AHMED, S. S. — COLMAN, R. W.: Isolation of α_1 -protease inhibitor from human normal malignant ovarian tissue. J. clin. Invest., 67, 1981, s. 281-291.
- BARTÍK, M. — CHAVKO, M. — KASAFÍREK, E.: N- α -tosyl-L-arginine-p-nitroanilide as substrate in color test and polarographic test of trypsin. Clin. chim. Acta, 56, 1974, s. 23-30.
- BEYLER, S. A. — ZANEVELD, L. J. D.: The role of acrosin in sperm penetration through human cervical mucus. Fertil. Steril., 32, 1979, č. 6, s. 671-675.
- BONO, G. — GAIANI, R. — SEREN, E.: Prostaglandin F $_{2\alpha}$ and LH release in immature ewes. J. Reprod. Fertil., 59, 1980, s. 1-4.

- BYGDEMAN, M.: Endocrine effects of prostaglandins in fertility regulation. *Endocrin. mech. in fertility regulation*. Ed. Benagian a Diczfalusy. New York, Raven Press 1983, s. 125-139.
- FORDNEY-SETTLAGE, D.: A review of cervical mucus and sperm interactions in humans. *Int. J. Fertil.*, 26, 1981, č. 3, s. 161-169.
- HACKETT, A. J. — HIDIROGLOU, M.: Effect of PMSG on progesterone levels in ewes treated with fluorogestone acetate or PGF₂alpha. *Anim. Reprod. Sci.*, 6, 1983/1984, s. 191-197.
- HAENDLE, H. — FRITZ, H. — TRAUTSCHOLD, I. — WERLE, E.: Über einen hormonabhängigen Inhibitor für proteolytische Enzyme in männlichen accessorischen Geschlechtsdrüsen und im Sperma. *Z. phys. Chem.*, 343, 1970, s. 185.
- CHESWORTH, J. M. — EASDON, M. D.: Effect of diet and season on steroid hormones in the ruminant. *J. steroid. Biochem.*, 19, 1983, s. 715-723.
- IMOEDEMHE, D. — SHAW, R. W.: Follicular fluid alpha₁ antitrypsin — correlation with fertilizing capacity of oocytes. *Brit. J. Obstet. Gynaec.*, 93, 1986, s. 863-868.
- KRISHNAN, K. A. — VILAYAKASHMI, S. — SHEET, A. R.: Presence of low molecular weight LH/hCG and FSH binding inhibitors in human and sheep ovaries. *Ind. J. exp. Biol.*, 21, 1983, s. 229-236.
- KITAI, H. — YOSHIMURA, Y. — WRIGHT, K. H. — SANTULLI, R. — WALLACH, E.: Microvasculature of preovulatory follicles: comparison of *in situ* and *in vitro* perfused rabbit ovaries following stimulation of ovulation. *Anim. Obstet. Gynecol.*, 152, 1985, č. 7, s. 889-895.
- LEVEILLÉ, M. C. — ROBERTS, K. D. — CHEVALIER, S. — CHAPDELAINÉ, A. — BLEAU, G.: Formation of the hamster *zona pellucida* in relation to ovarian differentiation and follicular growth. *J. Reprod. Fertil.*, 79, 1987, s. 173-183.
- LINDSAY, D. R. — SIGNORET, J. P.: Influence of behaviour on reproduction. 9th int. Congr. anim. Reprod. A. I. (MADRID), Vol. I. 1980, s. 83-92.
- Mc NATTY, K. P. — LUN, S. — HEATH, D. A. — KIEBOOM, L. E. — HENDERSON, K. M.: Influence of follicular atresia on LH — induced cAMP and steroid synthesis by bovine *theca interna*. *Molec. cell. Endocrin.*, 39, 1985, s. 209-215.
- MOLNÁROVÁ, M.: Charakteristika niektorých inhibítorov proteolytických enzýmov. I. teória inhibície. *Folia veter.*, 17, 1973a, s. 415-441.
- MOLNÁROVÁ, M.: Charakteristika niektorých inhibítorov proteolytických enzýmov. II. inhibitory peptidáz a proteáz. *Folia veter.*, 17, 1973b, s. 443-470.
- MOLNÁROVÁ, M.: Gélová a afinitná chromatografia inhibítorov trypsinu cervikálneho hlienu kráv. *Folia veter.*, 19, 1975, s. 63-72.
- MOLNÁROVÁ, M.: Inhibitory trypsinu v cervikálnom hliene niektorých hospodárskych zvierat. [Kandidátska dizertácia.] Košice 1975. 178 s. — Vysoká škola veterinárska.
- MOLNÁROVÁ, M.: Afinitná chromatografia a izoelektrická fokusácia proteín-proteázových inhibítorov živočíšneho a rastlinného pôvodu. *Folia veter.*, 23, 1979, s. 81-93.
- MOLNÁROVÁ, M. — ARENDARČIK, J. — TOKOŠ, M.: Vplyv PMSG na trypsin inhibičné aktivity (TIA) krvnej plazmy, cervikálneho hlienu a niektoré reprodukčné orgány oviec v anestri. *Veter. Med. (Praha)*, 1987, v tlači.
- MOOR, R. M. — OSBORN, J. C. — CROSBY, I. M.: Gonadotropin induced abnormalities in sheep oocytes after superovulation. *J. Reprod. Fertil.*, 74, 1985, s. 167-172.
- PROKSCH, G. J. — LANE, J. — NORDSCHOW, C. D.: Interrelation on the urinary trypsin inhibitor to human plasma inter-alpha-trypsin inhibitor. *Can. clin. Biochem.*, 6, 1973, s. 200-206.
- RAHI, H. — SRIVASTAVA, D. N.: Lysozomal hydrolates in reproductive organs during estrous cycle of the hamster. *Gamete Res.*, 10, 1984, s. 57-66.
- SCHUMACHER, G. F. B. — KIM, M. H. — HOSSEIMIAN, A. A. — DUPON, C.: Immunoglobulins, protease inhibitors, albumin and lysozymes in human cervical mucus. *Amer. J. Obstet. Gynecol.*, 129, 1977, s. 629-636.
- SPANEL-BOROWSKI, K. — HEISS, CH.: Luteolysis and thrombus formation in ovaries of immature superstimulated golden hamster. *Austral. J. biol. Sci.*, 39, 1986, s. 407-416.
- TRAVIS, J.: Target enzymes for plasma proteinase inhibitors. *Folia histol. cytobiol.*, 24, 1986, s. 117-124.

Došlo dňa 10. 2. 1987

МОЛНАРОВА, М. — АРЕНДАРЧИК, Й. (Ветеринарный институт, Кошице): Изменчивость трипсинов ингибирующих активностей плазмы крови и цервикальной слизи овец после назначения $\text{PGF}_2\alpha$ и PMSG в анестре. *Veter. Med. (Praha)*, 32, 1987 (11) : 659-668.

Изменения концентрации ингибиторов протеолитических энзимов после назначения гормонов влияющих на деятельность яичников могут вызывать неравномерность в развитии фолликулов. Сериновым протеазам приписывается важная роль во время развития фолликула, овуляции и деятельности желтого тела. С целью определения изменений трипсинов ингибирующих активностей (ТИА) кровяной плазмы и цервикальной слизи после назначения $\text{PGF}_2\alpha$ (100 + 100 мг в январе и 250 + 250 мг в мае, 0 и 11 день) и 750 I. U. PMSG (одноразового назначения на 10 день) в 14-дневном опыте наблюдались дневные изменения. ТИА были установлены из замедления гидролиза синтетического субстрата N-альфа-тозил-Р-нитроанилида (ТАРА) говяжьим трипсином. При выражении ТИА плазмы крови в процентах оценки контроля видно значительное понижение на 11 и 12 дни январьного опыта (общей и низкомолекулярной ТИА). В опыте, проводившемся в мае, такое понижение было отмечено лишь на 11 день при общей ТИА, низкомолекулярная ТИА наоборот повышалась, гл. обр. после назначения PMSG. Средние значения плазматических ТИА в течение 14-дневного опыта повышались после назначения $\text{PGF}_2\alpha$ (с ТИА на $109,8 \pm 22,1\%$, n ТИА на $135,42 \pm 54,0\%$ в январе; с ТИА на $112,59 \pm 50,5\%$, n ТИА на $109,48 \pm 55,9\%$ в мае). После назначения PMSG остались повышенными ТИА в отличие от контрольных (с ТИА на $107,13 \pm 24,0\%$, n ТИА на $133,40 \pm 52,1\%$ в январе; с ТИА на $113,87 \pm 51,3\%$, n ТИА на $118,33 \pm 55,6\%$ в мае). Средние значения ТИА цервикальной слизи после назначения $\text{PGF}_2\alpha$ повисились на $3,06 \pm 1,7\%$ в отличие от контрольных $2,59 \pm 1,1\%$, после назначения PMSG на $2,82 \pm 1,9\%$ (январь, ТИА на 1 мг слизи).

протеолитические энзимы; гормоны; яичники; сериновые протеазы; фолликул

MOLNÁROVÁ, M. — ARENDARČIK, J. (University of Veterinary Medicine, Košice): *The Changes in the Trypsin Inhibiting Activities of the Blood Plasma and Cervical Mucus of Ewes after the Administration of $\text{PGF}_2\alpha$ and PMSG during Anoestrus.* *Veter. Med. (Praha)*, 32, 1987 (11) : 659-668.

The changes in the concentrations of proteolytic enzyme inhibitors after the administration of hormones influencing the activity of the ovaries can cause an imbalance in the development of follicles. Important roles are attributed to serine proteases during the development of follicle, ovulation, and activity of the *corpus luteum*. In order to find out the changes in the trypsin inhibiting activities (TIA) of the blood plasma and cervical mucus after the administration of $\text{PGF}_2\alpha$ (100 + 100 μg in January and 250 + 250 μg in May on the 0th and 11th day) and after the single administration of 750 I. U. PMSG on the 10th day, a 14-day trial was performed to investigate the circadian changes. TIA was determined by means of slowing down the hydrolysis of the synthetic substrate N-alpha-tosyl-p-nitroanilide (TAPA) by bovine trypsin. When the blood plasma TIA is expressed as the percent of the control values, a large drop is observed on the 11th and 12th days of the January trial (total as well as low-molecular TIA). In the May experiment this drop was recorded only on the 11th day in total TIA (c TIA); low-molecular TIA (n TIA), on the other hand, increased, particularly after the administration of PMSG. The average values of plasma TIA's, recorded in the course of the 14-day trial, increased after the administration of $\text{PGF}_2\alpha$ (c TIA increased to $109.8 \pm 22.1\%$, n TIA to $135.42 \pm 54.0\%$ in January; c TIA to $112.59 \pm 50.5\%$, n TIA to $109.48 \pm 55.9\%$ in May). After the administration of PMSG the TIA values remained higher than the controls (c TIA $107.13 \pm 24.0\%$, n TIA $133.40 \pm 52.1\%$ in January; c TIA $113.87 \pm 51.3\%$, n TIA $118.33 \pm 55.6\%$ in May). The average TIA values of the cervical mucus increased after $\text{PGF}_2\alpha$ administration to $3.06 \pm 1.7\%$ in comparison with the control value of $2.59 \pm 1.1\%$, and also after the administration of PMSG to $2.82 \pm 1.9\%$ (January, TIA per 1 mg of mucus).

proteolytic enzymes; hormones; ovaries; serine proteases; follicle

Adresa autorov:

Ing. Marie Molnárová, CSc., prof. MVDr. Jozef Arendarčík, DrSc., Vysoká škola veterinárska, Komenského 73, 041 81 Košice

PŘEŽÍVÁNÍ VIRU VZTEKLINY VE VNĚJŠÍCH PODMÍNKÁCH

O. Matouch, J. Jaroš, P. Pohl

MATOUCH, O. — JAROŠ, J. — POHL, P. (Státní veterinární ústav, Liberec): *Přežívání viru vztekliny ve vnějších podmínkách*. Veter. Med. (Praha), 32, 1987 (11): 669-674.

V různých podmínkách jsme sledovali přežívání uličního viru vztekliny v 10% suspenzi připravené ze slinné žlázy přirozeně infikované lišky. K průkazu viru v různých intervalech byl použit biologický pokus a titrace na myších. Tepelná inaktivace viru v suspenzi držené ve zkumavce při teplotě 20 °C a 37 °C probíhala ve dvou fázích. Rychlé snížení titru do 24 hodin bylo vystřídáno pomalejším poklesem s úplnou inaktivací po 96 hodinách při obou teplotách. Při kontaminaci různých substrátů (sklo, plech, list rostliny) množstvím 0,1 ml infekční suspenze v tenké vrstvě bylo nejdelší přežívání viru zaznamenáno při teplotě 5 °C — 144 hodiny. Při teplotě 20 až 21 °C si virus uchoval aktivitu na skle a rostlině do 24 hodin a na plechu do 48 hodin, i když nanesené kapky byly vizuálně vyschlé. Teplota 30 °C spolu s intenzivním slunečním svitem devitalizovaly virus do 1,5 hodiny, zatímco bez slunečního svitu byl virus aktivní při teplotě 30 °C ještě za 20 hodin.

infekční suspenze; kontaminace prostředí; teplota; inaktivace

Odolnost viru vztekliny proti fyzikálním, chemickým a biologickým vlivům je relativně velká. Zakopané kadávery byly ještě po pěti týdnech virulentní (Eichwald a Pitzschke, 1967) a v kadáverech myší uchovaných při teplotě 25 až 37 °C byl živý virus prokázán po deseti dnech (Lewis a Thacker, 1974).

Termální inaktivaci rhabdovirů, včetně viru vztekliny (kmeny ERA a PM), podrobně studovali Michalski aj. (1976). Autoři uvádějí, že k inaktivaci viru v tkáňovém médiu docházelo při teplotě 56 °C do 30 minut, při teplotě 37 °C za tři a půl dne a při teplotě 33 °C za více než čtyři dny.

Vůči hodnotám pH je virus lyssy rovněž značně tolerantní a uchovává si virulenci v rozmezí pH 5 až 10 (Turner a Kaplan, 1967).

Působením dezinfekčních prostředků na virus vztekliny se zabývalo mnoho prací, které se často rozcházejí v konečném hodnocení v závislosti na různých podmínkách pokusů.

V nedávné době byla studována délka přežívání a možnosti detekce viru lyssy v hnilobně narušeném materiálu s ohledem na jeho diagnostické zpracování (Jaroš aj., 1986).

Epidemiologická praxe často vyžaduje odborné vyjádření, jak dlouho zůstává virus aktivní při kontaminaci předmětů a prostředí infekčním materiálem vzhledem k expozici člověka. Za expozici je třeba považovat každý fyzický kontakt s prostředím, které obsahuje živý virus vztekliny

(Hattwick a Gregg, 1975). Předkládaná práce má rozšířit naše znalosti o přežívání viru ve vnějším prostředí za různých podmínek a na pomoci řešení konkrétních situací při ohrožení lidí a domácích zvířat.

MATERIÁL A METODY

Použité kmeny

V pokusech byly použity dva kmeny uličního viru, připravené jako originální 10% suspenze podčelistních slinných žláz přirozeně infikovaných lišek. Kmen označený R-33 SŽ měl titer $10^{-6,5}$ MICLD₅₀ na 0,03 ml při titraci na 9 až 12g myších a kmen R-37 SŽ dosáhl titru $10^{-4,74}$ MICLD₅₀ na 0,03 ml.

Jako ředidlo byl použit fyziologický roztok chloridu sodného, pH 7,4, s přidavkem 10% inaktivovaného telecího séra a 1000 j. PNC a 1 mg STR na 1 ml roztoku. Připravené suspenze byly rozplněny do zkumavek po 0,5 ml a uskladněny při teplotě -70°C . Před použitím byly rozmrazeny v chladné vodní lázni a vystaveny příslušné teplotě.

PREŽÍVÁNÍ VIRU V SUSPENZI

Pro studium dynamiky tepelné inaktivace bylo použito kmene R-37 SŽ a expozice probíhala ve zkumavkách při teplotě 20°C v laboratoři na zastíněném místě a při teplotě 37°C v termostatu.

V časových intervalech 0, 6, 12, 24, 48, 72, 96 hodin byl stanoven titer viru. Z každého ředění v log 10 byly inokulovány i. c. množstvím 0,03 ml čtyři myši o hmotnosti 12 g a titer byl vypočten podle Reeda a Muencha (1938).

PREŽÍVÁNÍ VIRU NA RŮZNÝCH SUBSTRÁTECH

Množství 0,1 ml (5 kapek) 10% suspenze kmene R-33 SŽ bylo naneseno na různý podklad — sklo, plech (hliník) a list rostliny (smetánka, *Taraxacum officinale*) tak, že virová suspenze vytvořila terčíky o velikosti 0,6 až 1 cm v průměru. Expozice při teplotě 5°C probíhala v chladničce a ve 24hodinových intervalech byl vždy proveden biologický pokus (BP) na myších (Koprowski, 1973) za účelem průkazu přítomnosti živého viru. Specifita úhynu myši v BP byla kontrolována imunofluorescenčním vyšetřením (Dean a Abelseth, 1973). Nanesený terčík suspenze byl vždy stažen a podkladový materiál opakovaně opláchnut množstvím 0,5 ml ředidla.

Expozice při teplotě 20 až 21°C probíhala v laboratoři při dokonalém zastínění a vzorky byly odebrány stejným způsobem v šestihodinovém intervalu.

Pokusy při teplotě 30 až 32°C probíhaly jednak v termostatu, jednak venku, při sluneční expozici. Virus byl prokazován u pokusů z termostatu po dvou hodinách, ve druhém případě po 30 minutách. Všechny pokusy se konaly opakovaně a pro konečné hodnocení byl vzat vždy pozitivní průkaz v nejdelším časovém intervalu od začátku expozice.

VÝSLEDKY

INAKTIVACE VIRU V SUSPENZI

Devitalizace viru měla při teplotě 20 i 37°C zhruba stejnou dynamiku. Tepelná inaktivace probíhala přibližně ve dvou fázích. Nejvyšší pokles titru byl zaznamenán do 24 hodin, a to o více než 2 log, další pokles byl pomalejší. Úplná inaktivace nastala po 96 hodinách (tab. I).

INAKTIVACE VIRU NA RŮZNÝCH SUBSTRÁTECH

Nejdelší přežívání viru bylo zaznamenáno při teplotě 5 °C, a to jak na skle, tak i na plechu — 144 hodiny.

Při teplotě 20 °C si uchoval virus virulenci na skle a na rostlině do 24 hodin, zatímco na plechu byl aktivní až 42 hodiny, navzdory skutečnosti, že kapky nanesené suspenze byly již po šesti hodinách, resp. po 24 hodinách zdánlivě vyschlé.

Při teplotě 30 °C a intenzivním slunečním svitu byla devitalizace kompletní do jedné hodiny na skle a do jedné a půl hodiny na plechu a rostlině. Bez účasti slunečního záření přežíval virus na skle při teplotě 30 °C 20 hodin. Výsledky shrnuje tab. II.

I. Průběh inaktivace viru vztekliny v suspenzi, kmen R-37 SŽ — The course of the inactivation of the rabies virus in suspension, strain R-32 SŽ

Teplota	Expozice v hodinách	Titr – log LD ₅₀
20 °C	0	4,74
	6	4,17
	12	3,25
	24	2,72
	48	2,50
	72	1,25
	96	0,00
37 °C	0	4,74
	6	4,50
	12	3,75
	24	2,24
	48	1,79
	72	0,74
	96	0,00

II. Přežívání viru vztekliny při různých teplotách na různém podkladu — The survival of the rabies virus at different temperatures on various substrates

Teplota	Substrát	Poznámka	Živý virus	
			prokázán	neprokázán
5 °C	sklo	tma, uzavřená chladnička	0 – 144 hodin	7 dní a výše
	plech	tma, uzavřená chladnička	0 – 144 hodin	7 dní a výše
20 až 21 °C	sklo	stín, po 6 hodinách vyschlé	0 – 24 hodin	30 hodin a výše
	plech	stín, po 24 hodinách vyschlé	0 – 42 hodin	48 hodin a výše
	rostlina	stín, po 24 hodinách vyschlé	0 – 24 hodin	30 hodin a výše
30 až 32 °C	sklo	sluneční svit, po 30 minutách vyschlé	0 – 30 minut	1 hodina a výše
	plech	sluneční svit, po 30 minutách vyschlé	0 – 60 minut	1,5 hodiny a výše
	rostlina	sluneční svit, po 30 minutách vyschlé	0 – 60 minut	1,5 hodiny a výše
30 °C	sklo	tma, termostat, za 2 hodiny vyschlé	0 – 20 hodin	22 hodin a výše

Úkolem řešení bylo stanovit dobu potřebnou k inaktivaci viru lyssy za různých teplotních a světelných podmínek na různých substrátech. Pokusy byly uspořádány tak, aby imitovaly kontaminaci předmětů, materiálu a prostředí infekčními slinami, popřípadě dalšími exkrekty rabičských zvířat. Dostupná literatura je na tyto údaje poměrně chudá a nekonkrétní, hlavně při definování podmínek inaktivace.

Námi získané výsledky v pokusech se suspenzí ve zkumavkách souhlasí zhruba s nálezy, které zjistil Möbest (1959); tento autor při testování viru fixe potvrzuje infektivitu suspenze po 24 hodinách, a to jak při teplotě 20 °C, tak i při teplotě 37 °C. Také Michalski aj. (1976) uvádějí údaje srovnatelné s našimi výsledky. Naproti tomu Turner a Kaplan (1967) popisují 99% ztrátu infekivity u kmene CVS v suspenzi při teplotě 37 °C již za 24 hodiny. Naše pokusy ukázaly zpočátku rychlejší, později pomalejší ztrátu infekivity s maximálním přežitím viru do čtvrtého dne a charakterizují dynamiku tepelné inaktivace v suspenzi.

Další pokusy s tenkou vrstvou na různých substrátech se již přibližovaly přírodním podmínkám. Delší přežívání viru na plechovém podkladu při teplotách 20 a 30 °C může do jisté míry souviset s fyzikálními a chemickými vlastnostmi testovaných substrátů, jako je kompaktnost, póréznost, tepelná vodivost, inertnost.

Výsledky ukazují, že se při inaktivaci viru výrazně uplatňuje UV záření. Při kontaminaci předmětů infekční suspenzí je devitalizace viru při sluneční expozici otázkou hodin. Toto zjištění je v souladu se závěry, které uvedl Harms (1963).

Obtížně lze posuzovat vliv vyschnutí suspenze na inaktivaci viru. Po vizuálním vyschnutí bylo možné prokázat aktivní virus při teplotě 20 až 21 °C ještě za 18 hodin. Tato skutečnost je zřejmě v úzké souvislosti s relativní vlhkostí prostředí, která může přispívat k přežívání viru. V našich pokusech se relativní vlhkost pohybovala obvykle mezi hodnotami 70 až 80.

Důležitým faktorem, který se rovněž může uplatnit při tepelné inaktivaci, je obsah bílkovin. Bílkoviny mají všeobecně protektivní charakter vůči fyzikálním a chemickým vlivům. V našich pokusech byl tento „bílkovinný faktor“ záměrně ponechán, aby se podmínky experimentů shodovaly se skutečnou situací.

Na závěr lze konstatovat, že na přežívání viru lyssy ve vnějším prostředí působí mnoho faktorů, jako jsou teplota, UV záření, vlhkost a další fyzikální a chemické vlastnosti prostředí, které je nutno při posuzování možného přežití viru brát v úvahu.

Získané výsledky jsou základním vodítkem, ale každý případ se musí posuzovat individuálně s ohledem na uvedené skutečnosti.

Literatura

- DEAN, D. J. — ABELSETH, M. K.: The fluorescent antibody test. In: Lab. Techn. in Rabies, Geneva, WHO 1973, s. 73-84.
EICHWALD, D. — PITZSCHKE, H.: Die Tollwut bei Mensch und Tier. Jena 1967.
HARMS, F.: Wirksamkeit von Desinfektionsmitteln gegenüber dem Tollwutvirus. Berl. Münch. tierärztl. Wschr., 76, 1963, s. 425-427.

HATTWICK, M. A. W. — GREGG, M. B.: The epidemiology of human rabies. In: BAER, G. M.: Natural history of rabies. New York, Acad. Press 1975, s. 281-304.

JAROŠ, J. — MATOUCH, O. — POHL, P.: Studium možnosti diagnostiky lyssy z biologicky narušeného materiálu. Veterinářství, 26, 1986, s. 555-557.

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

LEWIS, V. J. — THACKER, W. L.: Limitations of deteriorated tissue for rabies diagnosis. Hlth Lab. Sci., 11, 1974, s. 8-12.

MICHALSKI, F. — PARKS, N. F. — SOKOL, F. — CLARK, H. F.: Thermal inactivation of rabies and other rhabdoviruses: Stabilization by the chelating agent ethylenediaminetetraacetic acid and physiological temperatures. Infect. and Immun., 14, 1976, s. 135-154.

MÖBEST, H.: Ein experimenteller Hinweis zur Frage der Temperaturempfindlichkeit des Virus fixe Pitman-Moore. Arch. Hyg. Bakteriell., 142, 1958, s. 581-587.

REED, L. J. — MUENCH, H.: A simple method of estimating fifty percent endpoints. Amer. J. Hyg., 27, 1938, s. 493-497.

TURNER, G. S. — KAPLAN, M. M.: Some properties of fixed rabies virus. J. gen. Virol., 1, 1967, s. 537-551.

Došlo dne 10. 2. 1987

MATOUX, O. — ЯРОШ, Я. — ПОГЛ, П. (Государственный ветеринарный институт, Либерец): **Выживание вируса бешенства в условиях внешней среды.** Veter. Med. (Praha), 32, 1987 (11): 669-674.

В различных условиях мы наблюдали выживание уличного вируса бешенства в 10 % суспензии приготовленной из слюнной железы естественно инфицированной лисицы. Для доказательства вируса в различных интервалах применялся биологический опыт и титрование на мышах. Температурная инактивация вируса в суспензии, хранящейся в пробирке при температуре 20 °C и 37 °C проходила в двух фазах. Быстрое понижение титра до 24 было заменено более медленным снижением с полной инактивацией после 96 часов при двух температурах. При заражении различных субстратов (стекло, железо, лист растения) множеством 0,1 мл инфекционной суспензией в тонком слое выживание вируса было отмечено при температуре 5 °C — 144 часа. При температуре 20—21 °C вирус обладал активностью на стекле и растении до 24 часов и на железе 48 часов, и хотя нанесенные капли являлись визуальными высохшими. Температура 30 °C вместе с интенсивным солнечным светом девитализировали вирус до 1,5 часа, в то время как без солнечного света вирус был активным при температуре 30 °C еще за 20 часов.

инфекционная суспензия; заражение среды; температура; инактивация

MATOUCH, O. — JAROŠ, J. — POHL, P. (State Veterinary Institute, Liberec): **Survival of the Rabies Virus under External Conditions.** Veter. Med. (Praha), 32, 1987 (11): 669-674.

The survival of the street rabies virus in a 10% suspension, prepared from the salivary gland of a naturally infected fox, was studied under various conditions. A bioassay and titration on mice were used for the identification of the virus in different intervals. The heat inactivation of the virus in a suspension kept in a test tube at the temperatures of 20 °C and 37 °C was performed in two stages. The rapid reduction of the titre within 24 hours was followed by a slower decrease, reaching total inactivation after 96 hours at both temperatures. When the virus was tested by means of the contamination of various substrates (glass, metal sheet, plant leaf) with 0.1 ml of infection suspension in a thin layer, the longest survival of the virus was recorded at the temperature of 5 °C — 144 hours. At the temperature of 20 to 21 °C the virus kept its activity on the glass and plant leaf for 24 hours and on the metal sheet for 48 hours although the applied drops looked like having dried. The temperature of 30 °C combined with intensive sunshine devitalized the virus within 1.5 hours, whereas without sunshine the virus still remained active, at the temperature of 30 °C, after 20 hours.

infective suspension; contamination of environment; temperature; inactivation

MATOUCH, O. — JAROŠ, J. — POHL, P. (Staatliches Veterinärinstitut, Liberec): *Überlebenszeit des Tollwutvirus unter Außenbedingungen*. Veter. Med. (Praha), 32, 1987 (11) : 669-674.

Wir verfolgten das Überleben des Straßenvirus der Tollwut in 10⁰/₀iger, aus der Speicheldrüse eines natürlich infizierten Fuchses zubereiteter Suspension unter verschiedenen Bedingungen. Zum Nachweis des Virus in verschiedenen Zeitintervallen wurde ein biologischer Versuch und eine Titration auf Mäusen vorgenommen. Die thermische Inaktivierung des Virus in einem bei 20 °C und 37 °C aufbewahrten Reagenzglas verlief in zwei Phasen. Eine rasche Senkung des Titors in den ersten 24 Stunden wird durch einen langsameren Rückgang mit vollständiger Inaktivierung nach 96 Stunden bei beiden geprüften Temperaturen abgelöst. Bei einer Kontamination verschiedener Substrate (Glas, Blech, Pflanzenblätter) mit einer Menge von 0,1 ml der Infektionssuspension in einer dünnen Schicht wurde die längste Überlebenszeit des Virus bei der Temperatur von 5 °C verzeichnet u. zw. 144 Stunden. Bei einer Temperatur von 20 bis 21 °C behielt das Virus seine Aktivität auf Glas und Pflanzenblatt bis zu 24 Stunden und auf Blech 48 Stunden, obgleich die aufgetragenen Tropfen visuell als vertrocknet erschienen. Eine Temperatur von 30 °C zusammen mit intensivem Sonnenschein devitalisierten das Virus während 1,5 Stunden, während ohne Sonnenbestrahlung das Virus bei 30 °C Temperatur noch nach 20 Stunden aktiv war.

Infektionssuspension; Umweltkontamination; Temperatur; Inaktivierung

Adresa autorů:

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

PŘÍPRAVA MYKOTOXINU OCHRATOXIN A K VÝZKUMNÝM A DIAGNOSTICKÝM ÚČELŮM

J. Ruprich, A. Piskač

RUPRICH, J. — PISKAČ, A. (Institut hygieny a epidemiologie, Brno; Vysoká škola veterinární, Brno): *Příprava mykotoxinu ochratoxin A k výzkumným a diagnostickým účelům*. Veter. Med. (Praha), 32, 1987 (11) : 675-680.

Na produkci mykotoxinu ochratoxin A byly testovány kmeny plísní *Aspergillus melleus* (CCM F 802), *Aspergillus ochraceus* (CCM 8002) a *Aspergillus ochraceus* (CCM F 803). K laboratorní přípravě ochratoxinu A se osvědčil kmen *Aspergillus melleus* (CCM F 802). Plíseň byla pomnožena na přirozeném substrátu, 14 dnů, při teplotě 28 °C a při 100% relativní vlhkosti. Ochratoxin A byl extrahován do organických rozpouštědel (chloroform + kyselina octová), purifikován vodnými alkalickými roztoky a preparativní chromatografií v tenké vrstvě. Izolovaný mykotoxin byl identifikován fyzikálně-chemickými metodami. Z 600 g substrátu bylo izolováno 305 mg čistého ochratoxinu A.

toxinogenní plísně; substrát; organická rozpouštědla; alkalické roztoky; preparativní chromatografie

Mezi nejvýznamnější toxické produkty toxinogenních plísní rodů *Aspergillus* a *Penicillium* patří mykotoxiny ze skupiny ochratoxinů (obr. 1), z nichž svou toxicitou vyniká především ochratoxin A (LD₅₀ = 22 mg . kg⁻¹ p. o. pro krysu; Cole a Cox, 1981). Mezi nejčastěji se vyskytující ochratoxiny produkující plísně patří *Aspergillus ochraceus*, *A. sulphureus*, *A. melleus*, *Penicillium viridicatum*, *P. palitans*, *P. cyclopium*, *P. commune* a další (Moreau, 1974; Veselý, 1980). Ochratoxin je řazen mezi hepatotoxické a nefrotoxické látky, je považován za původce mykotoxické nefropatie člověka i zvířat (Krogh, 1978). Nejčastější příčinou onemocnění je konzumace kontaminovaných cereálií, u člověka i konzumace masa a vnitřních orgánů zvířat, která byla krmena krmivem kontaminovaným ochratoxinem. Značné problémy s kontaminací živočišných produktů ochratoxiny jsou zjišťovány zejména v přímořských oblastech (Balkánský poloostrov, Skandinávie aj.). V našich podmínkách prokázali výskyt ochratoxinu A v obilovinách Veselá aj. (1978), v krmivu prasat Piskač aj. (1979), kteří také stanovili

1. Struktura ochratoxinu A, B, C —
Structure of ochratoxin A, B, C

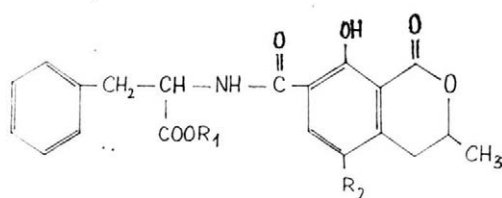
1. R₁ = H; R₂ = Cl

= ochratoxin A

2. R₁ = R₂ = H

= ochratoxin B

3. R₁ = CH₂-CH₃; R₂ = Cl = ochratoxin C (etyléster ochratoxin A)



ochratoxin A jako příčinu onemocnění a úhynu prasat ve velkochovu. Rozsáhlé studie o úrovni kontaminace potravin a krmiv plísněmi produkujícími ochratoxin A dělali Kusák aj. (1980). Ve své práci se zabývali i možnostmi přípravy ochratoxinu A pro diagnostické a výzkumné účely. Popsané postupy však nebyly zcela dostačující pro purifikaci ochratoxinu A produkovaného kmeny plísní dostupných v současné době v Československé sbírce mikroorganismů v Brně (CCM). Proto jsme se v naší práci zaměřili na otestování nových produkčních kmenů, na produkci ochratoxinu A ve větším množství a na jednoduchou purifikaci.

MATERIÁL A METODY

Při práci jsme používali:

Kmeny plísní potencionálně produkující ochratoxin A: *A. melleus* (CCM F 802), *A. ochraceus* (CCM F 8002), *A. ochraceus* (CCM F 803). Standard ochratoxinu A (0-4001 Sigma), ochratoxinu B (VEREŠ, ČSAV Praha), chloroform, metanol, kyselina octová, vše p. a. (Lachema); hydrouhličitan sodný p. a., kyselina chlorovodíková p. a., kyselina fosforečná p. a. (Lachema); Silufol (desky pro TLC; Kavalier); KIESELGEL 60 (Art. 9385 MERCK); Sephadex LH-20 (Pharmacia) a další běžné chemikálie; Czapkův agar (Imuna); Karlovarské suchary, ječmen. Pomůcka pro LC chromatografii (MERCK), pomůcky pro LC chromatografii (Labora), UV-lampa 254/360 nm (REICHEL, Chem. Tech.) (SPECORD M-40, Carl Zeiss Jena) a další běžné laboratorní zařízení.

Dekontaminaci jsme prováděli stejně jako u aflatoxinů v 5% roztoku NaOH a 3% roztoku NaClO po dobu minimálně 24 hodin.

VÝSLEDKY A DISKUSE

Celkem byly otestovány tři potencionální kmeny plísní na produkci ochratoxinu A ze sbírek CCM v Brně. Po oživení kmenů na Czapkově agaru byla plíseň přeočkována na misku s 20 g drcených Karlovarských sucharů, které byly použity jako substrát pro produkci. Plíseň byla kultivována po upravení vlhkosti substrátu na 50 % po dobu 14 dnů při teplotě 28 °C v temnu. Po extrakci do chloroformu s přidavkem kyseliny octové (3%) byla testována produkce ochratoxinu A pomocí chromatografie v tenké vrstvě (Silufol, nenasycená komora soustava — benzen : metanol : kyselina octová 18 : 1 : 1. Nejvýhodnější vzhledem k produkci byl kmen CCM-802 [odpovídá kmeni *Asp. melleus* NRRL 3520]. Obdobně byla testována i produkce na ječmeni. Proti Karlovarským sucharům však produkce ochratoxinu A na ječmeni nebyla výhodnější.

Vlastní produkce ochratoxinu A byla provedena takto: 600 g Karlovarských sucharů (R) bylo sterilizováno a vlhkost byla upravena na 50 %. Do takto připraveného substrátu byla naočkována kultura plísně CCM-802. Kultivace probíhala 15 dnů v temnu při laboratorní teplotě. Růst plísně byl kontrolován po pěti dnech (produkce toxinu byla kontrolována pomocí UV-lampy — modrozelená fluorescence).

Po skončení kultivace byla kultura, okyselená přidavkem 800 ml 0,1 M kyseliny fosforečné, extrahována do čtyř litrů chloroformu. Po přefiltrování extraktu do vhodné skleněné nádoby byl odsát vodní podíl extraktu, včetně tukových skvrn na rozhraní vodní a organické fáze. Organická fáze extraktu (žlutočervená barva) byla pak částečně zahušťována a alkalizována přidavkem 5% roztoku NaHCO₃ v nadbytku (3 litry).

Oddělenou vodnou fází obsahující ochratoxin A okyselíme 10% HCl na pH = 1 (pozor na pění vlivem unikajícího CO₂). Ochratoxin A vy-
padává z roztoku a je možné jej opět extrahovat chloroformem. Celý
postup reextrakce byl opakován ještě jednou. Vodná alkalická fáze však
byla před okyselením extrahována stejným dílem n-hexanu, aby se od-
stranily části nečistot. Chloroformový extrakt byl vysušen bezvodým
síranem sodným, zahuštěn a podroben čištění na sloupci Sephadexu
LH-20 (20 X 500 mm). Jako eluční činidlo byl použit chloroform. Získaný
eluát obsahující směs ochratoxinů A a B byl odpařen do sucha (v baňce
zůstává olejovitý, průhledný film). Odparek jsme rozpustili v malém
množství chloroformu a podrobili preparativní chromatografii v tenké
vrstvě. Osvědčily se nám desky Silufol (20 X 20 cm). Na desku lze na-
nést až 15 mg směsi ochratoxinů bez narušení dělicí schopnosti. Desky
jsme vyvíjeli v soustavě benzen : metanol : kyselina octová, kterou jsme
již popsali. Preparativní chromatografie v tenké vrstvě má proti sloup-
cové chromatografii výhodu ve vyšší dělicí účinnosti a relativně jedno-
duché manipulaci. Pomocí sloupcové chromatografie na Kieselgelu 60
podle Kusáka aj. (1980) se nám nepodařilo dostatečně oddělit
ochratoxin A od ochratoxinu B, který byl kmenem CCM-802 rovněž pro-
dukován.

Po detekci v UV světle byla skvrna ochratoxinu A vystřižena a ihned
eluována chloroformem s přídávkem 5% kyseliny octové. Získaný eluát
byl pak opakovaně vytřepán nadbytkem destilované vody (pro odstra-
nění kyseliny octové). Eluát byl vysušen bezvodým síranem sodným
a odpařen na vakuové odparce do sucha. Ochratoxin A vytvořil po od-
paření na stěnách baňky průhlednou vrstvu, připomínající led. Odparek
rozpuštěme v malém množství chloroformu a ten pak vstříkujeme pipe-
tou do n-hexanu v centrifugační zkumavce (množství n-hexanu by mělo
minimálně stonásobně převyšovat množství vstříkovaného chloroformo-
vého roztoku). Při vstříknutí chloroformového roztoku do n-hexanu vy-
padávají velké vločky precipitátu ochratoxinu A, který dobře sedimentuje
a po centrifugaci (4000 ot/min, 10 minut) pevně ulpí na dně zkumavky.
Není-li dodržen poměr chloroformu : n-hexanu, vzniká pouze mléčný zá-
kal, který nesedimentuje!

Po odstředění slijeme n-hexan a precipitát opatrně vysušíme ve
vakuu. Kvalitu připraveného ochratoxinu A kontrolujeme pomocí chro-
matografie v tenké vrstvě a UV spektrem, kterým stanovíme kvantitu.
Identitu připravené látky ověříme NMR a hmotovou spektrometrií.

Uvedeným postupem jsme v daném případě získali (při použití kme-
ne CCM-802) celkem 305 mg čistého ochratoxinu A v suché formě. Ztráty
při čištění činí podle našeho odhadu 40 až 50 % (v hrubém extraktu
byla koncentrace určena pouze semikvalitativně). Takto připravený
ochratoxin A byl vhodný k dalším účelům a laboratorní diagnostice in-
toxikací tímto mykotoxinem.

Pro doplnění uvádíme některá základní fyzikálně-chemická data
ochratoxinu A, použitelná při jeho přípravě. Jedná se o látky kyselé po-
vahy o sumárním vzorci C₂₀H₁₈O₆NCl molekulové hmotnosti 403,0822,
jež je dobře rozpustná ve většině organických rozpouštědel a v alkalic-
kých vodných roztocích. Hůře se rozpouští v organických rozpouštědlech
v alkalickém prostředí, což lze využít k čištění.

V přehledu uvádíme účinnost extrakce ochratoxinu A do chloroformu a n-hexanu v závislosti na prostředí (Kusák aj., 1980 — upraveno):

prostředí vodné fáze (100 %)	účinnost extrakce chloroformem (%)	účinnost extrakce n-hexanem (%)
0,01 M HCl v 5% NaCl	100	37
5% NaCl	25	3
5% NaHCO ₃	3	3

Ochratoxin A je znám krystalický ve dvou formách: krystalizovaný z benzenu — obsahuje přibližně 1 mol benzenu, bod tání je 94 až 96 °C, a krystalizovaný z xylenu s bodem tání 169 °C (Cole a Cox, 1981). Krystalky jsou bezbarvé.

I. Spektrální data (UV — VIS ochratoxinu A — Spectral data (UV — VIS) of ochratoxin A

Prostředí	Absorpční maximum nm	Mol. absorpční koeficient	Citace
Vodné roztoky s pH 5,2	333	—	Kusák aj., 1980
Vodné roztoky s pH 7,1	380	—	Kusák aj., 1980
Metanol	215	36 800	Cole a Cox, 1981
	333	6 400	
Etanol	213	36 800	Krogh, 1978
	322	6 400	
Metanol/0,0005 M H ₂ SO ₄	216	31 500	Steyn, 1984
	330	6 400	
Metanol	210	37 060	Steyn, 1984
	330	6 050	
Benzen + kyselina octová (99 + 1)	333	5 550	AOAC, 1980

UV spektrum ochratoxinu A je závislé na pH prostředí (tab. I). Při pH = 7,4 se maximum posunuje z oblasti 333 nm do 380 nm vlivem disociace fenolické hydroxy-skupiny (Steyn, 1984).

Pro fluorodenzitometrické vyhodnocení tenkovrstvé chromatografie jsou doporučována data:

	excitační maximum	emisní maximum
— v kyselém médiu —	310—340 nm	440—475 nm
— v alkalickém médiu —	360—390 nm	427—445 nm

Při detekci v UV světle (360 nm) je ochratoxin A patrný jako modrozelená fluoreskující skvrna, jež se po vystavení párám amoniaku nebo po postřiku roztokem hydroxidu sodného mění na jasně modrou fluorescenci.

Uvedený postup přípravy ochratoxinu A byl na našem pracovišti použit při výzkumu a vývoji nové diagnostické metody pro stanovení ochratoxinu A — radioimunologického stanovení.

Literatura

- COLE, R. J. — COX, R. H.: Handbok of toxic fungal metabolites. New York, Academic Press 1981. 137 s.
- KROGH, P.: Causal associations of mycotoxic nephropathy. Acta path. microbiol. scand., Suppl. 269, 1978. 28 s.
- KUSÁK, V. — VESELÝ, D. — VESELÁ, D.: Výzkum vlastností a vznik aflatoxinů v potravinách. Ochratoxiny. [Závěrečná zpráva VÚ.] Olešnice v Orlických horách, Ústav experimentální medicíny ČSAV 1980, s. 31-42.
- MOREAU, G.: Moisissures toxiques dans l'alimentation. Paris, Masson et Cie 1974. 471 s.
- PISKAČ, A. aj.: Mykotoxická nefropatie prasat ve velkochovech. Veterinářství, 29, 1979, č. 6, s. 253-255.
- STEYN, P. S.: Ochatoxins and related dihydroiso-coumarins. Mycotoxins — production, isolation, separation and purification. Amsterdam, Elsevier 1984, s. 183-216.
- VESELÁ, D. — VESELÝ, D. — JELÍNEK, S. — KUSÁK, V.: Nález ochratoxinu A v krmném ječmeni. Veter. Med. (Praha), 23, 1978, s. 431-436.
- VESELÝ, D.: Nejvýznamnější toxinogenní plísňe a jejich mykotoxiny. [Studijní materiály.] Olešnice v Orlických horách, Ústav experimentální medicíny 1980. Chapter 26. Natural poisons. Mycotoxins. J. Assoc. off. analyt. Chem., 1980, s. 428-430.

Došlo dne 24. 3. 1987

РУПРИХ, Й. — ПИСКАЧ, А. (Институт гигиены и эпидемиологии, Брно; Ветеринарный институт, Брно): Получение микотоксина охратоксин А для исследований и диагностики. Veter. Med. (Praha), 32, 1987 (11) : 675-680.

Для получения микотоксина охратоксина А испытывались штаммы плесней *Aspergillus melleus* (CCM F 802), *Aspergillus ochraceus* (CCM 8002) и *Aspergillus ochraceus* (CCM F 803). При получении охратоксина А в лабораторных условиях оправдал себя штамм *Aspergillus melleus* (CCM F 802). Плесень размножалась на естественном субстрате 14 дней, при температуре 28 °C и при 100 % относительной влажности. Охратоксин А был экстрагирован в органические растворители (хлороформ + уксусная кислота), очищен водными щелочными растворами и препаративной хроматографией в тонком слое. Изолированный микотоксин был идентифицирован физически — химическими методами. Из 600 г субстрата было изолировано 305 мг чистого охратоксина А.

токсигенные плесени; субстрат; органические растворители; щелочные растворы; препаративная хроматография

RUPRICH, J. — PISKAČ, A. (Institute of Hygiene and Epidemiology, Brno; University of Veterinary Medicine, Brno): Preparation of the Mycotoxin Ochatoxin A for Research and Diagnostic Purposes. Veter. Med. (Praha), 32, 1987 (11) : 675-680.

The following fungal strains were tested for the production of the mycotoxin ochratoxin A: *Aspergillus meleus* (CCM F 802), *Aspergillus ochraceus* (CCM 8002) and *Aspergillus ochraceus* (CCM F 803). The strain *Aspergillus melleus* (CCM F 802) proved to be very suitable for the laboratory preparation of ochratoxin A. The mould was multiplied on a natural substrate for 14 days at the temperature of 28 °C and at 100% relative humidity. Ochatoxin A was extracted into organic solvents (chloroform + acetic acid), purified with aqueous alkaline solutions and

by preparative thin-layer chromatography. The isolated mycotoxin was identified by physico-chemical methods. The amount of pure ochratoxin A isolated from 600 g of substrate was 305 mg.

toxicogenic fungi; substrate; organic solvents; alkaline solutions; preparative chromatography

RUPRICH, J. — PISKAČ, A. (Institut für Hygiene und Epidemiologie, Brno; Veterinärmedizinische Hochschule, Brno): *Zubereitung des Mykotoxin Ochratoxin A für Forschungs- und Diagnosezwecke*. Veter. Med. (Praha), 32, 1987 (11) : 675-680.

Stämme der Schimmelpilze *Aspergillus melleus* (CCM F 802), *Aspergillus ochraceus* (CCM 8002) und *Aspergillus ochraceus* (CCM F 803) wurden in bezug auf die Produktion des Mykotoxins Ochratoxin A getestet. Zur Laborzubereitung des Ochratoxins bewährte sich am besten *Aspergillus melleus* (CCM F 802). Der Schimmelpilz wurde auf natürlichem Substrat, 14 Tage lang, bei 28 °C Temperatur und relativer Luftfeuchtigkeit von 100 % vermehrt. Das Ochratoxin A wurde in organische Lösemittel (Chloroform + Essigsäure) extrahiert, mittels alkalischer Wasserlösungen und präparativer Dünnschichtchromatographie purifiziert. Das isolierte Mykotoxin wurde anhand physikalisch-chemischer Methoden identifiziert. Aus 600 g Substrat wurden 305 mg reinen Ochratoxins isoliert.

toxinogene Schimmelpilze; Substrat; organische Lösemittel; alkalische Lösungen; präparative Chromatographie

Adresy autorů:

MVDr. Jiří Ruprich, Institut hygieny a epidemiologie, 600 00 Brno
Prof. MVDr. Alois Piskač, DrSc., Vysoká škola veterinární, Palackého 1-3, 612 42 Brno

SEZÓNÍ DYNAMIKA SYNBOVILNÍCH MUCH (DIPTERA : MUSCIDAE) BĚHEM PASTEVNÍHO OBDOBÍ V LOKALITĚ JAROV

M. Muška

MUŠKA, M. (Parazitologický ústav ČSAV, České Budějovice): *Sezónní dynamika synbovilních much (Diptera: Muscidae) během pastevního období v lokalitě Jarov*. Veter. Med. (Praha), 32, 1987 (11) : 681-688.

Zaměřili jsme se na průzkum synbovilních much a jejich sezónní dynamiku v průběhu celého pastevního období na pastvinách skotu v okrese Strakonice. K odchytům jsme použili Skufinův lapák. Během série odchytů prováděných ve dvoutýdenních až třítydenních intervalech bylo získáno 2096 dvoukřídých. Nejvíce byla ve sběrech zastoupena čeleď *Muscidae* s 23 druhy (*Musca autumnalis* 65,9 %; *Hydrotaea meteorica* 20,4 %; *Hydrotaea irritans* 4,2 %; *Haematobosca stimulans* 2,6 %). Maximum výskytu hematofágních druhů bylo zaznamenáno na začátku a na konci pastevního období. Maximum výskytu sekretofágních druhů bylo zaznamenáno v měsíci červnu.

dvoukřídli; sekretofágní druhy; hematofágní druhy; Skufinův lapák

Je všeobecně známo a experimentálně prokázáno, že synbovilní mouchy mají negativní vliv na mléčnou užitkovost a hmotnostní přírůstky skotu chovaného pastevním způsobem (Minář a Lamatová, 1980). Jejich škodlivost spočívá v tom, že se účastní přenosu některých infekčních a parazitárních onemocnění, čímž se zhoršuje zdravotní stav zvířat ve stádě a v neposlední řadě je skot zneklidňován během pastvy a při odpočinku. Mouchy napadající skot na pastvě lze dělit na dvě skupiny. Sekretofágní druhy aktivně napadají oči a sají slzy a oční sekrety. Za určitých okolností mohou sehrát významnou úlohu při šíření infekční keratokonjunktivitidy skotu (Dusbábek aj., 1982; Gregor a Dusbábek, 1982). Imaga druhu *Hydrotaea irritans* se podílejí na přenosu „letní mastitidy“ (Hillerton aj., 1983). Hematofágní druhy se živí krví napadeného skotu. Vzhledem k uvedeným negativním vlivům je redukce synbovilních much jednou z cest, jak zvýšit ekonomiku chovu skotu. První podmínkou pro organizaci úspěšného boje se synbovilními mouchami je vyjasnění druhového složení a jejich sezónní dynamiky. Proto jsem se v roce 1986 zaměřil na sledování těchto aspektů na jedné z pastvin v jižních Čechách, která patří JZD Vodňany.

MATERIÁL A METODY

Lokalita je v podhůří Šumavy s vrchovinovým reliéfem, s nadmořskou výškou 550 m, průměrnou roční teplotou 7 °C a průměrnými ročními srážkami 600 mm. Jedná se o enklávu pastvin s rozptýlenými křovinami a stromy v komplexu jehlič-

I. Základní údaje o počasí v den odchyty — Basic data on weather conditions on the day of sample trapping

Den	Teplota vzduchu (°C)			Relativní vlhkost (%)			Délka slunečního svitu (h)
	průměrná	max.	min.	7 h	14 h	21 h	
13. 5.	16,9	26,5	5,0	88	40	90	11,2
21. 5.	17,6	22,6	13,3	100	80	94	9,8
10. 6.	15,5	21,6	6,0	90	45	79	13,9
2. 7.	20,6	27,3	12,2	82	42	75	13,9
18. 7.	16,9	24,3	13,5	90	70	78	13,9
23. 7.	20,4	31,0	9,4	78	37	56	12,8
6. 8.	16,1	24,8	10,3	95	41	82	13,0
12. 9.	13,4	21,8	2,5	98	49	92	8,3
24. 9.	12,1	18,4	5,8	98	61	84	6,5
3. 10.	13,4	19,2	6,2	97	72	87	9,8
15. 10.	7,0	14,9	-1,0	97	68	86	9,5

natých porostů. Asi 300 m od pastvin je menší zemědělský objekt s kravínem staršího typu. Od května do října je zde pastevním způsobem chováno 50 kusů žirného skotu plemene Hereford. K odchytům much byl použit Skufinův lapák (kovový rám pokrytý černou látkou — Skufin, 1951), který představuje model krávy, a tak mouchy do ní chycené jsou do značné míry identické s mouchami nalétávajícími na skot. Lapák byl umístěn v těsné blízkosti pasoucího se skotu, od 8.00 do 18.00 až 21.00 hodin. V době od 13. května do 15. října 1986 bylo uskutečněno 11 odchytů v týdenních až třítydenních intervalech. Údaje o počasí jsou uvedeny v tab. I. Po usmrcení much octanem etylnatým byl získaný materiál fixován 70% alkoholem. Za pomoc při determinaci děkuji dr. ing. F. Gregorovi, CSc. Nomenklatura druhů je uváděna podle autorů Pont aj. (1986).

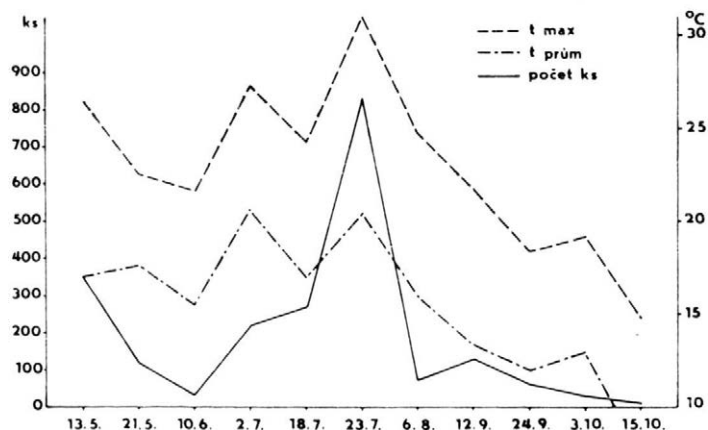
VÝSLEDKY

Sérií odchytů bylo získáno 2096 jedinců. Nejvíce byla zastoupena čeleď *Muscidae* s 23 druhy, méně pak *Anthomyidae*, *Calliphoridae*, *Sarcophagidae*, u nichž se jedná spíše o náhodné nálety do lapáku.

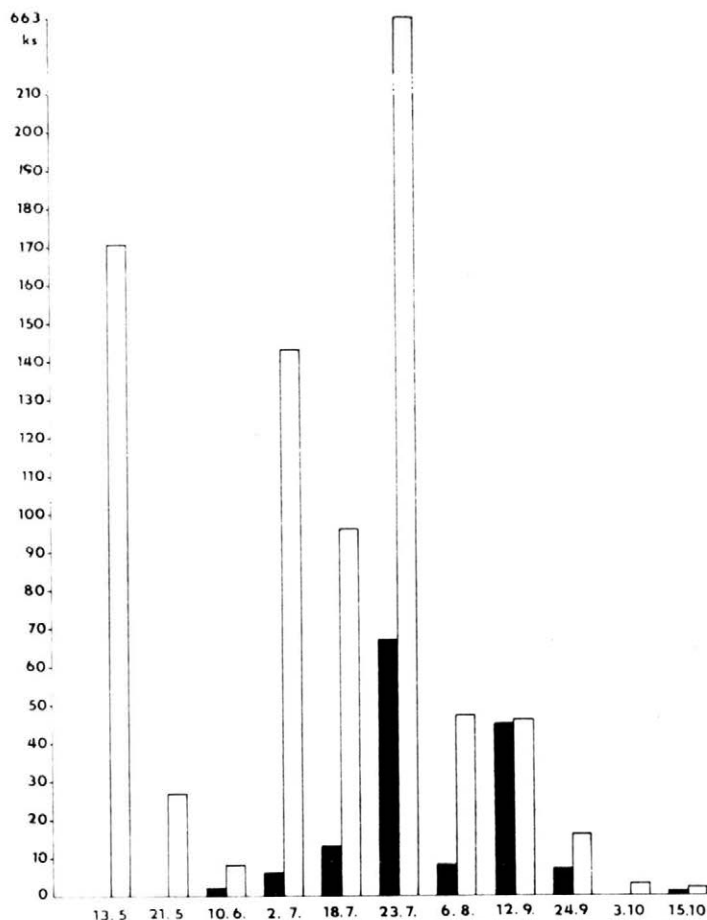
Přehled jednotlivých druhů čeledi *Muscidae* uvádí tab. II. Průběh sezónní dynamiky synbovilních much je zachycen na obr. 1. Dominance druhů je hodnocena podle Schwerdtfegera (1975). Z celkového odchytu jsou dva druhy eudominantní: *Musca autumnalis*, *Hydrotaea meteorica*; dva druhy subdominantní; *Hydrotaea irritans*, *Haematobosca stimulans*; jeden druh recedentní: *Fannia armata* a tři druhy subrecedentní: *Morellia hortorum*, *Musca domestica*, *Fannia serena*. Procentuální zastoupení těchto druhů a poměr pohlaví uvádí tab. III. U těchto druhů byla také sledována jejich sezónní dynamika.

1. *Musca autumnalis* (obr. 2) je nejrozšířenějším synbovilním druhem na pastvinách. Nejvýraznější maximum výskytu tohoto druhu bylo zaznamenáno v červenci. Od května do července je ve sběrech výrazná převaha samic, pak se začíná poměr pohlaví vyrovnávat v důsledku poklesu množství samic.

1. Průběh sezónní dynamiky synbovilních much se záznamy průměrných (t prům) a maximálních (t max) denních teplot — Seasonal dynamics of synbovine flies with records of the average (t prům) and maximum (t max) daily temperatures



2. Sezónní dynamika druhu *Musca autumnalis* (černě — samci, bíle — samice) — Seasonal dynamics of the species *Musca autumnalis* (solid symbols — males, open symbols — females)



II. Systematický přehled synbovilních much za období od 13. 5. 1986 do 15. 10. 1986
period from the 13th May 1986 to the 15th October 1986 at the Jarov locality

Druh	13. 5.	21. 5.	10. 6.	2. 7.
<i>Musca autumnalis</i> (Degeer)	171	27	10	159
<i>Musca domestica</i> (L.)	—	—	1	8
<i>Musca osiris</i> (Wd.)	—	—	—	—
<i>Hydrotaea irritans</i> (Fll.)	—	—	—	17
<i>Hydrotaea meteorica</i> (L.)	115	58	11	27
<i>Hydrotaea floccosa</i> (Macq.)	—	—	—	—
<i>Haematobosca stimulans</i> (Mg.)	38	2	—	—
<i>Stomoxys calcitrans</i> (L.)	—	—	—	—
<i>Morellia hortorum</i> (Fll.)	6	1	2	—
<i>Polieta lardaria</i> (F.)	—	—	—	—
<i>Neomyia cornicina</i> (Fabr.)	—	—	—	—
<i>Muscina levida</i> (Harris)	—	—	—	—
<i>Myospila mediatunda</i> (F.)	—	—	—	2
<i>Fannia armata</i> (Mg.)	8	11	—	—
<i>Fannia serena</i> (Fll.)	2	7	1	—
<i>Fannia barbata</i> (Stein)	—	2	—	—
<i>Fannia postica</i> (Stein)	—	1	—	—
<i>Fannia similis</i> (Stein)	—	1	—	—
<i>Fannia canicularis</i> (L.)	2	3	—	—
<i>Phaonia serva</i> (Mg.)	—	—	1	—
<i>Phaonia trimaculata</i> (Bouché)	—	—	—	—
<i>Phaonia angelicae</i> (Scop.)	—	—	—	—
<i>Phaonia</i> sp.	—	—	—	2
<i>Anthomya pluvialis</i> (L.)	2	—	—	—
<i>Delia platura</i> (Mg.)	—	—	1	—
Tachinidae	—	—	1	—
Calliphoridae	—	2	—	3
Sarcophagidae	1	—	—	—
Celkem				

2. *Hydrotaea meteorica* (obr. 3). Maxima výskytu tohoto druhu byla zaznamenána v květnu a v červenci. Od konce července nastává výrazný pokles výskytu tohoto druhu.

3. *Hydrotaea irritans* (obr. 4). Nástup a současně maximum výskytu tohoto druhu bylo pozorováno v červenci. Samci byli zaznamenáni pouze v tomto měsíci.

4. *Haematobosca stimulans* (obr. 5). Maximum výskytu tohoto hematofágního druhu bylo v květnu s převahou samců. Další záchyt byl až na konci září. Zde však se změnil poměr pohlaví v prospěch samic.

5. *Stomoxys calcitrans*. Tento hematofágní druh byl zaznamenán

v lokalitě Jarov (Skufinův lapák) — A systematic survey of synbovine flies for the (Skufin's trap)

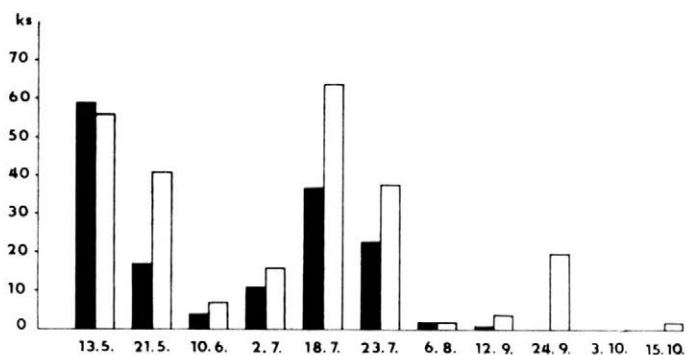
	18. 7.	23. 7.	6. 8.	12. 9.	24. 9.	3. 10.	15. 10.	Celkem
	109	730	55	91	23	3	3	1381
	—	—	—	8	—	—	—	17
	6	—	—	—	—	—	—	6
	27	27	4	—	8	4	—	87
	101	61	4	5	20	23	2	427
	—	1	—	3	—	—	—	4
	—	—	—	—	12	2	1	55
	1	2	—	—	—	—	—	3
	6	4	—	—	—	—	—	19
	1	—	—	2	—	2	—	5
	—	—	1	—	—	—	—	1
	3	—	—	1	—	2	—	6
	—	1	1	—	—	—	—	4
	3	—	—	1	—	—	—	23
	4	—	—	—	—	—	—	14
	—	—	—	—	—	—	—	2
	—	—	—	—	—	—	—	1
	1	—	—	—	—	—	—	2
	1	—	—	2	—	—	—	8
	—	—	—	—	—	—	—	1
	—	—	—	1	—	1	—	2
	—	—	—	1	—	—	—	1
	—	—	1	—	—	—	—	3
	—	—	—	—	—	—	—	2
	—	2	—	—	—	—	—	3
	2	2	—	—	—	—	—	5
	—	2	1	—	—	—	—	8
	3	—	—	2	—	—	—	6
								2096

jen v počtu několika kusů, a to v červenci. Zřejmě šlo o jedince, kteří zalétli na pastviny z blízkého kravína.

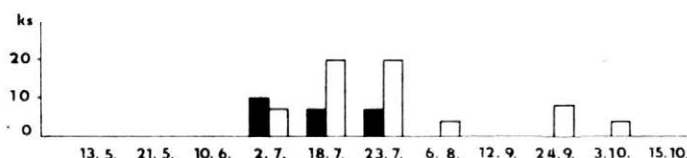
6. *Morellia hortorum*. Výskyt byl zaznamenán od května po konec července. Od tohoto období se již na pastvinách nevyskytoval. Ve sběrech byla mírná převaha samic.

DISKUSE A ZÁVĚR

Práce je zaměřena na průzkum synbovilních much a jejich sezónní dynamiku na pastvinách skotu. Obdobná problematika byla řešena v zá-



3. Sezónní dynamika druhu *Hydrotaea meteorica* (černě — samci, bíle — samice) — Seasonal dynamics of the species *Hydrotaea meteorica* (solid symbols — males, open symbols — females)



4. Sezónní dynamika druhu *Hydrotaea irritans* (černě — samci, bíle — samice) — Seasonal dynamics of the species *Hydrotaea irritans* (solid symbols — males, open symbols — females)



5. Sezónní dynamika druhu *Haematobosca stimulans* (černě — samci, bíle — samice) — Seasonal dynamics of the species *Haematobosca stimulans* (solid symbols — males, open symbols — females)

III. Přehled nejpočetnějších druhů, jejich procentuální zastoupení a poměr pohlaví — A survey of the most numerous species, their percent proportions and sex ratios

Druh	Celkem procent	Procento samic
<i>Musca autumnalis</i>	65,89	89,2
<i>Hydrotaea meteorica</i>	20,37	63,9
<i>Hydrotaea irritans</i>	4,15	75,9
<i>Haematobosca stimulans</i>	2,62	52,7
<i>Fannia armata</i>	1,10	—
<i>Morellia hortorum</i>	0,91	63,2

padních Čechách na Tachovsku (Gregor a Minář, 1980). Druhová skladba a dominance veterinárně důležitých sekretofágních a hemato-fágních druhů v této práci jsou do značné míry shodné s výsledky jejich studií. Výrazné odchylky byly zaznamenány pouze u druhů *Drymeia viciaria* (*Trichopticoidea decolor*) a *Hydrotaea floccosa* (*H. armipes*). Větší rozdíly zaznamenáme při srovnání s výsledky výzkumu synbovilních much v oblastech Novohradských hor (Staněk a Dočkal, 1975) a jižního Slovenska (Čepelák aj., 1962). Tyto rozdíly jsou zřejmě způsobeny odlišnou metodou odchyť, v případě jižního Slovenska jinými klimatickými podmínkami.

Z celkového počtu 23 druhů dvoukřídlých, patřících do čeledi *Muscidae*, jsou dva druhy hematofágní (*Haematobosca stimulas* 2,62 %; *Stomoxys calcitrans*). Zbytek tvoří sekretofágní druhy (*Musca autumnalis* 65,89 %; *Hydrotaea meteorica* 20,37 %; *Hydrotaea irritans* 4,15 %) a ojedinelé nálety druhů koprofágních z rodů *Phaonia*, *Neomyia*, *Polietes*.

1. Maximum výskytu hematofágních druhů bylo zaznamenáno na začátku a v závěru pastevního období. Tato skutečnost je způsobena tím, že druh *Haematobosca stimulas*, nejpočetněji zastoupený hematofágní druh, nepatří mezi teplomilné. Teplotní optimum tohoto druhu je 10 až 20 °C.

2. Maximum výskytu sekretofágních druhů bylo zaznamenáno v červnu. Druhé, méně výrazné maximum, bylo pozorováno na začátku května.

3. Ze sledovaných meteorologických údajů měly největší vliv na množství synbovilních much a jejich intenzitu napadání skotu na pastvě průměrná denní teplota vzduchu a relativní vlhkost vzduchu.

4. Synbovilní mouchy provázejí skot po celé pastevní období. Jejich negativní vliv na ekonomiku chovu skotu je jednoznačný, a proto je nutné věnovat této problematice zvýšenou pozornost.

Literatura

- ČEPELÁK, J. — ZAJONC, I. — KUCHARIK, F.: Príspevok k poznaniu sezónnej dynamiky much obťažujúcich hovädzí dobytok. In: Sbor. Vys. Šk. poľnohosp. v Nitre, 1962, s. 233-244.
- DUSBÁBEK, F. — SOUKUPOVÁ, A. — GREGOR, F. — KREJČÍ, J.: The role of *Hydrotaea armipes* Fall. (Diptera, Muscidae) in the transmission of infections bovine keratoconjunctivitis. Folia parasit. (Praha), 29, 1982, s. 79-83.
- GREGOR, F. — DUSBÁBEK, F.: Diurnal flying activity and nutrition ecology of *Hydrotaea armipes* (Diptera, Muscidae). Folia parasit. (Praha), 29, 1982, s. 69-78.
- GREGOR, F. — MINÁŘ, J.: Collecting of synbovine Diptera in Skufin and Manitoba traps. Acta Univ. Carol., Biol., 12 (1977), 1980, s. 287-295.
- HILLERTON, J. E. — BRAMLEY, A. J. — BROOM, D. M.: *Hydrotaea irritans* and summer mastitis in calves. Veter. Rec., 113, 1983, s. 88.
- MINÁŘ, J. — LAMATOVÁ, Z.: Use of repellents to prevent insects attacks on pastured cattle. Acta Univ. Carol., Biol., 12 (1977), 1980, s. 361-366.
- PONT, A. C.: Fanniidae, Muscidae. In: SOÓS, Á. — PAPP, L. (ed.): Catalogue of palaearctic Diptera, vol. 11, Scathophagidae — Hypodermatidae. Budapest, Akadémiai Kiadó 1986, s. 41-211.
- SCHWERDTFEGGER, F.: Ökologie der Tiere. Band III: Synökologie. Hamburg und Berlin, Paul Parey Verlag 1975, s. 119-122.
- SKUFIN, K. V.: Opyt primeneniya čeculoobraznoj ловушки для слепней. Zool. Ž., 30, 1951, s. 378-380.
- STANĚK, M. — DOČKAL, T.: Zastoupení synbovilních much (Diptera) v oblasti Novohradských hor. Sbor. Jihočes. Muz. Čes. Budějovice, Přír. Vědy, 15, 1975, č. 3, s. 195-209.

Došlo dne 25. 3. 1987

МУШКА, М. (Институт паразитологии ЧСАН, Ческие Будеевице): Сезонная динамика мух паразитирующих на крупном рогатом скоте (Diptera: Muscidae) во время периода пастбы в месте нахождения Яров. Veter. Med. (Praha), 32, 1987 (11): 681-688.

Исследование было направлено на мухи паразитирующие на крупном рогатом скоте и их сезонную динамику в течение всего периода пастбы в районе Страконице. Для ловли мы использовали Скуфинову ловушку. Во время серии отловов, проводящихся в двухнедельных и трехнедельных интервалах было получено 2096 двукрылых. Больше

всех в сборах было представителей семейства *Muscidae* с 23 видами (*Musca autumnalis* 65,9 ‰; *Hydrotaea meteorica* 20,04 ‰; *Hydrotaea irritans* 4,2 ‰; *Haematobosca stimulans* 2,6 ‰). Максимальное наличие гематофагных видов было отмечено в начале и в конце периода пастбы. Максимальное наличие секретофагных видов было отмечено в месяце июне.

двукрылые; гематофагные виды; Скуфинова ловушка

MUŠKA, M. (Institute of Parasitology, Czechoslovak Academy of Sciences, České Budějovice): *Seasonal Dynamics of Synovine Flies at the Jarov Locality during the Pasture Season*. Veter. Med. (Praha), 32, 1987 (11) : 681-688.

Synovine flies and the seasonal pattern of their occurrence were studied throughout the grazing period in the cattle pastures of the Strakonice district. Skufin's traps were used for catching the flies. The total number of dipterous insects caught during the series of trappings in two- to three-week intervals was 2096. The family *Muscidae* (23 species) was represented most amply in the sample catches (*Musca autumnalis* 65.9 ‰, *Hydrotaea meteorica* 20.4 ‰, *Hydrotaea irritans* 4.2 ‰, *Haematobosca stimulans* 2.6 ‰). The maximum occurrence of haematophagous species was recorded at the beginning and at the end of the grazing season. The maximum occurrence of secretophagous species was recorded in June.

dipterous insects; haematophagous species; Skufin's trap

MUŠKA, M. (Parasitologisches Institut der Tschechoslowakischen Akademie der Wissenschaften, České Budějovice): *Saisonbedingte Dynamik synboviler Fliegen (Diptera: Muscidae) während der Weideperiode auf der Lokalität Jarov*. Veter. Med. (Praha), 32, 1987 (11) : 681-688.

Unser Interesse war auf die Untersuchung synboviler Fliegen und deren Saison-dynamik im Verlauf der gesamten Weideperiode auf Rinderweiden des Kreises Strakonice orientiert. Zum Abfangen der Fliegen wurde die Skufin-Insektenfalle eingesetzt. Während der in zwei- bis dreiwöchigen Intervallen vorgenommenen Abfangserien wurden 2096 Zweiflügler gewonnen. Am häufigsten war in unserem Material die Familie *Muscidae* mit 23 Arten vertreten (*Musca autumnalis* 65,9 ‰, *Hydrotaea meteorica* 20,4 ‰, *Hydrotaea irritans* 4,2 ‰, *Haematobosca stimulans* 2,6 ‰). Maxima des Vorkommens hämatophager Arten wurden am Beginn und am Ende der Weideperiode verzeichnet. Das Maximum des Vorkommens sekretophager Arten wurde im Monat Juni verzeichnet.

Zweiflügler; hämatophage Arten; Skufin-Insektenfalle

Adresa autora:

MVDr. Miroslav Muška, Parazitologický ústav ČSAV, Branišovská 31, 370 05 České Budějovice

DÔKAZ PROTILÁTKOV PROTI VÍRUSOM INFEKČNEJ LARYNGOTRACHEITÍDY A PARAINFLUENZY 2 U PSOV V CHOVOV NA ÚZEMÍ ČSSR

T. Žuffa, P. Krobot

ŽUFFA, T. — KROBOT, P. (Výskumné a vývojové pracovisko Bioveta, n. p., Nitra; Štátny veterinárny ústav, Liberec): *Dôkaz protilátok proti vírusom infekčnej laryngotracheitídy a parainfluenzy 2 u psov v chovoch na území ČSSR*. Veter. Med. (Praha), 32, 1987 (11) : 689-694.

Vyšetrili sme 398 krvných sér odobratých od psov rôznych plemien a vekových kategórií pochádzajúcich zo 72 chovov v Čechách a na Slovensku na obsah hemaglutinačne-inhibičných (HI) protilátok proti vírusom infekčnej laryngotracheitídy (CADV-2) a parainfluenzy 2 (CPIV-2). Z tohoto súboru reagovalo 203 sér, t. j. 51,1 % proti vírusu CADV-2 v titroch 1 : 16 až 1 : 2048 a 115 sér (28,9 %) proti vírusu CPIV-2 v titroch 1 : 2 až 1 : 256. Dosiahnuté výsledky svedčia o značnom premorení populácie psov vírusmi postihujúcimi respiračný aparát.

krvné sérum; premorenie populácie psov; respiračný aparát

Infekčná tracheobronchitída psov, „kennel cough syndrome“, je vysoko kontagiózne, polyfaktoriálne ochorenie respiračného aparátu (Moloney a i., 1985). Popri víruse psinky, ktorý je často nesprávne považovaný za hlavného pôvodcu kontagiózneho kašľa (Kontor a i., 1981), sa na ochorení podieľajú *Bordetella bronchiseptica* (Wright, 1973), vírus infekčnej laryngotracheitídy (Ditchfield a i., 1962), vírus parainfluenzy 2 (Binn a i., 1968) a niektoré druhy mykoplazmat (Kontor a i., 1981).

Izolovaním uvedených vírusov a identifikáciou ich antigénnej skladby sa otvorila cesta pre štúdium epizootológie, patogenézy a imunogenézy jednotlivých vírusových infekcií a pre možnosti profylaxie respiračného komplexu, na ktorého etiológii sa tieto infekcie podieľajú. Opakované izolácie vírusu infekčnej laryngotracheitídy (Ditchfield a i., 1962; Danskin, 1973) a parainfluenzy 2 (Crandell a i., 1968; Appel a Percy, 1970; Cornwell a i., 1976; Moloney a i., 1985) a častý výskyt protilátok u neočkovaných zvierat (Appel a Percy, 1970) svedčia o ich panzootickom rozšírení.

Izolovanie vírusu parainfluenzy 2, kmeňa CPIV-2 BN 4/85, u nás (Žuffa a Mucha, 1986) je dôkazom jeho prítomnosti v našich chovoch, neposkytuje však údaje o premorenosti populácie psov touto vírusovou infekciou.

Cieľom našej práce bolo zistiť hodnoverné údaje o premorenosti a rozšírení vírusov infekčnej laryngotracheitídy a parainfluenzy v po-

pulácii psov u nás, a to vyšetrovaním sér získaných z čítných chovov socialistického aj súkromného sektoru, situovaných v rozdielnych oblastiach nášho štátu.

MATERIÁL A METÓDY

VÍRUSY

Kmeň vírusu infekčnej laryngotracheitídy H 5/85 nám vo forme lyofilizátu infekčných tkanivových tekutín v piatej pasáži láskavo poskytol dr. Bartha z Výskumného veterinárskeho ústavu v Budapešti.

Kmeň vírusu parainfluenzy 2 BN 4/85 predstavuje vlastný izolát získaný z eluátov nazofaryngeálnej sliznice psov s miernymi príznakmi respiračného ochorenia. Vírus pomnožený na desaťdňových kuracích zárodkoch SPF bol adaptovaný na kultúry kuracích embryonálnych buniek (KEB-SPF) a na stabilné bunkové línie FE a MDCK.

Obidva vírusové kmene sme pomnožili na stabilnej línii MDCK, infekčné tkanivové tekutiny sme lyofilizovali a skladované pri chladničковой teplote použili ako východiskový materiál pri príprave hemaglutinačných antigénov.

VYŠETROVANÉ SÉRA

Do vyšetrovania sme zaradili 398 sér psov rôznych plemien a vekových kategórií, pochádzajúcich zo 72 chovov lokalizovaných v Čechách a na Slovensku. Najväčšiu časť sér (123) sme získali z veľkochovu zo Stredočeského kraja. Vyšetrované séra neboli roztriedené podľa vekového zastúpenia darcov, ale všetky pochádzali od zvierat starších ako osem týždňov.

Séra vyčistené odstredovaním a inaktivované pri teplote 56 °C počas 30 minút sme až do vyšetrenia skladovali pri teplote -20 °C.

PRÍPRAVA ANTISÉR

Monošpecifické antiséra sme pripravili na králikoch podaním dvoch dávok vírusu CADV-2 s obsahom $10^{5.5}$ TKID₅₀/ml, resp. CPIV-2 s obsahom $10^{7.0}$ TKID₅₀/ml v množstve po 2 ml v intervale dvoch týždňov. Králiky sme vykrvovali za desať dní po druhej inokulácii. Titer protilátok v antisérach sme stanovili hemaglutinačne-inhibičným testom (HI) pomocou ľudských, resp. kohútích erytrocytov.

Negatívne králičie séra sme získali vykrvením neočkovaných králikov s titrami HI-protilátok $\geq 1:2$.

DŮKAZ PROTILÁTK

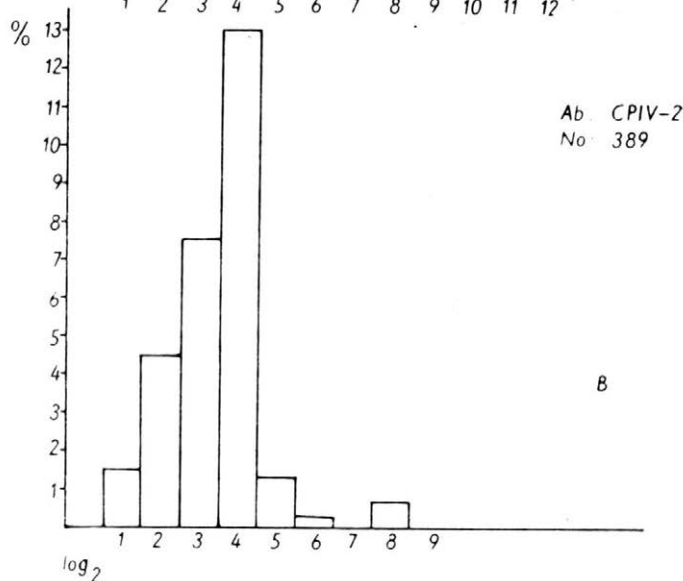
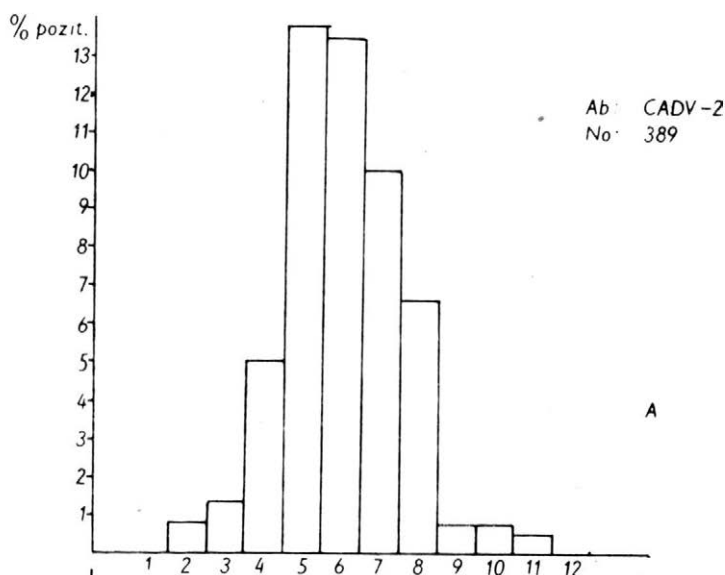
Protilátky vo vyšetrovaných sérach sme zisťovali kvantitatívne pomocou HI-testu podľa metódy, ktorú popísali Ditchfield a i. (1962) a Crandell a i. (1968) v mikroprevedení na platničkách z polystyrénu. Ako hemaglutinačné antigény sme použili infekčné tkanivové tekutiny vírusov CADV-2, resp. CPIV-2, získané po trojdňovej, resp. päťdňovej inkubácii kultúr bunkovej línie MDCK infikovaných odpovedajúcimi vírusmi. Pri dôkaze protilátok proti paramyxovírusu 2 boli použité kohútie erytrocyty. Súčasne s titráciou sér sa robila kontrola sedimentácie krviniek a kontrola hemaglutinačnej aktivity vírusu. Výsledok testu sa odčítal po ukončení sedimentácie krviniek v kontrolných jamkách, t. j. za 60 až 120 minút.

VÝSLEDKY

Imunizácia králikov kmeňom CADV-2 H 5/85 vírusu infekčnej laryngotracheitídy a kmeňom CPIV-2 BN 4/85 vírusu parainfluenzy 2 psov navodila tvorbu protilátok v titroch 1:128 až 1:1024 s priemernými titrami skupiny 1:512 HI jednotiek.

I. Výsledky vyšetrení 398 krvných sér psov na prítomnosť hemaglutinačne-inhibičných protilátok proti vírusu infekčnej laryngotracheitídy (CADV-2) a parainfluenzy 2 (CPIV-2) psov — The results of the examination of 398 blood serum samples of dogs for the presence of haemagglutination-inhibiting antibodies to the infectious laryngotracheitis virus (CADV-2) and parainfluenza virus 2 (CPIV-2)

Vírus	Počet vyšetrených sér	Pozitívne		Negatívne	
		počet	%	počet	%
CADV-2	398	203	51	195	49
CPIV-2	398	115	29	283	71



1. Grafické znázornenie tab. II; pozitivita pri jednotlivých riedeniach je vyjadrená v percentách — Graphical representation of the data in Tab. II; positivity at all dilution ratios is expressed in percent

II. Počty sér reagujúcich pozitívne proti vírusom CADV-2 a CPIV-2 pri jednotlivých riedeniach — The numbers of serums positively reacting to CADV-2 and CPIV-2 viruses at different dilution ratios

Počet sér	Vírus	Séra reagujúce v titroch 1 – 11 log ₂										
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
839	CADV-2	0	3	5	20	55	54	40	26	3	3	2
	CPIV-2	6	18	30	52	5	1	0	3	0	0	0

Vyšetrenie sér získaných zo 72 chovov psov, situovaných na celom území ČSSR, na obsah HI-protilátok proti CADV-2 a CPIV-2 potvrdilo vysokú premorenosť populácie psov vírusom infekčnej laryngotracheitídy.

Z 398 vyšetrovaných sér pozitívne reagovalo (HI-titre 1 : 16 a viac) 204, čo predstavuje 51,1% séropozitívitu (tab. I), pričom 120 z celkového počtu pozitívnych sér reagovalo v titroch 1 : 64 až 1 : 256 (59,11 %) (tab. II, obr. 1A). Podľa štandardnej odchýlky pre percentuálne vyhodnotenie

$$Sp \% = \sqrt{\frac{P (100 - P)}{N}}$$

a faktora 1,96 pri 95% úrovni pravdepodobnosti treba u psov vo vyšetrovaných chovoch počítať s 44,1 až 57,9 % výskytom protilátok proti vírusu infekčnej laryngotracheitídy.

Z rovnakého počtu sér reagovalo v HI-teste proti vírusu CPIV-2 pozitívne HI-titre 1 : 2 a viac 115, t. j. 28,89 percent (tab. I), pričom 82 z celkového počtu pozitívnych sér reagovalo v titroch 1 : 8 až 1 : 16 (71,3 %) (tab. II, obr. 1B). Zaznamenaná 28,9% séropozitivita proti vírusu parainfluenzy 2 u vyšetrovaných psov svedčí pri 95% úrovni pravdepodobnosti pre to, že 20,6 až 37,2 % populácie psov v ČSSR obsahuje protilátky paramyxovírusu 2.

Porovnaním výsledkov vyšetrení sér získaných z chovov socialistického sektoru s väčšími počtami zvierat súkromného sektoru sa v séropozitivite preukazné rozdiely nezaznamenali.

DISKUSIA

Vychádzajúc z predchádzajúcich zistení, že ošetrovanie sér pomocou kaolínu za účelom odstránenia nešpecifických inhibítorov znižuje titre špecifických protilátok, pričom však výskyt nešpecifických reakcií je minimálny (Žuffa a Černek, 1985), použili sme do HI testu inaktivované séra bez ďalšieho ošetrovania.

Z celkového počtu 211 pozitívnych psích sér reagovalo proti vírusu infekčnej laryngotracheitídy 0,75 % v titry 1 : 4 a 1,25 % sér v titry 1 : 8. V súlade so stanoviskom autorov Fairchild a i. (1969) považujeme tieto séra za negatívne. Pri stanovení titru pozitivity 1 : 16 a viac sme vychádzali zo zistení autorov Ditchfield a i. (1962), Fairchild a i. (1969) a S w a n g o a i. (1969), ktorí zaznamenali krížové reakcie medzi HI-protilátkami s antigénom adenovírusu 1 (ICH) a adenovírusu 2

[ICL] v riedeniach 1:4 až 1:10. Vyšetrením početnej skupiny šteniat starších ako osem týždňov, u ktorých poklesli až vymizli materinské protilátky (Appel a i., 1957), a dospelých psov poskytuje skutočný obraz o premorenosti populácie vírusom CADV-2.

Protilátky proti vírusu parainfluenzy 2 sme považovali za špecifické počnúc titrom 1:2. Vychádzali sme pritom z nášho zistenia, že u negatívnych zvierat neinhoboali séra vírusovú hemaglutináciu ani v tomto riedení, ako aj z údajov Binna (1970), ktorý už pri titroch HI protilátok 1:8 zaznamenal chránenosť proti infekcii u 50 % psov. Nižšiu citlivosť HI-testu zaznamenali Moloney a i. (1985), ktorí pri vyšetrení 627 sér zistili iba 1% pozitivitu. Nami zistená séropozitivita je podstatne vyššia a dosahuje hodnoty 28,9 % z celkového súboru vyšetovaných zvierat. Ani tieto výsledky však nemusia vyjadrovať skutočnú premorenosť populácie psov vírusom CPIV-2, nakoľko môžu byť — v súlade s údajmi, ktoré uviedli Rosenberg a i. (1971) — prejavom slabej imunitnej odpovede a krátkodobého pretrvávania sérových protilátok detekovateľných HI testom po i. nas. infekcii týmto vírusom. Nízka úroveň a rýchle vylúčenie humorálnych protilátok môže vytvárať vhodné podmienky pre opakované reinfekcie psov v krátkych časových intervaloch.

Literatúra

- APPEL, M. J. G. — PERCY, D. H.: SV-5-like parainfluenza virus in dogs. J. Amer. veter. med. Assoc., 12, 1970, s. 1778-1781.
- APPEL, M. J. G. — CARMICHAEL, L. E. — ROBSON, D. S.: Canine adenovirus type 2-induced immunity to two canine adenoviruses in pups with maternal antibody. Amer. J. veter. Res., 36, 1975, s. 1975-1202.
- BINN, L. N. — LAZAR, E. C. — ROGUL, M. — SHELPER, V. M.: Upper respiratory disease in military dogs: bacterial, mycoplasma, and viral studies. Amer. J. veter. Res., 9, 1968, s. 1809-1815.
- BINN, L. N.: A review of viruses recovered from dogs. J. Amer. veter. med. Assoc., 12, 1970, s. 1672-1677.
- CORNWELL, H. J. C. — McCANDLISH, J. A. P. — THOMPSON, H. — LAIRD, H. M. — WIRGHT, N. G.: Isolation of parainfluenza virus SV5 from dogs with respiratory disease. Veter. Rec., 10, 1976, s. 301-302.
- CRANDELL, R. A. — BRUMLOV, W. B. — DAVISON, V. E.: Isolation of parainfluenza virus from sentry dogs with upper respiratory disease. Amer. J. veter. Res., 11, 1968, s. 2141-2147.
- DANSKIN, D.: Isolation of canine adenovirus A26/61 (Toronto) using canine kidney (M. D. C. K.) cell line. Veter. Rec., 93, 1973, s. 126-127.
- DITCHFIELD, J. — MACPHERSON, L. W. — ZBITNEW, A.: Association of a canine adenovirus (Toronto) A26/61 with an outbreak of laryngotracheitis (kennel cough). Can. veter. J., 8, 1962, s. 238-247.
- FAIRCHILD, G. A. — MEDWAY, W. — COHEN, D.: A study of the pathogenicity of a canine adenovirus (Toronto A26/61) for dogs. Amer. J. veter. Res., 30, 1969, s. 1187-1193.
- KONTOR, E. J. — WEGRZYN, R. J. — GOODNOW, R. A.: Canine infectious tracheobronchitis: Effects of an intranasal live canine parainfluenza — *Bordetella bronchiseptica* vaccine on viral shedding and clinical tracheobronchitis (kennel cough). Amer. J. veter. Res., 42, 1981, č. 10, s. 1694-1698.
- MOLONEY, M. B. — PYE, D. — SMITH, H. V. — SCOTT, P. C.: Isolation of parainfluenza virus from dogs. Aust. veter. J., 62, 1985, č. 8, s. 285-286.
- ROSENBERG, F. J. — LIEF, F. S. — TODD, J. D. — REIF, J. S.: Studies of canine respiratory viruses. I. Experimental infection of dogs with an SV5-like canine parainfluenza agent. Amer. J. Epidemiol., 94, 1971, č. 2, s. 147-165.
- SWANGO, L. J. — EDDY, G. A. — BINN, L. N.: Serologic comparison of infectious canine hepatitis and Toronto A26/61 canine adenoviruses. Amer. J. veter. Res., 30, 1969, s. 1381-1387.

WRIGHT, N. G.: Canine adenovirus: its role in renal and ocular disease: a review. J. small. Anim. Pract., 17, 1976, s. 25-33.

ZUFFA, T. — ČERNEK, J.: Důkaz protilátok proti vírusu chrípky koní subtypu A equi 1 a equi 2 vo viacerých chovoch na území ČSSR. Imunoprofylaxia, 1985, č. 1, s. 20-29.

ZUFFA, T. — MUCHA, V.: Izolovanie a charakterizovanie vírusov parainfluenzy 2 (CPIV-2) a infekčnej laryngotracheitidy (CADV-2) psov. Imunoprofylaxia, 1986, v tlači.

Došlo dňa 8. 10. 1986

ЖУФФА, Т. — КРОБОТ, П. (Научно-исследовательский и опытный рабочий пункт Биовета, нац. предпр. Нитра; Государственный ветеринарный институт, Либерец): **Доказательство антител против вирусам инфекционного ларинготрахеита и парагриппа 2 у собак в разведениях на территории ЧССР.** Veter. Med. (Praha), 32, 1987 (11): 689-694.

Было исследовано 398 сывороток крови, отобранных от собак разной породы и разных возрастных групп, происходящих из 72 разведений в Чехах и в Словакии для определения содержания гемагглютинационно-ингибирующих (HI) антител против вирусам инфекционного ларинготрахеита (CADV-2) и парагриппа 2 (CPIV-2). Из этой совокупности реагировало 203 сыворотки, т.е. 51,1% против вирусам CADV-2 в титрах 1:16 аж 1:2048 и 115 сывороток (28,9%) против вирусам CPIV-2 в титрах 1:2 аж 1:256. Достигнутые результаты свидетельствуют о значительной зараженности популяции собак вирусами поражающими респираторный аппарат.

сыворотка крови; заражение популяции собак; респираторный аппарат

ZUFFA, T. — KROBOT, P. (Research and Development Station, Bioveta National Corporation Nitra; State Veterinary Institute, Liberec): *Demonstration of Antibodies to the Infectious Laryngotracheitis Virus and Parainfluenza 2 Virus in Dogs Kept in Czechoslovakia.* Veter. Med. (Praha), 32, 1987 (11): 689-694.

A total of 398 blood serums of dogs of various breeds and age categories, coming from 72 places in Bohemia and Slovakia, were examined for the content of haemagglutination-inhibiting (HI) antibodies to the infectious laryngotracheitis virus (CADV-2) and parainfluenza 2 virus (CPIV-2). Out of this total number, 203 serums (51.1%) reacted against CADV-2 in titres from 1:16 to 1:2048 and 115 serums (28.9%) against CPIV-2 in titres from 1:2 to 1:256. The results indicate that the dog population is considerably infected with viruses affecting the respiratory organs.

blood serum; infestation of dog population; respiratory organs

ZUFFA, T. — KROBOT, P. (Forschungs- und Entwicklungsarbeitsstätte des Volk-eigenen Betriebs Bioveta, Nitra; Staatliches Veterinärinstitut, Liberec): *Nachweis von Antikörpern gegen Viren der infektiösen Laryngotracheitis und Parainfluenza-2 bei Hunden in Zuchten auf dem Gebiet der ČSSR.* Veter. Med. (Praha), 32, 1987 (11): 689-694.

Wir untersuchten 398 Blutseren, die von aus 72 Zuchten in Böhmen und der Slo-wakei stammenden Hunden verschiedener Rassen und Alterskategorien entnommen wurden, auf den Gehalt an Hämagglutinations-Inhibitions-Antikörpern (HI) gegen das Virus der infektiösen Laryngotracheitis (CADV-2) und das Parainfluenza-2-Virus (CPIV-2). Aus dieser Kollektion reagierten 203 Seren, d. h. 51,1% gegen das Virus CADV-2 in Titern von 1:16 bis 1:2048 und 115 Seren (28,9%) gegen das Virus CPIV-2 in Titern von 1:2 bis 1:256. Diese Ergebnisse weisen auf einen hohen Verseuchungsgrad der Hundepopulation mit den Respirationsapparat befallenden Viren hin.

Blutserum; Verseuchung der Hundepopulation; Respirationsapparat

Adresy autorov:

MVDr. Tomáš Zuffa, Bioveta, n. p., Nitra, pošt. schr. 29/c, 949 91 Nitra

MVDr. Petr Krobot, Státní veterinární ústav, Vratislavice nad Nisou, 463 11 Liberec

TLUMENÍ FASCIOLÓZY U SKOTU V ČSR V LETECH 1970 AŽ 1985

D. Zajiček

ZAJÍČEK, D. (Ústřední státní veterinární ústav, Praha): *Tlumení fasciolózy u skotu v ČSR v letech 1970 až 1985*. Veter. Med. (Praha), 32, 1987 (11) : 695-704.

V letech 1970 až 1985 se uskutečnil program tlumení fasciolózy (*F. hepatica*) u skotu prostřednictvím záměrné dehelmintizace a preventivních opatření v chovech. Antifasciolika Bilevon M a v menší míře Bromsalan pulv. byla aplikována v letech 1973 až 1979 veterinární službou ze státních dotací. Od roku 1980 se používá preparát Helmisan (Spofa), dotovaný z prostředků zemědělských závodů. V letech 1972 až 1979 se u chovaného skotu provedlo ročně až 213 tisíc léčebných a preventivních dehelmintizací. Všechny zásahy se projeví poklesem výskytu *Fasciola hepatica* i patologických změn v játrech odporaženého skotu z 5,8 % (1971) na 0,9 % (1980) v celostátním měřítku. Na základě tohoto programu tlumení se fasciolóza skotu nevyskytuje ve 29 okresech, i když byla původně rozšířena ve všech okresech ČSR. Po deseti letech záměrného používání antifasciolik nebyly v nálezech zjišťovány živé motolice a u skotu se prokazovaly pouze patologické změny po působení *F. hepatica*. Od roku 1980 se extenzita nálezů *F. hepatica* pohybovala u odporaženého skotu v rozmezí jednoho procenta, ale v posledních letech se opět zjišťovaly živé motolice v játrech. V enzooticky postižených krajích a okresech ČSR se podařilo tímto programem tlumení snížit počet postižených chovů skotu.

Fasciola hepatica; dehelmintizace; program tlumení

Studium epizootologie a tlumení fasciolózy skotu vychází z analýz nálezů motolic nebo jimi vyvolaných změn na játrech zjištěných po porážce zvířat a je podkladem pro záměrné využití léčby a preventivních opatření. Při posuzování závažnosti invazí *Fasciola hepatica* vycházeli z této skutečnosti v ČSSR Hovorka (1963) a Koudela a Robeš (1967), ve Švýcarsku Boray (1971), Fuhrmann (1961), ve Velké Británii Froyd (1975), Whitehead (1976), Ross (1977), ve Francii Euzéby (1971), Leimbacher (1978), Marchand (1984), v Dánsku Henriksen a Pilegaard-Andersen (1979), v Bulharsku Popov (1971), v Rumunsku Fromunda a Sirbu (1971), v NSR Boch aj. (1970), v NDR Hiepe a Grünwoldt (1965), v Itálii Leinati (1962), v Austrálii Morris a Meek (1980), Baldock a Arthur (1985) a na Novém Zélandě Harris a Charleston (1980).

Patologické změny vyvolané působením motolic v játrech skotu představují ekonomické ztráty, které se odhadují v NSR na 250 miliónů DM, v Nizozemí na 200 mil. zlatých, v Irsku na 10 mil. liber, v MLR na 400 mil. forintů a v USA na 4 mil. dolarů (Euzéby, 1971). Ztráty konfiskací jater u odporaženého skotu vyhodnotili Peters a Clapham (1942)

na 200 tisíc liber ve Velké Británii, F u h r i m a n n (1961) na 5 miliónů švýcarských franků ve Švýcarsku, V i n c k (1961) na 3,5 miliónů zlatých v Nizozemí. V ČSR odhadl ztráty způsobené fasciolózou u skotu R o b e š (1977) na 110,4 miliónu Kčs, tj. 0,86 % z hrubé zemědělské produkce skotu.

Tlumení fasciolózy skotu, založeného na využití záměrné dehelmintizace a všech komplexních opatření uskutečnitelných v chovech, se zúčastnily všechny složky veterinární služby ČSR od roku 1970. V předloženém příspěvku jsou zhodnoceny výsledky dosažené při tlumení fasciolózy skotu za období let 1970 až 1985.

MATERIÁL A METODA

Při hodnocení celkové situace ve fasciolóze skotu v ČSR v letech 1970 až 1985 se vycházelo z analýzy výkazů o veterinární činnosti (Zem. MZVŽ ČSR 2-12), z výkazů o veterinárně hygienické činnosti (Zem. MZVŽ ČSR 4-04) a z Komplexních technicko-ekonomických rozborů ÚSVÚ a jím řízených organizací Praha. Na základě zpětných hlášení veterinárních hygienických středisek o nálezech *F. hepatica* a o fasciolózních změnách na játrech bylo upřesněno plošné rozšíření fasciolózy skotu podle evidence okresních a krajských veterinárních zařízení v chovech skotu zemědělských závodů.

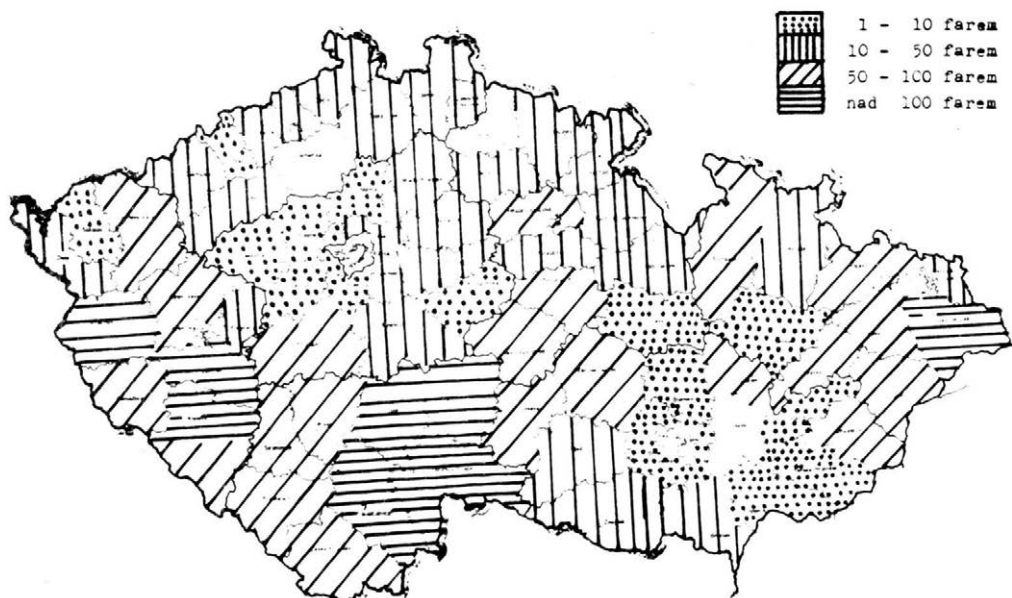
V období let 1970 až 1979 použila veterinární služba ČSR k dehelmintizaci skotu antifasciolika hexachlór, Hetol, Hetolin, Bilevon M, která byla finančně dotovaná ze státních prostředků. Od roku 1980 se používalo kombinované léčivo Helmisan (Levamisol + oxytetracyclin) s finančním zabezpečením zemědělskými závody.

Současně se věnovala pozornost zpřísněnému veterinárnímu dohledu při přesunech zvířat do pastevních oblastí z farem s enzootickým výskytem fasciolózy, preventivní diagnostice pomocí koprologických vyšetření 10 %, zástavu zvířat při pravidelné jarní a podzimní dehelmintizaci.

VÝSLEDKY

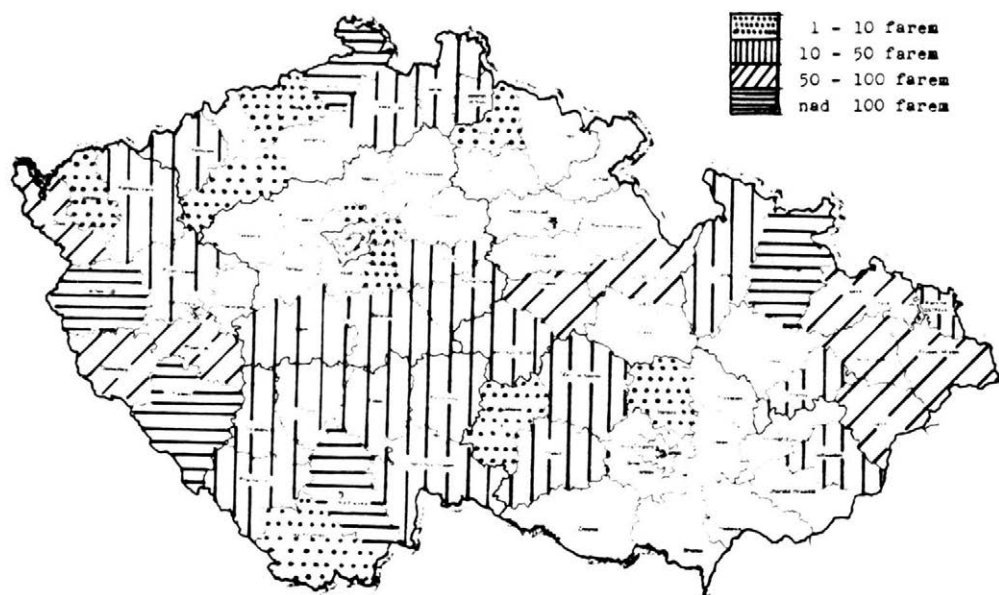
Epizootologický vývoj fasciolózy v letech záměrného tlumení (1970—1985) podle analýzy výsledků prohlídky odporaženého skotu v jednotlivých krajích ČSR byl spolehlivým měřítkem předpokládaných výsledků. Jak ukazuje tab. I, z původního výskytu fasciolózy u odporaženého skotu v ČSR se pozitivní nálezy snížily z 5,2 % v roce 1970 na 1,04 % v roce 1980 po ukončení dehelmintizace; na úrovni okolo 1 % se výskyt udržel po dalších pět let s poklesem v letech 1984 a 1985 na 0,9 a 0,7 %. Ve sledovaných letech počty celkem odporaženého skotu v ČSR kolísaly v rozmezí 80 až 100 tisíc kusů ročně. Klesající výskyt pozitivních nálezů byl patrný i v enzooticky postižených krajích Jihočeském, Západočeském, Severočeském a Severomoravském — s nepatrnými výkyvy v jednotlivých letech, které prokázaly výsledky systematického postupu tlumení. V pětiletém období 1976 až 1980 ve všech krajích poklesl při veterinárně hygienické prohlídce odporaženého skotu nález živých motolic *Fasciola hepatica* i postfasciolózních změn na játrech v souvislosti s celkovým zastoupením ohnisek na postižených farmách skotu.

Evidence ohnisek fasciolózy skotu byla upřesněna okresními veterinárními zařízeními na základě jmenovitého hlášení farem zemědělských závodů, odkud pocházel odporažený skot podle zpětných hlášení



1. Rozšíření motoličnatosti skotu v ČSR v roce 1970 — The distribution of fascioliasis in cattle in the Czech Socialist Republic in 1970

veterinárně hygienické služby jatek. V tab. II jsou uvedeny údaje sumarizovaných hlášení v letech 1970, 1975, 1980 a 1985. Trvale sestupná tendence ve výskytu fasciolózy u skotu v průběhu 15 let se projevila v počtech postižených farem (ze 38,2 % v roce 1970 na 12,1 % v roce



2. Rozšíření motoličnatosti skotu v ČSR v roce 1975 — The distribution of fascioliasis in cattle in the Czech Socialist Republic in 1975

I. Procentuální výskyt fasciolózy u odporaženého skotu v ČSR v letech 1970 až 1985
 Republic in 1970 to 1985

Kraj	1970	1971	1972	1973	1974	1975
Hl. m. Praha	1,60	8,70	1,80	1,70	6,50	6,04
Středočeský	2,20	1,80	1,30	1,30	0,60	0,40
Jihočeský	13,10	8,70	6,60	5,80	5,40	4,50
Západočeský	8,40	7,90	6,08	5,50	5,50	4,60
Severočeský	3,70	3,40	3,70	2,40	1,90	1,70
Východočeský	2,10	3,20	1,80	1,30	1,10	0,60
Jihomoravský	2,60	2,60	1,90	1,30	1,20	0,90
Severomoravský	7,90	8,10	5,30	7,70	7,20	5,20
ČSR	5,20	5,30	3,50	3,30	3,50	2,80

II. Výskyt fasciolózy na farmách skotu v letech 1970 až 1985 — The occurrence of bovine fascioliasis on cattle farms in 1970 to 1985

Kraj	1970		1975		1980		1985	
	počet pozitivních farem	‰	počet pozitivních farem	‰	počet pozitivních farem	‰	počet pozitivních farem	‰
Středočeský	228	17,40	145	11,05	31	2,40	15	1,10
Jihočeský	724	90,20	378	47,10	201	25,03	165	11,70
Západočeský	639	80,80	539	68,10	228	28,80	170	13,80
Severočeský	159	22,90	182	26,30	96	13,80	115	17,70
Východočeský	333	26,40	123	9,20	25	1,90	7	0,40
Jihomoravský	221	14,02	97	6,10	17	1,07	23	1,20
Severomoravský	485	55,40	439	50,20	290	33,10	269	30,10
ČSR — 1970—85	2789	38,20	1903	26,04	888	12,10	764	8,50

III. Přehled počtu léčebných a preventivních dehelmintizací při tlumení fasciolózy
 of therapeutic and preventive helminth-control treatments in the 1970—1985

Kraj	1970	1971	1972	1973	1974	1975
Středočeský	15,0	18,4	7,4	12,9	12,8	6,6
Jihočeský	48,7	48,4	56,5	69,2	67,5	73,1
Západočeský	33,0	46,2	54,8	48,6	56,8	61,4
Severočeský	10,8	6,8	23,9	22,8	22,4	23,1
Východočeský	17,7	16,0	34,8	36,3	39,3	44,8
Jihomoravský	12,3	3,9	5,4	5,5	5,0	5,4
Severomoravský	20,3	23,2	26,4	33,4	32,6	39,3
ČSR	158,2	163,3	209,4	228,9	236,5	254,0

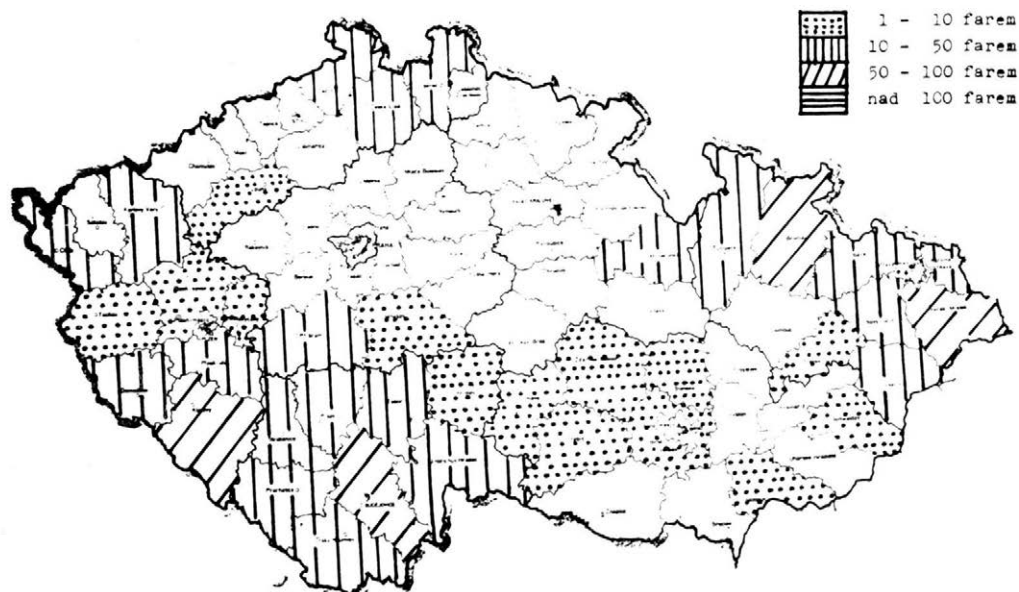
	1976	1977	1978	1979	1980	1981	1982	1983	1984	1985
	3,90	2,60	1,02	0,30	0,30	0,90	0,20	0,20	0,20	0,10
	0,40	0,10	0,20	0,10	0,80	0,10	0,05	0,10	0,06	0,04
	4,30	3,30	2,40	1,80	1,50	1,50	1,10	1,30	1,01	0,90
	3,60	2,30	2,07	1,40	1,70	1,30	1,60	1,30	0,90	1,07
	1,20	0,90	1,10	1,30	1,80	1,90	2,20	2,80	2,40	2,20
	0,60	0,40	0,30	0,30	0,20	0,20	0,10	0,10	0,10	0,03
	0,60	0,30	0,30	0,20	0,10	0,10	0,10	0,20	0,10	0,10
	5,80	4,30	2,90	2,30	3,10	2,90	3,80	3,60	2,70	2,00
	2,40	1,70	1,20	0,90	1,04	1,00	1,10	1,10	0,90	0,70

1980 a dále na 8,5 % v roce 1985) a omezila ji na enzootické oblasti jednotlivých krajů i celé ČSR. Ve výchozím roce programu tlumení fasciolózy (1970) se fasciolóza skotu vyskytovala až na ojedinělé výjimky ve všech okresech ČSR v různé prevalenci, ale již v roce 1980, po období intenzivní dehelmintizace a striktně dodržovaných veterinárních opatření při přesunech skotu, se omezila ve Středočeském kraji na dva okresy, ve Východočeském kraji na jeden okres a v Jihomoravském kraji na sedm okresů. V dalších pěti letech do roku 1985 došlo ve většině okresů postižených enzootickou fasciolózou k poklesu prevalence nebo k dalšímu úplnému utlumení, ale objevily se fasciolózou nově postižené okresy, i když s minimálním počtem farem. Plošné rozšíření fasciolózy skotu v období let 1970 až 1985 je znázorněno na obr. 1—4.

Program tlumení fasciolózy skotu se soustředil především na léčebnou a preventivní dehelmintizaci v jarním a podzimním období. Přehled počtu léčebných a preventivních dehelmintizací při tlumení fasciolózy skotu v ČSR za období let 1970 až 1985 je uveden v tab. III. Od roku 1972 dotovala Státní veterinární služba použitá antifasciolika a počty

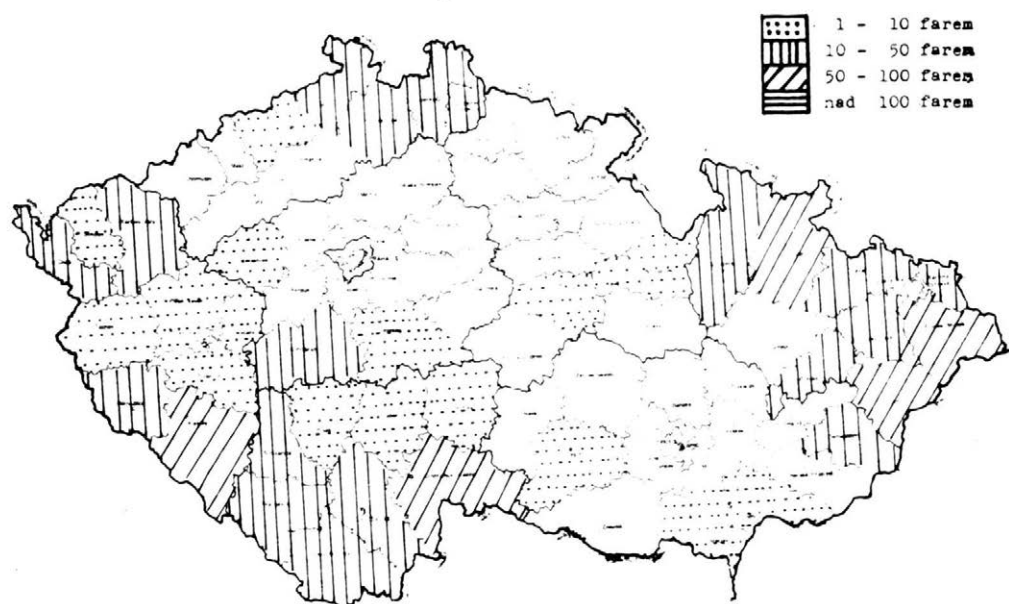
skotu v ČSR za období let 1970 až 1985 (v tisících) — A survey of the number campaign of bovine fascioliasis control in the Czech Socialist Republic (in thousands)

	1976	1977	1978	1979	1980	1981	1982	1983	1984	1985
	10,7	1,8	0,4	0,8	0,6	—	—	0,1	0,8	2,5
	78,6	78,9	67,7	25,4	24,1	13,1	8,1	3,5	13,7	7,9
	55,6	61,6	65,1	48,2	46,2	5,8	1,4	1,7	3,5	2,7
	27,8	25,9	21,7	13,3	12,1	6,5	8,1	3,9	30,9	24,0
	38,4	35,1	32,4	30,4	28,7	0,9	2,5	1,1	0,9	—
	1,2	1,2	2,7	2,0	1,8	0,6	1,6	1,8	1,7	4,4
	40,8	41,3	54,2	19,7	17,6	16,9	19,9	12,3	29,9	14,0
	253,4	246,1	244,6	139,1	131,1	44,04	42,03	24,6	81,5	55,7

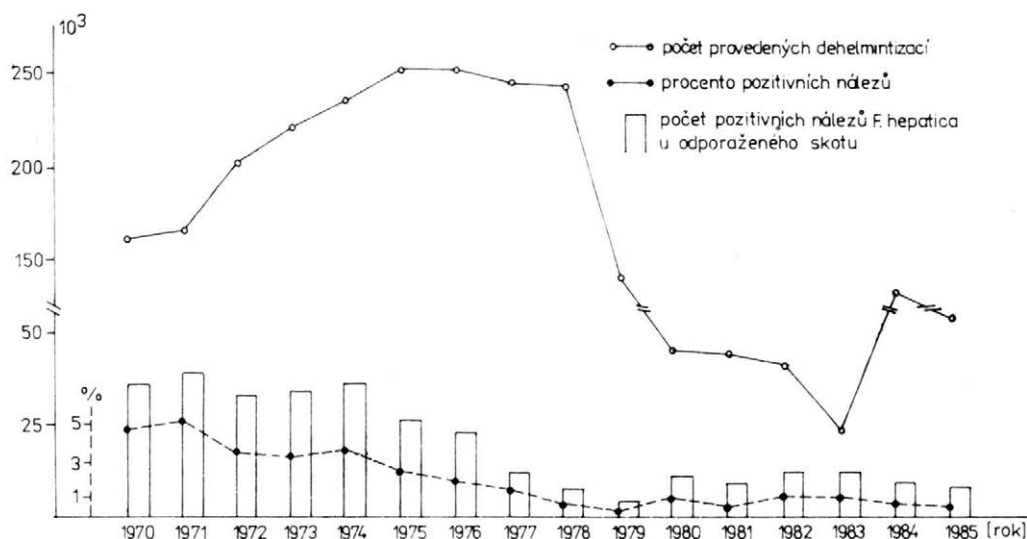


3. Rozšíření motoličnatosti skotu v ČSR v roce 1980 — The distribution of fascioliasis in cattle in the Czech Socialist Republic in 1980

ročně uskutečněných odčervení narůstaly ze 209 tisíc (1972), vrcholily v letech 1975 a 1976 — 254 a 253 tisíc. Souběžně s výsledky úspěšného tlumení podle nálezů při jateční prohlídce odporaženého skotu byla v roce 1979 dotace na antifasciolika snížena a přenesena na zemědělské závody.



4. Rozšíření motoličnatosti skotu v ČSR v roce 1985 — The distribution of fascioliasis in cattle in the Czech Socialist Republic in 1985



5. Vztah mezi dehelmintizací a výskytem fasciolózy u skotu v ČSR v letech 1970 až 1985 — The relationship between helminth control and the occurrence of fascioliasis in cattle in the Czech Socialist Republic in 1970 to 1985

Výsledky tlumení fasciolózy v ČSR dokládá obr. 5, v němž jsou zakresleny hodnoty počtů dehelmintizací, pozitivní nálezy fasciolózy u odporáženého skotu s procentuálním vyhodnocením.

Od roku 1971 do roku 1977 byl hlavním antifasciolikem používaným na celém území ČSR Bilevon M, který svým velmi dobrým účinkem i vhodnou aplikační formou přispěl k dosaženým výsledkům. Ostatní antifasciolika — Tetrafinol inj., Bromsolan tabl., Hetolin pulv. — byla podávána místně v omezené míře v prvních letech organizovaného tlumení fasciolózy. Od roku 1976 se používá kombinované anthelmintikum Helmisan suspenze (levamisol + oxytetracyklid) a Helmisan premix. Dosažený pokles fasciolózy se od roku 1981 stabilizoval aplikací těchto dvou preparátů, zejména v oblastech enzootického výskytu *Fasciola hepatica*.

DISKUSE

Otázky epizootologie, prevalence a s ní souvisejícího biologického cyklu motolic *Fasciola hepatica* byly řešeny odděleně a celý problém fasciolózy byl v mnoha zemích ponechán zainteresovaným pracovištím zabývajícím se často jen dílčími zájmy výzkumu. V tomto směru vznikly práce, které sice doporučují postup tlumení fasciolózy v celkovém pojetí (Führmann, 1961; Vinck, 1961; Euzéby, 1971; Fromunda a Sirbu, 1971; Popov, 1971; Ross, 1977; Henriksen a Pilegaard-Andersen, 1979; Harris a Charleston, 1980 a další) nebo v regionálním rozsahu (Boch aj., 1970), ale ze správního hlediska nemohly postihnout a hlavně dosáhnout výsledného cíle v celostátním rozsahu.

Základem postupu při tlumení fasciolózy byla zpětná hlášení pozitivních nálezů motolic a poinvazních změn u odporáženého skotu vete-

rinárně hygienickou službou na příslušné OVZ a výsledky diagnostických vyšetření státních veterinárních ústavů i okresních veterinárních laboratoří. Současně se vycházelo i ze zpracovaných analýz epizootologické situace v předchozích letech, které publikovali Hovorka (1963), Koudela a Robeš (1967) a další.

V zahraničí byly obdobně využity analyzující statistiky na různých administrativních úrovních, hodnotících často jen určité omezené období sledování (Froyd, 1975; Leimbacher, 1978; Henriksen a Pilegaard-Andersen, 1979). Tyto práce doporučují mimo zhodnocení dat a preventivních opatření i využití pravidelné dehelmintizace, která však ve většině případů závisela na rozhodnutí a ekonomických možnostech majitelů farem. Proto v zahraniční literatuře nenacházíme údaje o provedení záměrné plošné dehelmintizace. Hodnocení opakované a pravidelné dehelmintizace proti fasciolóze po určitou dobu v jednotlivých chovech publikovali např. Boray (1971), Whitehead (1976), Leimbacher (1978), Henriksen a Pilegaard-Andersen (1979), Marchand (1984) a Baldock a Arthur (1985) a pokázali na výhodnost použití tohoto způsobu tlumení fasciolózy.

Státní veterinární služba ČSR na základě komplexního tlumení fasciolózy v podmínkách ČSR (Willomitzer a Chroustová, 1973) využila možností dlouhodobé koordinované práce a přímých zásahů v socialistických velkochovech skotu k omezení této helmintózy, včetně všech dosažitelných prostředků k tomuto účelu. Dehelmintizace soustředěná do rukou veterinárních pracovníků byla jedním z nejúčinněji fungujících článků na podkladě evidence výskytu v obcích, okresech a krajích.

Současně se skotem byla ve stejném časovém období a s obdobnými výsledky tlumena fasciolóza u ovcí.

Literatura

- BALDOCK, F. C. — ARTHUR, R. J.: A survey of fascioliasis in beef cattle killed at abattoirs in southern Queensland. Aust. veter. J., 62, 1985, s. 324-326.
- BOCH, J. — HENNINGS, W. — AVERBECK, W. — VERSCHPOL, F. — HORCHNER, F.: Lutte contre la fasciolose bovine dans le district de Steinfurt Land Rhénane du Nord. Westphalie. Inform. Méd. vétér., 1970, č. 4, s. 287-293.
- BORAY, J. C.: Fortschritte in der Bekämpfung der Fasciolose. Schweiz. Arch. Thierheilkde, 113, 1971, s. 361-386.
- EUZÉBY, J.: Les fascioloses hépato-biliaires des ruminants domestiques. Cah. Méd. vétér., 40, 1971, s. 249-258.
- FROMUNDA, V. — SIRBU, E.: Aspects de l'épizootologie et de la prophylaxie de la fasciolose en république socialiste de Roumanie. Cah. Méd. vétér., 40, 1971, s. 266-276.
- FROYD, G.: Liver fluke in Great Britain: A survey of affected livers. Veter. Rec., 97, 1975, s. 492-495.
- FUHRIMANN, H.: Studien zum Problem der Leberegelbekämpfung. Schweiz. Arch. Thierheilkde, 103, 1961, s. 88-94.
- HARRIS, R. E. — CHARLESTON, W. A. G.: Fascioliasis in New Zealand. A review. Veter. Parasit., 7, 1980, s. 39-49.
- HENRIKSEN, S. A. — PILEGAARD-ANDERSEN, C.: *Fasciola hepatica* in Denmark. A survey on 15 years diagnostic examination on bovine faeces samples. Nord. veter. Med., 31, 1979, s. 6-13.
- HIEPE, T. — GRÜNWOLDT, J.: Untersuchungen über den Leberegelbefall bei Rindern unter Berücksichtigung des Fleischbeschaubefundes. Berl. Münch. tierärztl. Wschr., 78, 1965, s. 114-115.
- HOVORKA, J.: Helminty a helmintohostitelské vzťahy u domácich prežúvavcov. Bratislava, Vyd. SAV 1963.

- KOUDELA, K. — ROBES, B.: Helminťovní status jatečných zvířat v CSSR. 1. Fasciolóza skotu a ovcí. Veter. Med. (Praha), 12, 1967, s. 721-726.
- LEIMBACHER, F.: Intérêt d'utiliser la prévision du risque de grande douve. Facteur de progrès dans la lutte contre la fasciolose. Rev. Méd. vétér., 129, 1978, s. 1027-1046.
- LEINATI, L.: Ricerca sulla distomatosi nei bovini. Clin. veter., 85, 1962, s. 1-10.
- MARCHAND, A.: Les incidences économiques des principales parasitoses des bovins. Rev. Méd. vétér., 135, 1984, s. 299-302.
- MORRIS, R. S. — MEEK, A. H.: Measurements and evaluation of the economic effects of parasitic disease. Veter. Parasit., 6, 1980, s. 165-184.
- PETERS, B. J. — CLAPHAM, P. A.: Infestation with liver-fluke among 73 000 cattle slaughtered in Great Britain during June 1942. J. Helminth., 20, 1942, s. 115-120.
- POPOV, A.: État de la fasciolose en Bulgarie: Mesures de lutte et résultats obtenus. Cah. Méd. vétér., 40, 1971, s. 259-267.
- ROBES, B.: Ekonomický význam nemocnosti u skotu. [Habilitation práce.] Praha 1977, 182 s. — Vysoká škola zemědělská.
- ROSS, J. G.: A five-year study of the epidemiology of fascioliasis in the north, east and west of Scotland. Brit. veter. J., 133, 1977, s. 263-272.
- VINCK, L.: Distomatosis in the Netherlands. Tijdschr. Diergeneesk., 86, 1961, s. 1418-1420.
- WHITEHEAD, J. D.: Observation on the repeated treatment for fascioliasis of stock on a farm in south-west England. Veter. Rec., 98, 1976, s. 5-9.
- WILLOMITZER, J. — CHROUSTOVÁ, E.: Komplexní boj proti fasciolóze v podmínkách metodiky ČSR. Metodiky ÚVTIZ Praha, 1973, č. 20, 16 s.

Došlo dne 22. 1. 1987

ЗАЙИЧЕК, Д. (Центральный государственный ветеринарный институт, Прага): Подавление фасциолёза у скота в ЧСР в 1970—1985 гг. Veter. Med. (Praha), 32, 1987 (11) : 695-704.

В 1970—1985 гг. проводилась программа подавления фасциолёза (*F. hepatica*) у скота при помощи целенаправленной дегельминтизации и профилактических мероприятий в животноводческих хозяйствах. Антифасциолики Bilevon M и в меньшей степени Bromsolan pulv. в 1973—1979 гг. назначались ветеринарной службой из государственных дотаций. От 1980 г. применяется препарат Helmisan (Spofa), дотированный из средств сельскохозяйственных предприятий. За 1972—1979 гг. у выращиваемого скота было проведено 213 лечебных и профилактических дегельминтизаций в год. Все мероприятия проявились снижением появления *Fasciola hepatica* и патологических изменений в печени крупного рогатого скота после убоя с 5,8 % (1971) на 0,9 % (1980) в общегосударственном масштабе. На основании этой программы подавления фасциолёза скота не появляется в 29 районах, и хотя первоначально был расширен во всех районах ЧСР. После десяти лет целенаправленного употребления антифасциоликов в анализах определены живые фасциолы не были, а у скота наблюдались лишь патологические изменения после действия *F. hepatica*. От 1980 года экстенсивность анализов *F. hepatica* у убойного скота колебалась в пределах одного процента, но за последние годы опять были определены живые фасциолы в печени. В областях и районах ЧСР постиженных паразитизма с помощью этой программы подавления понизилось количество заболеваний в животноводческих хозяйствах.

Fasciola hepatica; дегельминтизация; программа подавления

ЗАЙИЧЕК, Д. (Central State Veterinary Institute, Praha): Suppressing Bovine Fascioliasis in the Czech Socialist Republic in 1970 to 1985. Veter. Med. (Praha), 32, 1987 (11) : 695-704.

A programme for the control of fascioliasis caused by *F. hepatica* in cattle was launched in 1970 and continued until 1985. The animals were subjected to helminth-control treatment and preventive measures were taken in the herds. The anti-fasciolic Bilevon M and to some extent also Bromsolan pulv. were administered by the veterinary service on the basis of state subsidies in 1973 to 1979. The pre-

paration Helmisan (Spofa) has been in use since 1980; its production is subsidized by the agricultural enterprises. In the period from 1972 to 1979, up to 213 thousand helminth-control treatments (both therapeutic and preventive) were performed every year in the cattle. All treatments reduced the occurrence of *Fasciola hepatica* and pathological changes in the liver of the killed cattle (from 5.8 % recorded in 1971 to 0.9 in 1980, on an national average). As a result, 29 districts are free from fascioliasis although the disease originally occurred in all districts of the Czech Socialist Republic. After ten years of purposeful use of antifasciolics, the findings were free from living flukes and the cattle only showed pathological changes after the action of *F. hepatica*. Since 1980 the extensity of the findings of *F. hepatica* in slaughtered cattle has ranged within one percent, though living flukes have recently occurred again in the liver of certain animals. In the enzootically affected regions and districts of the Czech Socialist Republic the fascioliasis control programme succeeded in reducing the number of invaded cattle herds.

Fasciola hepatica; helminth control; fascioliasis control programme

ZAJÍČEK, D. (Zentrales staatliches Veterinärinstitut, Praha): *Bekämpfung der Fasziole beim Rind in der ČSR im Zeitraum 1970 bis 1985*. Veter. Med. (Praha), 32, 1987 (11) : 695-704.

In den Jahren 1970 bis 1985 wurde ein umfangreiches Programm zur Bekämpfung der Fasziole (*F. hepatica*) beim Rind u. zw. mittels planmäßiger Dehelminthisierung und präventiver Maßnahmen in den Zuchten, realisiert. Die Antifasziole Bilevon M und in geringerem Maße Bromsalan pulv. wurden in den Jahren 1973 bis 1979 vom Veterinärdienst aus staatlichen Dotationen appliziert. Von 1980 an wird das Präparat Helmisan (Spofa) angewendet, das aus Mitteln der landwirtschaftlichen Betriebe finanziert wird. In den Jahren 1972 bis 1979 wurden in den Rinderbeständen bis zu 213 000 therapeutischer und präventiver Dehelminthisierungen jährlich durchgeführt. Sämtliche Eingriffe kamen durch einen Rückgang des Vorkommens von *Fasciola hepatica* sowie der pathologischen Veränderungen in Lebern geschlachteter Rinder von 5,8 % (1971) auf 0,9 % (1980) in gesamtstaatlichem Maßstab zum Ausdruck. Infolge dieses Programms der Bekämpfung der Fasziole kommt diese in 29 Kreisen nicht mehr vor, obwohl sie ursprünglich in allen Kreisen der ČSR vorzufinden war. Nach zehn Jahren zielbewußter Anwendung von Antifasziole wurden in den Funden keine lebendigen Leberegel konstatiert und bei den Rindern konnten lediglich pathologische Veränderungen durch das Wirken der *F. hepatica* nachgewiesen werden. Von 1980 an bewegte sich die Extensität der Funde der *F. hepatica* beim geschlachteten Vieh im Bereich bis zu einem Prozent, in den letzten Jahren wurden jedoch wiederum lebendige Leberegel in den Lebern vorgefunden. In den enzootisch betroffenen Bezirken und Kreisen der ČSR gelang es aufgrund dieses Bekämpfungsprogramms die Zahl der verseuchten Rinderzuchten zu vermindern.

Fasciola hepatica; Dehelminthisierung; Bekämpfungsprogramm

Adresa autora:

MVDr. Dalibor Zajíček, CSc., Ústřední státní veterinární ústav, Sídlištní 136, 165 03 Praha 6 - Lysolaje

CONTENTS

Holý L., Lopatářová M., Vaňatka F., Vrtěl M., Cahel F., Jiříček A., Mazůrek J., Kaděra J., Klimeš V., Krontorád P., Kroupa L., Řehánek J.: The Results of the Practical Use of Non-surgical Embryo Transfer in Cattle	643
Rubeš J., Žák M., Hořínová Z.: A Method for the Cytogenetic Examination of the Early Embryos of Cattle	655
Molnářová M., Arendarčík J.: The Changes in the Trypsin Inhibiting Activities of the Blood Plasma and Cervical Mucus of Ewes after the Administration of PGF ₂ alpha and PMSG during Anoestrus	659
Matouch O., Jaroš J., Pohl P.: Survival of the Rabies Virus under External Conditions	669
Ruprich J., Piskač A.: Preparation of the Mycotoxin Ochratoxin A for Research and Diagnostic Purposes	675
Muška M.: Seasonal Dynamics of Synovine Flies at the Jarov Locality during the Pasture Season	681
Žuffa T., Krobot P.: Demonstration of Antibodies to the Infectious Laryngotracheitis Virus and Parainfluenza 2 Virus in Dogs Kept in Czechoslovakia	689
Zajíček D.: Suppressing Bovine Fascioliasis in the Czech Socialist Republic in 1970 to 1985	695

INHALT

Holý L., Lopatářová M., Vaňatka F., Vrtěl M., Cahel F., Jiříček A., Mazůrek J., Kaděra J., Klimeš V., Krontorád P., Kroupa L., Řehánek J.: Ergebnisse der Applikation der sog. unblutigen Übertragung von Rinderembryonen in der tierzüchterischen Praxis	643
Rubeš J., Žák M., Hořínová Z.: Methode für zytogenetische Untersuchung von Frühembryonen beim Rind	(E) 655
Molnářová M., Arendarčík J.: Veränderungen trypsininhibierender Aktivitäten des Blutplasmas und Zervikalschleims bei Schafen nach Applikation von PGF ₂ Alpha und PMSG im Anöstrus	(E) 659
Matouch O., Jaroš J., Pohl P.: Überlebenszeit des Tollwutvirus unter Außenbedingungen	669
Ruprich J., Piskač A.: Zubereitung des Mykotoxins Ochratoxin A für Forschungs- und Diagnosezwecke	675
Muška M.: Saisonbedingte Dynamik synoviler Fliegen (<i>Diptera: Muscidae</i>) während der Weideperiode auf der Lokalität Jarov	681
Žuffa T., Krobot P.: Nachweis von Antikörpern gegen Viren der infektiösen Laryngotracheitis und Parainfluenza-2 bei Hunden in Zuchten auf dem Gebiet der ČSSR	689
Zajíček D.: Bekämpfung der Fasziole beim Rind in der ČSR im Zeitraum 1970 bis 1985	695

Rukopisy odevzdány k tisku 31. 7. 1987 — Podepsáno k tisku 2. 10. 1987

Vědecký časopis VETERINÁRNÍ MEDICÍNA • Vydává Československá akademie zemědělská — Ústav vědeckotechnických informací pro zemědělství • Vychází měsíčně • Redaktorka ing. Jovanka Václavičková • 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.