

VĚDECKÝ ČASOPIS



VETERINÁRNÍ MEDICÍNA

10

ČASOPIS 33 (LXI)

PRAHA

ČERVEN 1988

CENA 10 Kčs

ISSN 0375-8427

ČESKOSLOVENSKÁ AKADEMIE ZEMĚDĚLSKÁ
ÚSTAV VĚDECKOTECHNICKÝCH INFORMACÍ
PRO ZEMĚDĚLSTVÍ

Řídí redakční rada: akademik Jaroslav Otto Vrtiak (předseda), akademik Koloman Boďa, prof. MVDr. Ján Elečko, CSc., ing. MVDr. Radomír Hromádko, prof. MVDr. Jozef Hrušovský, DrSc., prof. MVDr. Dagmar Ježková, DrSc., doc. MVDr. Evžen Jurák, DrSc., MVDr. Jaroslav Palásek, CSc., prof. MVDr. Mikuláš Pješčak, CSc., MVDr. Jozef Sokol, CSc., prof. MVDr. Bohumil Ševčík, DrSc.

Za vedení časopisu odpovídá akademik Jaroslav Otto Vrtiak

Redaktorka ing. Jovanka Václavíčková

OBSAH

Holý L., Lopatářová M., Krontorád P.: Kvalita a stadium vývoje embryí skotu ve vztahu k jejich přežívání <i>in vivo</i> po ipsilaterálním nekrvavém přenosu	577
Jagoš P., Dostálová M., Zajac J., Bouda J.: Dynamika hladin imunoglobulinů v krevním séru telat od narození do věku šesti měsíců	589
Toman M., Zralý Z., Franz J., Čanderle J., Štěpánek J.: Imunitní odpověď bovinních fétů na intrauterinní imunizaci rotavirem	593
Dvořák R., Jagoš P., Jízdny J., Přikrylová J., Hradilová M.: Vliv zkrmování slámy ošetřené louhem sodným býkům ve výkrmu na metabolický profil bachorové tekutiny, zdraví a přírůstky hmotnosti	599
Skalka B.: Izolace kmenů <i>Staphylococcus hyicus</i> ze zdravých hostitelů a diagnostická studie kmenů	607
Novotná B., Dvořák Z.: Postmortální tvorba anorganického fosforu ve skeletálních svaích prasat ve vztahu k detekci PSE masa	617
Smutný J., Ivanko Š., Várady J., Gyulai F., Strapáč I., Dičáková Z., Šulík E.: Vplyv inhibitora trypsínu zo semien viky siatej na rast bachorových protozoí <i>Entodinium simplex in vitro</i>	625
Křižanová H., Halaša N., Roško L., Zubaj J.: Výsledky štúdia pôvodu moru včelieho plodu	633

СОДЕРЖАНИЕ

Голы Л., Лопатаржова М., Кронторад П.: Качество и стадии развития эмбрионов коров с точки зрения их выживания <i>in vivo</i> после ипсилатеральной бескровной пересадки	577
Ягош П., Досталова М., Заяц Я., Боуда Я.: Динамика уровней иммуноглобулинов в кровяном сыворотке телят от рождения до возраста шести месяцев	589
Томан М., Зралы З., Франц Я., Чандерле Й., Штепанек Я.: Иммуни-тетная реакция бовинных плодов на внутриматочную иммунизацию ротавирусом	593
Дворжак Р., Ягош П., Йиздны Й., Пржикрылова Я., Градилова М.: Влияние скармливания откормочным быкам соломы, обработанной едким натром, на метаболический профиль рубцовой жидкости, здоровье и привесы	599
Скалка Б.: Изолирование штаммов <i>Staphylococcus hyicus</i> из здоровых хозяев и диагностическое изучение штаммов	607
Новотна Б., Дворжак З.: Постмортальное образование неорганического фосфора в скелетных мышцах поросят в отношении к определению PSE мяса	617
Смутны Я., Иванко Ш., Варады Й., Гилай Ф., Страпач И., Ди-чак-кова З., Шулик Э.: Влияние ингибитора трипсина из семян вики посевной на рост рубцовых протозоев <i>Entodinium simplex in vitro</i>	625
Кржижанова Г., Галаша М., Рошко Л., Зубай Я.: Результаты исследо-вания возбудителя гнильца пчелиного расплода	633

KVALITA A STADIUM VÝVOJE EMBRYÍ SKOTU VE VZTAHU K JEJICH PŘEŽÍVÁNÍ *IN VIVO* PO IPSILATERÁLNÍM NEKRVAVÉM PŘENOSU

L. Holý, M. Lopatářová, P. Krontorád

HOLÝ, L. — LOPATÁŘOVÁ, M. — KRONTORÁD, P. (Vysoká škola veterinární, Brno; Okresní veterinární zařízení, Ústí nad Orlicí): *Kvalita a stadium vývoje embryí skotu ve vztahu k jejich přežívání in vivo po ipsilaterálním nekrvavém přenosu*. Veter. Med. (Praha), 33, 1988 (10) : 577-588.

V letech 1986 a 1987 jsme v sedmém dnu (D7) po superovulační říji uskutečnili 1761 ipsilaterálních přenosů embryí skotu různých vývojových a kvalitativních kategorií nekrvavou cestou. Na pozdní moruly (PM) připadlo celkem 18,68 %, na velmi časně blastocysty (VČB) 47,72, na časně blastocysty (ČB) 20,55, na pozdní expandované blastocysty (PB) 9,48, na kontrahované a klubající se blastocysty (KB) 2,10 a na vyklubané blastocysty (VB) 0,51 % embryí. Vynikající embrya byla zastoupena v kategorii PM 45,89 %, VČB 65,25 %, ČB 69,53 % a PB 97,0 % případů. Po přenosu vynikajících embryí jednotlivých vývojových stadií došlo ke koncepci po PM v 66,22 %, po VČB v 67,08 %, po ČB v 71,71 %, po PB v 63,58 %, po KB v 64,86 % a po VB v 88,9 % případů. Mírně, středně a těžce postižené PM přežily v 58,7, 57,8 a 56,6 % a PB v 50,0 a 66,66 %. Celkem po PM koncipovalo 62,61 %, po VČB 65,96 %, po ČB 69,25 %, po PB 63,47 %, po KB 64,86 a po VB 88,9 % příjemců. Podle kvality embryí a bez ohledu na stadium vývoje přežívala embrya vynikající v 67,58 %, mírně poškozená v 65,44 %, středně poškozená v 57,75 % a těžce poškozená v 61,72 % případů. Z celkového počtu 1761 nekrvavých ipsilaterálních přenosů embryí různých kvalit a vývojových stadií koncipovalo 1160, tj. 65,87 % příjemců. Vysoké přežitelnosti postižených embryí, a tím i zvýšeného efektu superovulace a embryonálního transferu vůbec lze dosáhnout správnou selekcí zárodků podle charakteru a vývoje zachované embryonální masy v podmínkách krátkodobé kultivace.

embryotransfer; embryo; přežívání; zabřezávání

Obecně platí, že další vývoj embrya po přenosu je do značné míry závislý na jeho kvalitě (Shea aj., 1976; Shea, 1981; Seidel, 1981; Baker a Kobayashi, 1982; Linder a Wright, 1983; Looney aj., 1984; Takeda aj., 1986; Sreenan a Diskin, 1987; Hasler aj., 1987 a další), která v nejobvyklejší době odběru, tj. v D7 postsuperovulačního cyklu, není zdaleka uniformní ani po stránce vývojové, ani morfologické. Výplasek po superovulačním hormonálním ošetření dárkyně přináší obvykle pestrou paletu nejrozličnějších forem, neoplozenými vajíčky počínaje a vyklubanými blastocystami, resp. různými stupni degenerovaných embryí konče.

Odebírají-li se embrya v D7 po superovulační říji, měla by ve výplasku být vývojová stadia odpovídající kompaktním, tj. pozdním morulám, až dobře diferencovaným blastocystám. Jestliže se v této době obje-

ví ve výplašku útvary o menším počtu buněk, může jít o embrya odumírající či odumřelá, nebo to jsou embrya pocházející z ovulace opožděné o tři až čtyři dny, popřípadě je vývoj embrya z různých příčin výrazně retardován. V každém případě bývá úspěch po přenosu takových embryí minimální (Shea, 1981). Objeví-li se na druhé straně ve výplašku klubající se a vyklubané blastocysty, může naopak jít o velmi časnou ovulaci v rámci superovulačního procesu nebo o urychlený vývoj jedince.

V rámci transferu embryí (TE, ET) bývá mimo kvantitu hlavním problémem především kvalita embryí, tj. existence zárodků s menšími nebo většími známkami poškození nebo degenerace embryonální masy. Tato poškození se z různých důvodů začínají vyvíjet již v raných stadiích vývoje a jsou v lehkých případech charakterizována eliminací poškozených buněk na povrchu embryonálního útvaru, popř. změnou barvy a vakuolizací jednotlivých celulárních útvarů. Při vyšším stupni degenerace však může dojít k většímu odumření embryonální části (30–50 i více procent), která se pak rozpadá a navazuje nebo různým způsobem obklopuje redukovaný a zachovalý embryonální základ v perivitellinním prostoru. Vzhledem k tomu, že takto poškozených embryí bývá ve výplašku značné množství a při jejich nesprávném posouzení může dojít k výrazné depresi efektu superovulace a ET vůbec, zaměřili jsme pozornost na retrospektivní zhodnocení úrovně přežívání defektních embryí, která v době přenosu a po krátkodobé kultivaci byla podrobena přísnému morfologickému zhodnocení.

MATERIÁL A METODY

Srovnávací pokusy jsme dělali v posledních dvou letech, kdy jsme superovulaci u pečlivě vybíraných dárců vyvolávali výhradně FSH-P (Foliotropin, Spofa) podle běžně známých metodik (Holý aj., 1987) a v celkové sestupné dávce 22 až 30 mg účinné látky v průběhu čtyř dnů. Spolu s pátou a šestou injekcí gonadotropinu bylo podáváno luteolytikum (Oestrophon, Spofa), vždy v dávce 0,5 mg. K první inseminaci zmrazeným semenem došlo kolem 56. hodiny po první aplikaci luteolytika a další dvě následovaly v intervalu po 12 hodinách.

Embrya v D7 jsme odebírali nekrvavým způsobem gravitační metodou PBS (Gibco) s 1 % bovinního fetálního séra (FCS) a kvalitu i stadium jejich vývoje jsme posuzovali výhradně morfologicky za použití vhodné mikroskopické techniky. Použitelná embrya různých vývojových stupňů jsme klasifikovali do čtyř různých kategorií.

Nepoškozená, resp. intaktní embrya různých stadií vývoje, tj. pozdní moruly (PM), velmi časně blastocysty (VČB), časně blastocysty (ČB), pozdní, tj. expandované blastocysty (PB), kontrahované a klubající se blastocysty (KB) a vyklubané blastocysty (VB), byla označena uvedenou zkratkou a eventuální defekty těchto kategorií pak vyjadřoval číselný index od 1 do 3 podle závažnosti poškození. Triviální vady byly označeny indexem 1, závažné degenerativní změny indexem 3.

Při posuzování a selekci poškozených embryí jsme soustředili pozornost nikoli na degenerovanou masu, ale na zachovalé zbytky tkáně, jejich kvalitu a potenciální vitalitu. Embrya postižená i těžkými parciálními defekty, ale se zachovalou a organizovanou částí embryonální tkáně, jsme izolovali, promyli v čistém PBS a spolu s ostatními podrobili krátkodobé kultivaci v běžném vyplachovacím roztoku PBS s 1 % FCS při laboratorní teplotě po dobu dvou až čtyř hodin, což v průměru odpovídalo intervalu od jejich izolace k přenosu. K transferu jsme používali jen ta embrya, u kterých se projevovaly evidentní známky vývoje.

Příjemkyně, převážně jalovice, které byly předem klinicky selektovány, byly synchronizovány Oestrophanem (0,5 mg) o den dříve než dárce. Těsně před přenosem, tj. již za podmínek jejich přípravy k transferu epidurální anestezii, byla vhodnost přijemce definitivně zhodnocena podle stavu a funkce pohlavních orgánů

I. Vývojové a kvalifikační rozdělení embryí odebíraných a přenášných v sedmém dnu po superovulační říji (D7) — Embryos collected and transferred the seventh day after superovulated oestrus (D7). Division according to development and quality

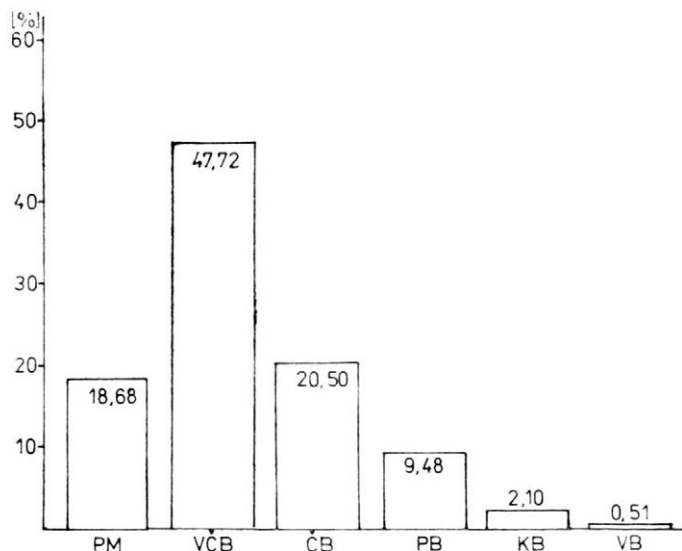
Diferenciál	Počet	Procento
PM	151	8,57
PM (1)	92	5,22
PM (2)	64	3,65
PM (3)	22	1,25
PM celkem	329	18,68
VČB	556	31,57
VČB (1)	197	11,18
VČB (2)	87	4,94
VČB (3)	18	1,02
VČB celkem	858	47,72
ČB	251	14,25
ČB (1)	36	2,04
ČB (2)	33	1,87
ČB (3)	41	2,33
ČB celkem	361	20,50
PB	162	9,20
PB (1)	2	0,11
PB (2)	3	0,17
PB (3)	—	—
PB celkem	167	9,48
KB	37	2,10
VB	9	0,51

a u vhodných recipientů byla provedena ipsilaterální a nekrvavá embryonace elastickým zařízením (typ Brno), jehož depoziční kapilára byla po každém přenosu kontrolována, zda skutečně došlo k evakuaci embrya či nikoliv.

Přežívání embryí bylo pak zjišťováno rektálním vyšetřením po 35 dnech po přenosu nebo po 42 dnech po říji příjemce a na základě těchto výsledků byla retrospektivně srovnána přežitelnost embryí ve vztahu ke stadiu jejich vývoje a ke kvalitě.

VÝSLEDKY

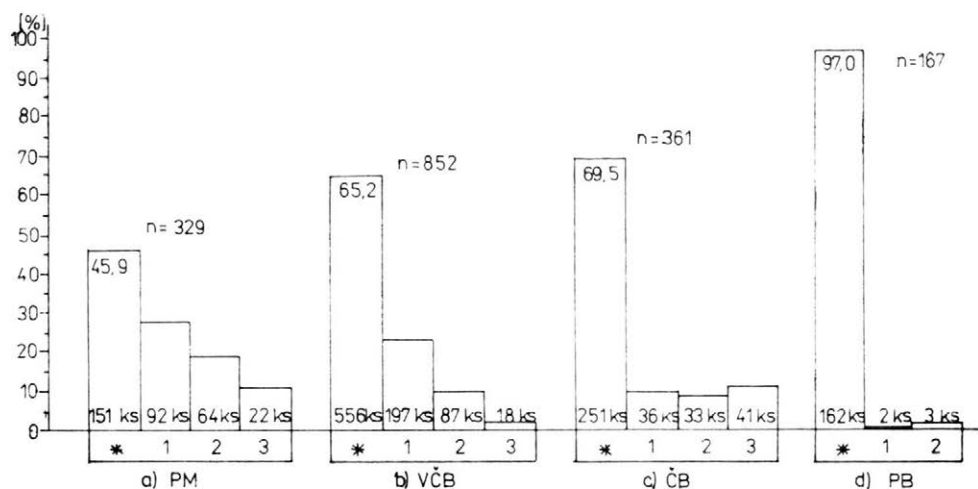
V průběhu roku 1986 až do září roku 1987 jsme provedli celkem 1761 ipsilaterálních přenosů čerstvých embryí transcervikální cestou. Z tohoto množství (tab. I) připadlo na PM celkem 329 embryí (18,68 %),



1. Vývojové a kvalifikační rozdělení embryí odebíraných a přenášených v sedmém dnu (D7) po superovulační říji — Embryos collected and transferred the seventh day (D7) after superovulated oestrus. Division by development and quality

na VČB 858 (47,72 %), na ČB (20,55 %), na PB 167 (9,48 %), na KB 37 (2,1 %) a na VB 9 (0,51 %) embryí. Toto zastoupení jednotlivých embryonálních kategorií představovalo dispoziční embryogram v D7 po superovulační říji a krátkodobé kultivaci embryí *in vitro* po jejich odběru. Jak je patrné z tab. I, jsou v daném stadiu postsuperovulačního cyklu z využitelných embryí nejčastěji k dispozici VČB (téměř 50 %), dále PM a ČB (zhruba kolem 20 %), podstatně méně jsou zastoupeny KB (9,48 %) a výjimečně KB a VB (obr. 1).

Pokud jde o celkové zastoupení jednotlivých vývojových a kvalitativních kategorií, byly z celkového počtu embryí intaktní PM zastou-



2. Grafické znázornění diferenciacce embryí přenášených v sedmém dnu (D7) po superovulační říji podle vývojových stadií a kvality — Embryos transferred the seventh day (D7) after superovulated oestrus. Graphical representation of differentiation according to developmental stages and quality

* = embrya bez morfologických defektů, 1 = embrya s lehkými, 2 = se středními, 3 = s těžkými morfologickými defekty

na středně defektní 19,45 % [64] a na těžce poškozená 6,69 % [22] případů.

Z 852 použitých VČB (obr. 2b) bylo 556 (65,25 %) embryí vynikajících kvalit, ve 197 případech (23,12 %) šlo o embrya mírně poškozená, v 87 případech o VČB₂ (10,21 %) a v 18 případech (2,11 %) o VČB₃.

Časných blastocyst (ČB) bylo přenášeno celkem 361 (obr. 2c). Z nich bylo 251 nepoškozených (69,53 %) a mírně, střední a těžké defekty mělo 9,9, 9,14 a 11,35 % embryí. Ze 167 PB (obr. 2d) bylo 162 embryí vynikajících (97,0 %) a na PB₁ a PB₂ připadlo pouze 1,2 %, resp. 1,8 % embryí.

Posun zastoupení vynikajících embryí v jednotlivých vývojových kategoriích, tj. od 45 % u PM na 65 % u VČB až na 97 % u PB, je dán postupnou selekcí a zánikem části embryí, ale hlavně dalším vývojem i původně výrazněji postižených embryí, která se dále a velmi intenzívně vyvíjejí a při své expanzi zatlačují odumřelé buňky, popřípadě buněčný detritus k zóně pellucidě. Tím se původní (i závažnější) degenerativní změny stávají hůře rozlišitelné a vzniklé ČB, popř. PB, dostávají zcela jiný, téměř normální morfologický vzhled a charakter, takže původní defekty při běžném posouzení a nedostatku zkušeností zcela unikají.

Při výběru a hodnocení poškozených embryí bezprostředně po odběru jde tedy jen o to, aby byl správně posouzen zbytek zachovalé a živé embryonální tkáně, která se v novém prostředí po odběru vyvíjí velmi rychle do zcela normálních embryonálních útvarů.

Pokud jde o efektivitu přežívání embryí různých kvalit, zhodnotili jsme v roce 1986 (tab. II) celkem 934 ipsilaterální přenosy embryí v různých vývojových a kvalitativních kategoriích.

Z vynikajících embryí koncipovalo po přenosu 90 PM 63,3 % příjemců, po transferu 325 VČB zabřezlo 64,9 % recipientů, po použití 160 ČB a 108 PB přežilo 72,5 %, resp. 66,7 % embryí, po transferu 22 KB zabřezlo 59,1 % zvířat a po přenosu čtyř VB koncipovali všichni čtyři příjemci.

Z mírně poškozených embryí přežívaly PM₁ v 64,7 %, VČB₁ v 68,3 % a ČB₁ v 90 % případů. U středně těžkých defektů byla po PM₂ koncepcí v 51,1 %, po VČB₂ v 55,9 %, po ČB₂ v 90 % a po PB₂ ve 100 % případů. Embrya s těžkými defekty, kterých bylo v hodnoceném souboru podstatně méně, přežívala po PM₃ v 50 % případů, po VČB₃ v 71,4 % a po ČB₃ ve 100 % případů.

Celkem se tedy v roce 1986, ve srovnání s vynikajícími embryí, vyvíjely defektní PM v poměru 63,3 : 56,6 %, VČB v poměru 64,4 : 64,9 %, ČB v poměru 73,52 : 72,50 % a PB v poměru 66,6 : 66,7 %.

S ohledem na jednotlivé vývojové kategorie embryí vcelku přežívaly PM všech kvalit v 59,9 %, VČB v 64,8 %, ČB v 72,7 % a PB v 67,7 % případů. Po všech 934 nekrvavých ipsilaterálních přenosech zabřezlo 614, tj. 65,7 % příjemců (tab. II).

V roce 1987 (tab. II) jsme do konce září uskutečnili celkem 827 transferů embryí různých kvalit a vývojových stupňů.

Vynikající embrya přenášená ve stadiu PM přežívala v 70,5 %, VČB v 70,1 %, ČB v 70,3 %, PB v 57,4 %, KB v 73,3 % a VB v 80,0 % případů. U poškozených embryí přežívaly PM₁, PM₂ a PM₃ v 55,2, 69,6 a 90,0 %, VČB₁, VČB₂ a VČB₃ v 67,9, 52,8 a 63,6 % a ČB₁, ČB₂ a ČB₃ v 61,5, 72,7 a 53,8 % případů. Po malém počtu přenesených pozdních blastocyst došlo ke koncepci ve všech případech.

II. Přežívání ambryí ve vztahu ke stadiu jejich vývoje a kvalitě — The survival of embryos in relation to the stage of their development and to their quality

Diferenciace embrya	Počet přenosů		Zabřezlo		Procento březosti		
	1986	1987	1986	1987	1986	1987	1986/1987
PM	90	61	57	43	63,3	70,50	66,22
PM (1)	34	58	22	32	64,7	55,20	58,69
PM (2)	41	23	21	16	51,2	69,60	57,78
PM (3)	12	10	6	9	50,0	90,0	68,18
PM celkem	177	152	106	100	59,9	65,78	62,61
VČB	325	231	211	162	64,9	70,10	67,08
VČB (1)	60	137	41	93	68,3	67,90	68,02
VČB (2)	34	53	19	28	55,9	52,80	54,02
VČB (3)	7	11	5	7	71,4	63,63	66,66
VČB celkem	426	432	276	290	64,8	67,12	65,96
ČB	160	91	116	64	72,5	70,30	71,71
ČB (1)	10	26	9	16	90,0	61,50	69,44
ČB (2)	22	11	14	8	63,6	72,70	66,66
ČB (3)	2	39	2	21	100,0	53,80	56,60
ČB celkem	194	167	141	109	72,7	65,26	69,25
PB	108	54	72	31	66,7	57,40	63,58
PB (1)	1	1	0	1	0	100,00	50,00
PB (2)	2	1	2	0	100,0	0	66,66
PB (3)	—	—	—	—	—	—	—
PB celkem	111	56	74	32	66,7	57,14	63,47
KB	22	15	13	11	59,1	73,33	64,86
VB	4	5	4	4	100,0	80,00	88,90
Celkem	934	827	614	546	65,7	66,02	65,87

peny 8,57 % případů, nepoškozené VČB byly přenášeny v 31,57 %, ČB ve 14,25 %, PB v 9,2 %, KB ve 2,1 % a VB v 0,51 % případů.

Z mírně poškozených embryí byly PM₁ přenášeny v 5,22 %, VČB byly zastoupeny v 11,8 %, ČB ve 2,04 % a PB jen v 0,1 % případů. PM₂ se přenášely ve 3,65 %, VČB ve 4,94 %, ČB v 1,87 % a PB jen v 0,17 % případů. Embrya s těžkými defekty, tj. PM₃, jsme použili v 1,25 %, VČB v 1,02 % a ČB ve 2,33 % případů (tab. I).

Z celkového počtu 318 přenášených PM (obr. 2a) připadlo na vynikající embrya 45,89 % (151), na mírně poškozená embrya 27,96 % (92),

III. Procento přežívání embryí ve vztahu k jednotlivým vývojovým a kvalitativním kategoriím (1986/1987) — Embryo survival rate in relation to the developmental stages and quality categories (1986/1987)

Kvalita embryí	PM	VČB	ČB	PB	KB	VB
*	66,20	67,08	71,71	63,58	64,86	88,9
1	58,69	68,02	69,44	50,00	—	—
2	57,78	54,02	66,66	66,66	—	—
3	68,18	66,66	56,60	—	—	—
Celkem	62,61	65,96	69,25	63,47	64,86	88,9

* = embrya bez morfologických defektů, 1 = embrya s lehkými, 2 = se středními morfologickými defekty, 3 = s těžkými morfologickými defekty

Celkem přežívala poškozená embrya proti intaktním ve stadiu PM v poměru 61,3 : 70,5 %, ve stadiu VČB v poměru 63,6 : 67,9 % a ČB v poměru 59,2 : 70,0 %. Po přenosu PM koncipovalo 65,7 %, po transferu VČB zabřezlo 67,12 %, po ČB 65,26 % a po PB 57,14 % příjemců.

V průběhu sledovaných dvou let se tedy zlepšilo přežívání PM a VČB v roce 1987, zhoršilo se zabřezávání po ČB a k jistému zlepšení došlo po transferu PB a VB.

Celkové přežívání embryí *in vivo* v závislosti na vývojových a kvalitativních kategoriích je v průběhu sledovaných dvou let uvedeno v tab. II. Z přehledu je patrné, že sice nejlépe přežívají embrya vynikajících kvalit a z nich především PM, VČB a ČB (66,2, 67,08 a 71,7 %), ale vysokého zabřezávání bylo dosaženo i po přenosu 22 PM výrazně poškozených (68,18 %) nebo 197 VČB s mírnými defekty (68,02 %). Únosnou přežitelnost však poskytla i poškozená embrya jiných kategorií (tab. III), u nichž efektivita přenosu nepoklesla pod 50 % ani v jednom případě. Důležitá byla i skutečnost, že vysoká přežitelnost embryí byla zaznamenána jak u KB, tak i u VB. Přestože jde jen o skupinu

IV. Přežívání embryí ve vztahu k jejich kvalitě — The survival of embryos in relation to their quality

Kvalita	Rok 1986			Rok 1987			Celkem		
	počet přenosů	za- březlo	procento březosti	počet přenosů	za- březlo	procento březosti	počet přenosů	za- březlo	procento březosti
*	709	473	66,7	457	315	68,90	1166	788	67,58
1	105	72	68,6	222	142	63,96	327	214	65,44
2	90	56	56,6	88	52	59,10	187	108	57,75
3	21	13	61,9	60	37	61,70	81	50	61,72
Celkem	934	614	65,7	827	546	66,02	1761	1160	65,87

* = embrya bez morfologických defektů, 1 = embrya s lehkými, 2 = se středními morfologickými defekty, 3 = s těžkými morfologickými defekty

okrajovou a málo početnou, výsledky svědčí o tom, že i tato embrya lze v D7 úspěšně přenášet do vhodných příjemců.

Hodnotíme-li přežívání embryí podle vývojových stadií a bez ohledu na jejich kvalitu, pak po přenosu PM příjemci zabřezávali v průměru v 62,6 %, po VČB v 65,96 %, po ČB v 69,25 %, po PB v 63,4 % a po KB a VB v 64,86, resp. v 88,9 % případů (tab. III).

Při komplexním rozboru přežívání embryí přenášených v D7 podle jejich kvality a bez ohledu na stadium vývoje jsme v roce 1986 (tab. IV) dosáhli po vynikajících embryích 66,7% koncepce, po mírně poškozených 68,6%, po středně postižených 56,6% a po těžce defektních 61,9% zabřezávání. V roce 1987 (tab. IV) bylo po vynikajících embryích dosaženo 68,9% gravidity, po mírně poškozených 63,96%, po středně defektních 59,1% a po výraznějších poškozeních 61,7% zabřezávání. Z výsledků dvou srovnávaných let také vyplývá, že ačkoliv bylo v roce 1987 přenášeno o 20 % vynikajících embryí méně, měla průměrná koncepce mírně stoupající tendenci (65,7 : 66,02 %).

V průběhu roku 1986 a 1987, kdy bylo provedeno celkem 1761 nekrvavých přenosů (tab. IV), přežívala intaktní embrya v 67,58 %, mírně defektní v 65,44 %, středně poškozená v 57,75 % a výrazně defektní v 61,72 % případů. Celkem tedy do stadia diagnostiky březosti přežilo 1160, tj. 65,87 % embryí.

DISKUSE

Morfologické hodnocení kvality embrya je bezpochyby závislé na subjektivních přístupech a v jednotlivých laboratořích značně kolísá (Říha aj., 1984; Sreenan a Diskin, 1987 a další). Mezi extrémními kvalitativními stupni embryí mohou být značné rozdíly v přežitelnosti, což je i v literatuře bohatě komentováno. Elsdén aj. (1980) například zjistili, že vynikající embrya přežívají *in vivo* v 63 %, dobrá v 58 %, méně dobrá v 31 % a špatná jen ve 12 % případů. Rovněž Ter-vit aj. (1980) a Schneider aj. (1980) došli k závěru, že po přenosu kvalitních embryí se vyvíjela březost v 64, resp. 71 % a po špatných embryích jen ve 27, resp. 55 % případů. Tuto skutečnost potvrdil i Shea (1981), který po přenosu vynikajících embryí zaznamenal 71% koncepci, zatímco po špatných jen 44%. K podobným závěrům dospěli na základě analýzy 2083 nekrvavých přenosů Donaldson (1982), dále Baker a Kobayashi (1982), Linder a Wright (1983), Looney aj. (1984) a Markette aj. (1985), zejména pokud jde o přežívání embryí extrémních kvalit. Hasler aj. (1987) došli k závěru, že správné hodnocení přežitelnosti embryí podle kvalitativních stupňů je závislé jednak na četnosti přenosů, jednak na úrovni zabřezávání po ET vůbec. Tam, kde je po ET koncepce nízká a počet přenosů nedosta-tečný, se vliv kvality embryí na přežívání nemusí projevit. Autoři sami provedli 5521 chirurgických transferů a dosáhli po použití nejlepších kategorií embryí 73% koncepce, po dobrých embryích zabřezávali příjemci v 60 % a po špatných jen ve 41 % případů. Sreenan a Diskin (1987) naopak zastávají názor, že úroveň přežívání embryí jednotlivých vývojových a kvalitativních stupňů není vždy zcela evidentní ani shodná. Ačkoliv se tvrdí, že kvalita embryí je pro predikci jejich přežívání *in vivo* použitelná, běžná praxe TE i při použití nejsynchro-

nizovanějších příjemců tuto interpretaci značně omezuje. Skutečnost, kterou praxe běžně přináší, že dobrá embrya přežívají někdy hůře než špatná, jen dokazuje, že embryonální vývoj po přenosu není závislý výhradně na kvalitě embrya, ale i na mnoha jiných faktorech.

Ohodnocení získaných embryí, zejména pak embryí nižších kvalit, není vždy snadné a zcela jednoznačné. Je subjektivní, vyžaduje zkušenosti i znalosti. Představuje velmi závažnou součást ET vzhledem k tomu, že zdaleka ne všechna získaná embrya mají optimální kvalitu. Podle našich zkušeností (Lopatářová a Holý, 1988) bývá z celkového počtu využitelných embryí postiženo více než 33 %. Zbavovat se takových embryí realizací ET na „jistotu“ znamená nejen značnou redukci superovulačního efektu, ale i zvyšování nákladů na ET. Jde totiž o to, že u značného počtu postižených a na první pohled až špatných embryí může ve vhodném prostředí probíhat embryonální vývoj velmi rychle, protože zbytek aktivních blastomer si zachovává schopnost intenzivní rekuperace podobně, jako je tomu například u semiembryí získaných po mikrochirurgickém zásahu nebo u kryokonzervovaných embryí po rozmrazení (Hahn, 1987 — osobní sdělení). Správné ohodnocení a selekce takových embryí však vyžaduje nejen odbornou zkušenost a profesionální přísnost a kázeň, ale i dobrou mikroskopickou techniku a zejména krátkodobou kultivaci promytých embryí ve vhodném a sterilním prostředí.

Shea (1981) zaznamenal v embryogramu D7 zastoupení PM v 36 %, ČB v 57 %, PB v 7 % a VB v 0,4 %. Naproti tomu Linder a Wright (1983) udávají frekvenci PM 27 %, ČB 30 %, KB 31 %, PB 9 % a VB 2 %. V našich sledováních jsme v D7 měli k dispozici 18,68 % PM, 47,7 % VČB, 20,55 % ČB, 9,48 % PM, 2,1 % KB a 0,51 % VB. Rozdíly ve vývojové embryonální diferenciaci jsou zřejmě vyvolány individuální kategorizací jednotlivých vývojových stadií, zejména pokud jde o exaktnost rozlišování pozdních morul a různých vývojových forem blastocyst v různých laboratořích. V každém případě jsme v D7 měli k přenosu podstatně méně kompaktních morul, než vyplývá z citovaných prací.

I v našich pokusech se ukázalo, že nejlépe přežívala embrya vynikajících kvalit (tab. III a IV) a z nich zejména VČB a ČB, ale rozdíly mezi nejlepšími a nejhoršími kategoriemi (tab. IV) nebyly tak evidentní, jak udávají např. Elsdén aj. (1980), Shea (1981), Hasler aj. (1987) a další, vzhledem k tomu, že námi použitá intaktní a mírně poškozená embrya přežívala *in vivo* v průměru v 67,5 a 65,44 %, středně poškozená v 57,7 % a embrya se závažnými defekty v 61,7 % případů. Svědčí to o přísnosti selekčních kritérií, kterých v naší laboratoři pro výběr krátkodobě kultivovaných embryí používáme.

Literatura

- BAKER, A. A. — KOBAYASHI, G.: A comparison of the pregnancy rate following non surgical and surgical transfer and visual grading of bovine embryos on farm in south-eastern Queensland. 2. Congr. Intern. Transf. d'embryons chez les mamif. Francie. 1982, 311 s.
- DONALDSON, L. E.: Embryo transfer in cattle. San Antonio, Texas, 1982.
- ELSDÉN, R. P.: Bovine embryo transfer. Soc. Theriogenol. Proc. Amer. Meet., Omaha, Nebraska, 1980, s. 10-12.

- HASLER, J. F. — McCAULEY, A. D. — LATHROP, W. F. — FOOTE, R. H.: Effect of donor-embryo-recipient interactions on pregnancy rate in large-scale bovine embryo transfer program. *Theriogenology*, 27, 1987, s. 139.
- HOLÝ, L. a kol.: Výsledky aplikace nechirurgického transferu embryí u skotu v chovatelské praxi. *Veter. Med. (Praha)*, 32, 1987, č. 11, s. 643-653.
- LINDER, G. M. — WRIGHT, W.: Bovine embryo morphology and ovulation. *Proc. Workshop. IX Anim. Meet. Intern. Embryo Transfer Soc. Fort Collins, Colorado*, 1983.
- LOONEY, C. R. — ODEN, A. J. — MASSEY, J. M. — JOHNSON, C. A. — GODKE, R. A.: Pregnancy rates following HCG administration at the time of transfer in embryo recipients cattle. *Theriogenology*, 21, 1984, č. 1, s. 246.
- LOPATAŘOVÁ, M. — HOLÝ, L.: Kvalita embryí ve vztahu k jejich přežívání *in vitro*. *Veter. Med. (Praha)*, 33, 1988, č. 11 — v tisku.
- MARKETTE, K. L. — SEIDEL, G. E. — ELSDEN, R. P.: Embryonic loss after bovine embryo transfer. *Theriogenology*, 13, 1980, s. 105.
- ŘÍHA, J. — PAVLOK, A. — FULKA, J. — LANDA, V.: Oplodnění vajíček a kvalita embryí při získávání *post mortem*. *Veter. Med. (Praha)*, 29, 1984, č. 9, s. 521-529.
- SEIDEL, G. E.: Superovulation and embryotransfer in cattle. *Theriogenology*, 15, 1981, s. 351.
- SHEA, B. F.: Evaluating the bovine embryo. *Theriogenology*, 15, 1981, s. 31.
- SHEA, B. F. — HINES, D. J. — LIGHTFOOT, D. E. — OLLIS, G. V. — OLSON, S. M.: The transfer of bovine embryos. In: *Egg transfer in cattle*. ROWSON, L. E. A. (ed.) Luxembourg, Commission of the European Communities 1976, 145 s.
- SCHNEIDER, H. J. — CASTLEBERRY, R. S. — GRIFFIN, J. L.: Commercial aspect of bovine embryo transfer. *Theriogenology*, 13, 1980, s. 73.
- SREENAN, J. M. — DISKIN, M. G.: Factors affecting pregnancy rate following embryo transfer in the cow. *Theriogenology*, 27, 1987, s. 99.
- TAKEDA, T. — HALLOWELL, S. V. — McCAULEY, A. P. — HASLER, J. F.: Pregnancy rates with intact and split bovine embryos transferred surgically and non surgically. *Theriogenology*, 25, 1986, s. 204.
- TERVIT, H. R. — COOPER, M. V. — GOOLD, P. G. — HASZARD, G. M.: Non surgical embryotransfer in cattle. *Theriogenology*, 13, 1980, s. 63.

Došlo dne 25. 1. 1988

ГОЛЫ, Л. — ЛОПАТАРЖОВА, М. — КРОНТОРАД, П. (Институт ветеринарии, Брно; Районный ветпункт, Усти н. О.): Качество и стадия развития эмбрионов коров с точки зрения их выживания *in vivo* после ипсилатеральной бескровной пересадки. *Veter. Med. (Praha)*, 33, 1988 (10) : 577-588.

В 1986 и 1987 гг. на 7-й (Д7) после суперовуляционной охоты провели 1761 ипсилатеральную трансплантацию эмбрионов коров в разных категориях развития и качества бескровным путем. На поздние морулы (РМ) приходилось в целом 18,68%, на очень ранние бластоцисты (VCB) 47,42% на ранние (CB) 20,55, на поздние расширенные (PB) 9,48%, на вытнутые и выплывающиеся (KB) 2,10% и на вылупленные бластоцисты (VB) 0,51% эмбрионов. Превосходные эмбрионы представлены в категории РМ — 45,89% VCB — 65,25%, CB — 69,53% и PB — 97,0% случаев. После пересадки превосходных эмбрионов отдельных стадий произошло зачатие после РМ в 66,22%, после VCB в 67,08%, после CB в 71,71%, после PB в 63,58%, после KB в 64,86% и после VB в 88,9% случаев. Слабо, средне и тяжело поврежденные РМ выживали в 58,7, в 57,8 и в 56,6%, а PB в 50,0 и 66,66% случаев. Всего после РМ зачатия составили 62,61%, после VCB 65,96%, после CB 69,25% и после PB 63,47%, после KB 64,86% и после VB 88,9% реципиентов. В зависимости от качества эмбрионов и независимо от стадии развития превосходные эмбрионы выживали в 67,58%, слабоповрежденные в 65,44%, среднеповрежденные в 57,75%

и тяжелоповрежденные в 61,72 % случаев. Из общего количества 1761 пересадки упомянутых эмбрионов зачали 1160, т.е. 65,87 % реципиентов. Высокой выживаемости поврежденных эмбрионов и, следовательно, эффективного эмбриотрансфера можно добиться правильной селекцией в зависимости от характера и развития эмбриомассы в условиях краткосрочной культивации.

эмбриотрансфер; эмбрион; выживание; зачатие

HOLÝ, L. — LOPATÁŘOVÁ, M. — KRONTORÁD, P. (University School of Veterinary Medicine, Brno; District Veterinary Station, Ústí nad Orlicí): *The Quality and Developmental Stage of Bovine Embryos in Relation to their in-vivo Survival after Ipsilateral Non-surgical Transfer*. Veter. Med. (Praha), 33, 1988 (10) : 577-588.

During 1986 and 1987, a total of 1761 ipsilateral transfers of embryos in different developmental stages of bovine and of different quality categories were performed by the non-surgical method the seventh day (D7) after superovulation oestrus. The proportions of the different developmental stages of embryos were as follows: late morula (PM) 18.68 %, very early blastocysts (VČB) 47.72 %, early blastocysts (ČB) 20.55 %, late expanded blastocysts (PB) 9.48 %, contracted and hatching blastocysts (KB) 2.10 %, and hatched blastocysts (VB) 0.51 %. Excellent embryos were represented as follows: 45.89 % in the PM category, 65.25 % in the VČB category, 69.53 % in the ČB category, and 97.0 % in the PB category. The transfer of the excellent embryos of the different categories resulted in the following conception rates: PM 66.22 %, VČB 67.08 %, ČB 71.71 %, PB 63.58 %, KB 64.86 %, VB 88.9 %. Slightly, medium- and heavily affected PM survived at the rates of 58.7 %, 57.8 % and 56.6 %, respectively, and PB survived at the rates of 50.0 % and 66.66 %. On the whole, the conception rates were 62.61 % with PM, 65.96 % with VČB, 69.25 % with ČB, 63.47 % with PB, 64.86 % with KB, and 88.9 % with VB. As for embryo quality irrespective of embryo development stages, the following survival rates were obtained: excellent embryos 67.58 %, slightly damaged embryos 65.44 %, medium-damaged embryos 55.75 %, and heavily damaged embryos 61.72 %. The number of successful conceptions was 1160 out of the total number of non-surgical ipsilateral embryo transfers (65.87 %). A high survival of the damaged embryos, and thereby an increased effect of superovulation and embryonal transfer in general, can be achieved through correct selection according to the nature and development of the conserved embryonal mass under the conditions of short-time cultivation.

embryo transfer; embryo; survival; conception

HOLÝ, L. — LOPATÁŘOVÁ, M. — KRONTORÁD, P. (Veterinärmedizinische Hochschule, Brno; Kreis-Veterinäreinrichtung, Ústí nad Orlicí): *Qualität und Entwicklungsstadien von Rinderembryonen in bezug auf deren Überleben in vivo nach ipsilateralem unblutigen Transfer*. Veter. Med. (Praha), 33, 1988 (10) : 577-588.

In den Jahren 1986 und 1987 führten wir am siebenten Tag (D7) nach Superovulationsbrunst 1761 ipsilateraler Transfers von Rinderembryonen verschiedener Entwicklungs- und Qualitätskategorien auf unblutigem Wege durch. Auf späte Morula (PM) entfielen insgesamt 18,68 %, auf sehr frühe Blastozysten (VČB) 47,72 %, auf frühe Blastozysten (ČB) 20,55 %, auf späte expandierte Blastozysten (PB) 9,48 %, auf kontrahierte und schlüpfende Blastozysten (KB) 2,10 % und auf geschlüpfte Blastozysten (VB) 0,51 % der Embryonen. Hervorragende Embryonen waren in der Kategorie PM in 45,89 %, in VČB in 65,25 %, in ČB in 69,53 % und in PB in 97,0 % der Fälle vertreten. Nach dem Transfer der hervorragenden Embryonen der einzelnen Entwicklungsstadien kam es zur Konzeption nach PM in 66,22 %, nach VČB in 67,08 %, nach ČB in 71,71 %, nach PB in 63,58 %, nach geschädigte PM überlebten in 58,7 %, 57,8 % und 56,6 % und PB in 50,0 % und 66,66 % der Fälle. Insgesamt konzipierten nach PM 62,61 %, nach VČB 65,96 %, nach ČB 69,25 %, nach PB 63,47 %, nach KB 64,86 % und nach VB 88,9 % der Empfängerinnen. Der Qualität der Embryonen nach und ungeachtet des Entwicklungsstadiums überlebten hervorragende Embryonen in 67,58 %, die mäßig geschädigten in 65,44 %, die mittelschwer geschädigten in 57,75 % und die schwer defekten in 61,72 % der Fälle. Von der Gesamtzahl der 1761 nichtchirurgischer ipsilateraler Transfers von

Embryonen unterschiedlicher Qualität und verschiedener Entwicklungsstadien konzipierten 1160, d. h. 65,87 %, der Empfängerinnen. Eine hohe Überlebensrate der geschädigten Embryonen und somit ein erhöhter Effekt der Superovulation und des Embryotransfers im allgemeinen ist durch eine richtige Selektion, dem Charakter und der Entwicklung der gut erhaltenen Embryonalmasse nach, unter Bedingungen einer Kurzzeitkultivierung, zu erzielen.

Embryotransfer; Embryo; Überlebensrate; Konzeption

Adresy autorů:

Prof. MVDr. Luboš Holý, CSc., MVDr. Miloslava Lopatářová, Vysoká škola veterinární, Palackého 1-3, 612 42 Brno
MVDr. Petr Krontorád, Okresní veterinární zařízení, 562 01 Ústí nad Orlicí

DYNAMIKA HLADIN IMUNOGLOBULINŮ V KREVNÍM SÉRU TELAT OD NAROZENÍ DO VĚKU ŠESTI MĚSÍCŮ

P. Jagoš, M. Dostálová, J. Zajac, J. Bouda

JAGOŠ, P. — DOSTÁLOVÁ, M. — ZAJAC, J. — BOUDA, J. (Vysoká škola veterinární, Brno; Bioveta, n. p., Nitra): *Dynamika hladin imunoglobulinů v krevním séru telat od narození do věku šesti měsíců*. Veter. Med. (Praha), 33, 1988 (10) : 589-592.

Dlouhodobým sledováním dynamiky imunoglobulinů Ig a IgG v krevním séru telat jsme zjistili, že výskyt hypogamaglobulinémie dosahuje v našich chovech 70 až 90 %. U skupiny normoglobulinemických telat došlo k maximálnímu poklesu hladin IgG v sedmém týdnu života a k rychlejší syntéze vlastních imunoglobulinů. U hypogamaglobulinemických telat začíná aktivní tvorba imunoglobulinů sice už ve třetím týdnu po narození, ale je pozvolnější, nedosahuje optimálních hodnot ani ve dvacátém týdnu života. Hypogamaglobulinemická telata jsou značně vnímavější k infekcím, a proto by měla zůstat v turnusových provozech do tří měsíců věku.

tele; krevní sérum; hladiny Ig; IgG; ELISA; hypogamaglobulinémie

Zvyšování hladin imunoglobulinů (Ig) v krevním séru telat má rozhodující význam pro posouzení jejich imunitního stavu a obranyschopnosti organismu. Optimální hladiny Ig jsou významným ukazatelem zdravotního stavu i předpokladu dalšího vývoje a jejich znalost je nezastupitelná při řešení nemocnosti a ztrát telat ve velkochovech. Tele se rodí s fyziologickou agamaglobulinémií, protože prostup imunoglobulinů z krve mateřského organismu do plodu je blokován placentární bariérou. Optimální hladiny imunoglobulinů v krvi telat lze dosáhnout především tím, že tele včas přijme dostatečné množství kvalitního mleziva. Vysoká absorpce kolostrálních imunoglobulinů z prvních nádojů po porodu je daná přítomností kolostrálního inhibitoru trypsinu, který inhibuje trypsin v duodenu, a tímto mechanismem jsou kolostrální imunoglobuliny chráněny před proteolýzou [Pineiro aj., 1978]. Prostupnost střeva telete pro imunoglobuliny je omezena na 24 až 36 hodin *post partum*. Bylo zjištěno, že absorpce kolostrálních imunoglobulinů je největší po vypití kolostra v prvních čtyřech hodinách po porodu. Imunoglobuliny se objevují v krvi novorozeného telete již za 60 až 120 minut po vypití mleziva [Kaackenbeek aj., 1961; Aikens, 1976], jejich maximální hladiny se zjišťují za 24 až 48 hodin po narození.

Z hlediska odolnosti a aktivní imunizace má značný význam další osud kolostrálních imunoglobulinů v krvi telat. Jejich hladiny klesají na minimum druhý až pátý týden po narození [Logan aj., 1973]. Slanina aj. (1978) zjišťovali nejnížší hladiny imunoglobulinů v krevním séru telat ve věku čtyř až pěti týdnů, kdy průměrná hladina imunoglobulinů byla 11,8 j., zatímco v prvních dnech po porodu činila 15,4 j.

V současné době se v praxi setkáváme s častým a velmi vysokým výskytem hypogamaglobulinémie, resp. agamaglobulinémie. Podle našich

průzkumů realizovaných v posledních dvou letech se tyto stavy vyskytují u 70 až 90 % telat. Jejich příčinou je především pozdní podání dostatečného množství kvalitního kolostra.

V této práci jsme se proto zaměřili na sledování zdravotního stavu telat ve vztahu k dynamice hladin kolostrálních protilátek v krevním séru telat a na stanovení iniciálního bodu aktivní tvorby imunoglobulinů třídy G.

MATERIÁL A METODA

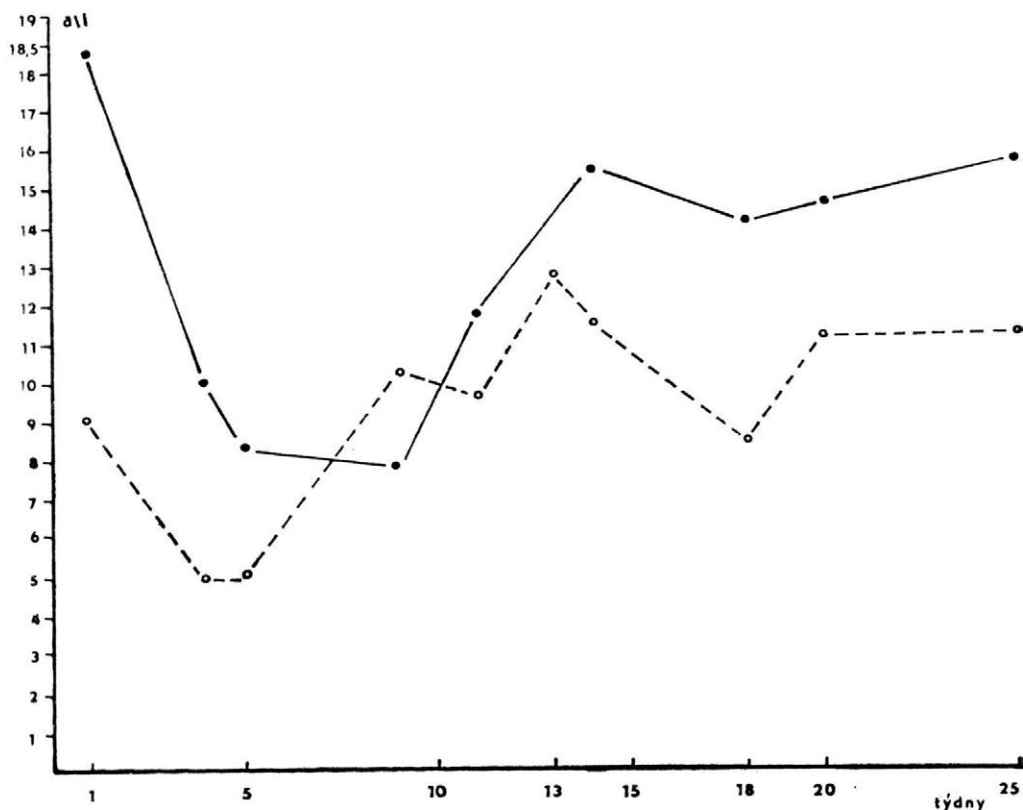
Pro stanovení Ig v krevním séru se nejčastěji používá rychlé, jednoduché zinksulfátové turbidimetrické metody, popřípadě radiální imunodifúzní metody v agarovém gelu ke stanovení jednotlivých tříd Ig podle Manciniové (1965). Vzhledem k tomu, že moderní veterinární diagnostika se stále více orientuje na metody ELISA, přistoupili jsme i na našem pracovišti k vypracování a ověření této metody při stanovení IgG. Hladiny IgG stanovené v krevním séru telat testem ELISA jsme srovnávali s hladinami IgG určenými radiální imunodifúzí s Ig stanovenými zinksulfátovou metodou.

Nejdříve byly v krevním séru 50 telat dva dny starých stanoveny zinksulfátovou metodou hladiny Ig. Na základě tohoto vyšetření jsme vytvořili skupinu normoglobulinemických ($n = 9$) a hypogamaglobulinemických ($n = 11$) telat. U takto vybraných dvoudenních telat byly metodami ELISA a radiální imunodifúzí stanoveny IgG. Hladiny protilátek pak byly stejnými metodami pravidelně v týdenních intervalech sledovány do věku čtyř měsíců a pak ještě v pěti a šesti měsících věku telat. Zoohygienické podmínky v profylaktoriu byly dobré, ve VKT — a to v pavilónech jak mléčné, tak rostlinné výživy — byly nevyhovující, navíc zde byly nedostatky ve výživě.

VÝSLEDKY A DISKUSE

Zjistili jsme, že u obou skupin telat bylo dosaženo nejvyšších hladin IgG a Ig za 48 hodin po porodu. U telat starších než týden jsme zaznamenali pokles Ig, IgG v důsledku katabolismu kolostrálních protilátek. Nejnížší hladiny IgG a Ig, jak je vidět z obr. 1, byly zjištěny u skupiny hypogamaglobulinemických (HG) telat již ve třetím týdnu, zatímco u normoglobulinemických telat (NG) až v sedmém týdnu po narození. Z dynamiky sledovaných hladin IgG, Ig vyplývá, že hladina imunoglobulinů v krvi telat musí pravděpodobně nejdříve klesnout na určitou spodní hranici, v našem případě u první HG skupiny na 4,8 mg IgG na mililitr, u druhé NG skupiny na 6,2 mg $\cdot$ ml⁻¹, aby mohla — jako následek tohoto impulsu — nastoupit aktivní tvorba protilátek. U hypogamaglobulinemických telat v důsledku počátečních nízkých hladin Ig bylo dosaženo této spodní hranice podstatně dříve, a tedy také syntéza vlastních imunoglobulinů nastala dříve. U druhé skupiny (NG) telat nastoupila aktivní tvorba Ig později, ale s větší intenzitou. Optimální (referenční) hladiny Ig dosáhla NG skupina v rozmezí 12 až 13 týdnů, maxima ve věku 14 týdnů, zatímco HG skupina telat optimální hodnoty Ig vůbec nedosáhla. Křivka hladin IgG u HG skupiny telat vykazovala dvouvrcholový průběh, přičemž první vrchol byl zjištěn už ve čtvrtém týdnu, byl však nižší než vrchol druhý ve 13. týdnu.

Ve věku 18 týdnů bylo přibližně 80 % telat postiženo bronchopneumonií. V důsledku onemocnění se výrazně snížily přírůstky hmotnosti a ve skupině hypogamaglobulinemických telat musela být tři zvířata nutně porážena. Ve skupině normogamaglobulinemických telat k nutným porážkám na bronchopneumonii nedošlo.



1. Dynamika hladin IgG v krevním séru telat — Changes in IgG concentrations in the blood serum of calves

● — — — ● normoglobulinemická telata ○ — — — ○ hypoglobulinemická telata

Z vývoje hladin Ig a IgG v krevním séru telat je patrné, že nejvyšší hladiny byly zjištěny za 24 až 48 hodin po vypití první dávky mleziva. Později se snižovaly, protože biologický poločas u IgG, které tvoří z celkových Ig téměř 90 %, je přibližně 15 až 20 dní. Z uvedených důvodů je nutné při posuzování úrovně kolostrální imunity u telat odebírat krev pro stanovení Ig u telat ve věku dva až šest dnů, neboť později dochází k významnému poklesu. Hodnoty IgG stanovené v krevním séru telat metodou ELISA velmi dobře korelovaly s hodnotami IgG určenými jednoduchou radiální imunodifúzí na agaru. Pozitivní korelace byla zjištěna i mezi hladinami IgG a celkovými Ig určenými turbidimetrickou Zn-sulfátovou metodou.

Nejnižší hladiny Ig, resp. IgG v krvi normoglobulinemických (NG) telat byly zjištěny ve věku sedm týdnů, u hypoglobulinemických (HG) dříve. Ve většině našich chovů, ve kterých se v období kolostrální výživy vyskytují hypoglobulinemie u více než 50 % telat, zjišťujeme zpravidla nižší hladiny Ig ve věku tři až šest týdnů. Snížené hodnoty Ig obvykle přetrvávají až do věku osm týdnů i déle. Tento pokles hladin Ig je většinou provázen sníženou odolností telat, protože kolostrální imunita je významně snížena a aktivní tvorba protilátek dosud nedosáhla potřebné úrovně. Z těchto důvodů by telata neměla být ani při časném (v šesti týdnech), ani při zkráceném odstavu (v osmi týdnech)

přesouvána z turnusového provozu do jiných objektů. Při přesunu telat do kontinuálního provozu před dosažením deseti týdnů věku se zvyšuje výskyt respiračních onemocnění. Z našich výsledků rovněž vyplývá, že normoglobulinemická telata podstatně lépe překonávají respirační onemocnění a také antibiotická léčba je u nich významně efektivnější než u telat hypogamaglobulinemických.

Literatura

- AEIKENS, T.: Untersuchungen über den Gamaglobulingehalt im Blutserum neugeborener Kälber in den ersten drei Lebenstagen während der Monate Dezember bis April. [Inaug. Dis.] Hannover 1976. 46 s. — Tierärztliche Hochschule.
- KAECKENBEECK, A. — COLINET, G. — SCHOENAERS, F.: Alimentation et production d'anticorps ciliobacillaires chez le veau. Ann. Méd. vétér., 105, 1961, s. 254-257.
- LOGAN, E. F. — PENHALE, W. J. — JONES, A. A.: Changes in the serum immunoglobulin levels of colostrum fed calves the first 12 weeks postpartum. Res. veter. Sci., 14, 1973, s. 394-396.
- PINEIRO, A. — BROCK, J. H. — ESPARZA, L.: Isolation and properties of bovine colostrum trypsin inhibitor. Ann. Rech. vétér., 9, 1978, s. 281-286.
- SLANINA, L. — VAJDA, V. — LEHOCKÝ, J. — SOKOL, J.: Metabolický profil u dojnic a teliat — systém hodnocení a vzájemné vztahy. Veterináriství, 28, 1978, s. 163-166.

Došlo dne 2. 3. 1988

ЯГОШ, П. — ДОСТАЛОВА, М. — ЗАЯЦ, Я. — БОУДА, Я. (Ветеринарный институт, Брно; Бювета, н. п., Нитра): Динамика уровней иммуноглобулинов в кровяном сыворотке телят от рождения до возраста шести месяцев. Veter. Med. (Praha), 23, 1988 (11): 589-592.

Долгосрочным изучением динамики иммуноглобулинов Ig и IgG в кровяном сыворотке телят установили, что появление гипогаммаглобулинемии в наших разведениях достигает 70—90 %. У группы нормоглобулинемических телят получилось максимальное понижение уровней IgG на седьмую неделю жизни и более быстрый синтез собственных иммуноглобулинов. У гипогаммаглобулинемических телят начинается активный синтез иммуноглобулинов уже на третью неделю после рождения, но довольно медленнейший, не достигая оптимальных значений даже на двадцатую неделю жизни. Гипогаммаглобулинемические телята на много более чувствительные к инфекциям, и поэтому бы следовало их оставлять в телячьих разведениях до трех месяцев возраста.

теленки; кровяная сыворотка; уровни Ig; IgG; ELISA; гипогаммаглобулинемия

JAGOŠ, P. — DOSTÁLOVÁ, M. — ZAJAC, J. — BOUDA, J. (University of Veterinary Medicine, Brno; Bioveta, National Corporation, Nitra): *Changes in Immunoglobulin Concentrations in the Blood Serum of Calves from Birth to the Age of Six Months*. Veter. Med. (Praha), 33, 1988 (10): 589-592.

The changes in immunoglobulin (Ig and IgG) concentrations were studied in the blood serum of calves. Hypogammaglobulinaemia was found to occur at the rate of 70 to 90 % in the calf stocks in Czechoslovakia. In the group of normoglobulinaemic calves, the maximum decline of IgG concentrations occurred in the seventh week of life; an increase in the rate of synthesis of the true immunoglobulins was recorded at the same time. In the hypogammaglobulinaemic calves the active formation of immunoglobulins starts already in the third week after birth but it is slow, and remains below the optimum even in the twentieth week of age. The hypogammaglobulinaemic calves are very susceptible to infections, so they should be left in the stocks with the all-in all-out system until they are three months old.

calf; blood serum; Ig concentrations, IgG; ELISA; hypogammaglobulinaemia

Adresy autorů:

Prof. MVDr. Přemysl Jagoš, CSc., MVDr. Margita Dostálová, doc. MVDr. Jan Bouda, DrSc., Vysoká škola veterinární, Palackého 1-3, 612 42 Brno
MVDr. Ján Zajac, Bioveta, n. p., 949 01 Nitra

IMUNITNÍ ODPOVĚĎ BOVINNÍCH FĚTŮ NA INTRAUTERINNÍ IMUNIZACI ROTAVIREM

M. Toman, Z. Zralý, J. Franz, J. Čanderle, J. Štěpánek

TOMAN, M. — ZRALÝ, Z. — FRANZ, J. — ČANDERLE, J. — ŠTĚPÁNEK, J. (Výzkumný ústav veterinárního lékařství, Brno): *Imunitní odpověď bovinních fětů na intrauterinní imunizaci rotavirem*. Veter. Med. (Praha), 33, 1988 (10) : 593-598.

Dvěma metodami aplikace viru do amniové tekutiny jsme imunizovali fěty skotu rotavirem v poslední čtvrtině gravidity. Po intrauterinní imunizaci jsme zaznamenali časnější nástup porodu, a pokud byly fěty imunizovány po 250. dnu gravidity, rodila se telata mrtvá nebo málo životná. Telata imunizovaná více než 45 dní před předpokládaným porodem se rodila zdravá, životaschopná. U telat narozených za 9 až 14 dní po imunizaci jsme prokazovali rotavirový antigen v trusu. Telata imunizovaná v intervalu delším než 14 dní před porodem se rodila s hladinou specifických protilátek v trusu a séru.

bovinní fétus; intrauterinní imunizace; rotavirus; imunitní odpověď

Již v prvních letech po objevení virové etiologie novorozeneckých průjmů se někteří pracovníci pokoušeli navodit aktivní imunitu vakcinací novorozených telat. Mebus aj. (1973) vakcinovali telata do 24 hodin po narození živým atenuovaným rotavirem a zjišťovali v experimentálních podmínkách nástup imunity od druhého do čtvrtého dne, ale v terénních podmínkách byly výsledky vakcinace různé (Twehhaus aj., 1975; Blackmer, 1976). Woode aj. (1978) po vakcinaci gnotobiotických telat živým atenuovaným kmenem rotaviru prokazovali imunitu za 7 až 21 dní, kdy telata čelenzovali virulentním kmenem, zatímco telata čelenzovaná za tři až pět dní po vakcinaci chráněna nebyla.

Možnost prodloužit interval mezi vakcinací a infekcí a odstranit inhibiční účinek kolostra skýtá metoda intrauterinní imunizace fětů v posledním období jejich vývoje. Conner s kolektivem pracovníků (Conner aj., 1973; Wamukoya a Conner, 1976) a také Olson a Waxler (1976, 1977) na modelu antigenu *E. coli* prokázali, že ovčí a bovinní fétus odpovídá v poslední čtvrtině intrauterinního vývoje na perorálně podaný antigen tvorbou protilátek s následnou odolností po narození. Redman aj. (1978) navodili tvorbu protilátek a odolnost proti viru TGE u selat infekcí živým virem ve fetálním období. Odolnost po intrauterinní imunizaci bovinních fětů rotavirem popsali Wyatt aj. (1979). Vzhledem k pracnosti a náročnosti zůstává doposud metoda intrauterinní imunizace na úrovni experimentálních studií.

Účelem naší práce bylo ověřit metodu intrauterinní imunizace bovinních fětů a její vliv na imunitní odezvu ve stěvě.

MATERIÁL A METODY

VIRY

K imunizaci bovinních fétů jsme použili rotavirus izolovaný z trusu nemocných telat v buněčných kulturách telecích ledvin, uložený ve Sbirce zoopatogenních mikroorganismů pod číslem CAPM-V-279, s titrem 10^{-5} TKID₅₀. Virus jsme aplikovali živý, nebo jsme jej před imunizací inaktivovali 0,05% betapropiolaktonem jednu hodinu při teplotě 37 °C.

POKUSNÁ ZVÍŘATA

Do pokusů s intrauterinní imunizací jsme zařadili 14 vysokobřezích krav černostrakatého nížinného plemene, jejichž plody jsme imunizovali rotavirem do amniové tekutiny. Po imunizaci jsme krávy drželi pět dní pod antibiotickou clonou. Po porodu jsme novorozená telata přemístili do samostatné izolační stáje a po běžném ošetření jsme jim aplikovali i. p. 50 ml hovězího IgM a i. m. Celaskon, Axetocal a Penstrepren. Telata jsme drželi pod antibiotickou clonou tři dny.

INTRAUTERINNÍ IMUNIZACE

K imunizaci jsme použili dvě metody amniocentézy: nekrvavou cestou přes stěnu břišní nebo po laparotomii vpichem přes děložní stěnu. Zákroky jsme dělali na stojících zvířatech v lokální, resp. svodně paravertebrální anestezii 2% prokainem po předchozí premedikaci 1,5 ml 2% xylazinu (Rompun).

K transabdominální amniocentéze jsme využili metody, kterou popsali Olson a Waxler (1976). Vpich přes stěnu břišní jsme vedli 10 až 15 cm pod pravou předkolenní řasou, 5 až 8 cm před předním okrajem mléčné žlázy. K aplikaci jsme použili 15 až 25 cm dlouhou jehlu, po kontaktu s plodem jsme injekční stříkačkou aspirovali amniovou tekutinu a pak aplikovali virovou suspenzi.

Při laparotomii jsme řez vedli z levé strany v kaudální třetině břišní krajiny před *tuber coxae* směrem kranioventrálním. Po vypalování těla plodu jsme zavedli přes stěnu dělohy injekční jehlu s nasazenou PVC hadičkou a po kontrolní aspiraci amniové tekutiny aplikovali virovou suspenzi.

Fétů jsme imunizovali 20 ml tkáňové suspenze živého nebo inaktivovaného rotaviru s výchozím titrem 10^3 TKID₅₀ v 0,1 ml podle imunizačního schématu uvedeného v tab. I.

ENZYMOIMUNOANALÝZA (ELISA)

Rotavirový antigen, imunní komplexy rotavirus — protilátka a antirotavirové protilátky jsme prokazovali v trusu a protilátky i v séru novorozených telat testem ELISA v mikrometodě podrobně popsané v jiném našem sdělení (Tomana j., 1988).

VÝSLEDKY

PRŮBĚH GRAVIDITY PO INTRAUTERINNÍ IMUNIZACI

Po intrauterinní imunizaci při použití obou metod aplikace antigenu jsme pozorovali časnější nástup porodu (tab. I), porody samy však byly ztížené a měly protrahovaný průběh. Průměrná doba gravidity u krav, jejichž plody byly imunizovány transabdominální cestou, byla 276,4 dne, u krav po laparotomii 263,5 dne. Doba gravidity byla zkrácená i u krav, jejichž plodům byl aplikován transabdominální cestou do amnia fyziologický roztok (259,3 dne). Zvlášť výrazný vliv na průběh gravidity měla imunizace po 250. dnu gravidity, kdy se do 14 dnů rodila mrtvá nebo málo životaschopná telata (tři telata po transabdominální aplikaci, jedno tele po imunizaci v laparotomii).

I. Schéma intrauterinní imunizace bovinních fétů rotavirem — A diagram of the intrauterine rotavirus immunization of bovine foetuses

Kráva číslo	Imunizace		Délka gravidity (dny)			Životnost telat	
	metoda	virus	v době imunizace	od imunizace do porodu	celkem	tele č.	narozeno (dny přežití)
K7	transabdominálně	Rota živý	259	14	273	T7	mrtvé
K2		Rota inakt.	271	9	280	T2	mrtvé
K3		Rota inakt.	258	19	277	T3	živé (+)
						T3a	mrtvé
K4		Rota inakt.	258	24	282	T4	živé (6)
K6		Rota inakt.	257	14	271	T6	živé (3)
K14		PBS	238	12	250	T14	živé (+)
K15		PBS	254	10	264	T15	živé (+)
K16		PBS	238	27	265	T16	živé (+)
K5	po laparotomii	Rota živý	253	9	262	T5	živé (1)
K8		Rota živý	245	36	281	T8	živé (+)
K11		Rota živý	228	37	265	T11	živé (+)
K10		Rota inakt.	234	43	277	T10	živé (+)
K13		Rota inakt.	235	15	250	T13	živé (+)
K12		Rota inakt.	237	9	246	T12	živé (1)

Vysvětlivky: Rota živý = tkáňová suspenze atenuovaného rotaviru, Rota inakt. = týž virus inaktivovaný betapropiolaktonem, T3, T3a = dvojčata, (+) = telata přeživala po celou dobu pokusu

Telata imunizovaná alespoň 45 dnů před předpokládaným porodem se rodila zdravá, životaschopná.

IMUNITNÍ ODPOVĚĎ PO INTRAUTERINNÍ IMUNIZACI

Po narození jsme v trusu telat imunizovaných živým i inaktivovaným rotavirem prokázali rotavirový antigen, pokud se telata narodila za 6 až 14 dnů od imunizace. U telat narozených v intervalu delším než 14 dnů od imunizace jsme rotavirový antigen neprokázali, zjišťovali jsme však nízké hladiny antivirových protilátek a tato hladina se s prodlužující se délkou intervalu mírně zvyšovala (tab. II). Mezi odpověďmi telat imunizovaných *in utero* živým nebo inaktivovaným virem nebyl významný rozdíl.

DISKUSE

Jedním z dílčích úkolů naší práce bylo vypracovat metodu intrauterinní imunizace. Transabdominální amniocentéza se ukázala jako technicky poměrně jednoduchý zákrok, takže většinou již po prvním vpichu bylo dosaženo amnia. V mnoha případech se však po tomto způ-

II. Výskyt rotavirů, imunních komplexů a protilátek u intrauterinně imunizovaných telat první den po narození — The occurrence of rotaviruses, immune complexes and antibodies determined the first day after birth in calves which underwent intrauterine immunization as embryos

Číslo tele	Imunizace		Narozeno	Trus			Sérum
	virus	dnů před narozením		rota- virus	imunní komplexy	proti- látky	proti- látky
T2	Rota inakt.	9	mrtvé	4	0	0	0
T6	Rota inakt.	14	živé	8	0	0	0
T13	Rota inakt.	15	živé	0	0	18	36
T3a	Rota inakt.	19	mrtvé	0	0	0	4
T3	Rota inakt.	19	živé	4	4	12	8
T4	Rota inakt.	24	živé	0	—	0	0
T10	Rota inakt.	43	živé	0	—	4	108
T5	Rota živý	9	živé	32	0	0	0
T12	Rota živý	9	živé	16	0	0	0
T7	Rota živý	14	mrtvé	16	0	4	0
T8	Rota živý	36	živé	0	0	12	—
T11	Rota živý	37	živé	0	0	18	270

Vysvětlivky: Rota živý = tkáňová suspenze atenuovaného rotaviru, Rota inakt. = tvz virus inaktivovaný betapropiolaktonem. Hodnoty uvedeny jako titry v testu ELISA, 0 = negativní, — = netestováno

sobu imunizace rodila mrtvá nebo málo životaschopná telata. Nízká životnost telat i zkrácená gravidita a prolongovaný průběh porodu nasvědčují domněnce, že při metodě transabdominální amniocentézy mohou být zasaženy větší cévy allantochoria nebo karunkulů, což spolu s podrážděním děložní svaloviny a působením virů navodí předčasný porod. Virus je v tomto případě jen jedním z působících faktorů, protože zkrácení gravidity jsme pozorovali i u krav, jejichž plodům jsme po transabdominální amniocentéze aplikovali fyziologický roztok. Jiní autoři, kteří intrauterinně imunizovali bovinní fety transabdominálně (Olsson a Waxler, 1976; Wamukoya a Conner, 1976, podobné komplikace nepopisují. Je pravděpodobné, že přežívání plodů a novorozených telat by se zvýšilo, kdyby se prodloužil interval od imunizace do porodu. Pokud jsme totiž plody imunizovali alespoň šest týdnů před předpokládaným porodem (většinou však metodou po laparotomii), interval do porodu se sice také zkrátil, ale telata se rodila zdravá, životaschopná. Za současného stavu znalostí není možné doporučit metodu transabdominální aplikace antigenu do amniové tekutiny pro širší terénní pokusy.

Aplikace viru do amniové tekutiny navodila specifickou imunitní odezvu fětů. Virus se po imunizaci dostal z amniové tekutiny do zažívacího ústrojí fětů a zde přetrvával delší dobu, takže byl prokázán v trusu telat narozených za 9 až 14 dnů po imunizaci. U telat v delším časovém intervalu od imunizace jsme virový antigen v trusu nezjistili, prokazovali jsme však lokální i celkové protilátky. Podobné výsledky jsme

získali po aplikaci živého i inaktivovaného viru. Tato fakta jsou v souladu s obecně přijatým názorem o plné imunokompetenci savčích plodů v poslední třetině gravidity, ale u lokálních virových infekcí byla tato problematika studována jen v menší míře. Redman aj. (1978) prokazovali u prasečích fétů za 15 dní po infekci virem TGE atrofii klků. Selata se rodila odolná proti čelenži homologním virem a měla specifické protilátky v séru. Wyatt aj. (1983) prokazovali u telat infikovaných *in utero* bovinním rotavirem po narození v séru protilátky, které měly neutralizační účinek jak na homologní virus, tak i na heterologní humánní rotavirus. V našem pokuse jsme prokazovali výskyt lokálních i celkových protilátek. Přesto, že tato hladina byla relativně nízká, zvířata byla imunní k rotaviru, což jsme prokázali následnou čelenží (Tomán aj., 1988). Nízké hladiny byly zřejmě podmíněny i způsobem detekce protilátek z trusu. V dalších pokusech by bylo vhodné imunoglobuliny z trusu izolovat a koncentrovat, popřípadě prokazovat jednotlivé izotypové třídy antirotavirových protilátek.

Literatura

- BLACKMER, P. E.: A practitioner's experience with experimental reo-coronavirus calf diarrhea vaccine. *Veter. Med. small anim. Clin.*, **71**, 1976, s. 351-354.
- CONNER, G. H. — RICHARDSON, M. — CARTER, G. R.: Prenatal immunization and protection of the newborn: Ovine and bovine fetuses vaccinated with *Escherichia coli* antigen by the oral route and exposed to challenge inoculum at birth. *Amer. J. veter. Res.*, **34**, 1973, s. 737-741.
- MEBUS, C. A. — WHITE, R. C. — BASS, E. P. — TWIEHAUS, M. J.: Immunity to neonatal calf diarrhea virus. *J. Amer. veter. med. Assoc.*, **163**, 1973, s. 880-883.
- OLSON, D. P. — WAXLER, G. L.: Immune responses of the bovine fetus and neonate to *Escherichia coli*: Quantitation and qualification of the humoral immune response. *Amer. J. veter. Res.*, **37**, 1976, s. 639-647.
- OLSON, D. P. — WAXLER, G. L.: Immune responses to the bovine fetus and neonate to *Escherichia coli*: Plaque-forming and intestinal immune responses. *Amer. J. veter. Res.*, **38**, 1977, s. 1177-1181.
- REDMAN, D. R. — BOHL, E. H. — CROSS, R. F.: Intrafetal inoculation of swine with transmissible gastroenteritis virus. *Amer. J. veter. Res.*, **39**, 1978, s. 907-911.
- TOMAN, M. — FRANZ, J. — ZRALÝ, Z. — ŠTĚPÁNEK, J.: Odolnost a lokální imunitní odpověď intrauterinně imunizovaných a neimunizovaných telat na infekci rotavirem. *Veter. Med. (Praha)*, **33**, 1988, s. 537-544.
- TWIEHAUS, M. J. — MEBUS, C. A. — BASS, E. P.: Survey of the field efficacy of reoviral diarrhea vaccine. *Veter. Med. small anim. Clin.*, **70**, 1975, s. 23.
- WAMUKOYA, J. P. O. — CONNER, G. H.: Local immune response in the bovine fetus vaccinated *in utero* with *Escherichia coli* antigen. *Amer. J. veter. Res.*, **37**, 1976, s. 159-163.
- WOODE, G. N. — BEW, M. E. — DENNIS, M. J.: Studies on cross protection induced in calves by rotaviruses of calves, children and foals. *Veter. Rec.*, **103**, 1978, s. 32-34.
- WYATT, R. G. — KAPIKIAN, A. Z. — MEBUS, C. A.: Induction of cross-reactive serum neutralizing antibody to human rotavirus in calves after *in utero* administration of bovine rotavirus. *J. clin. Microbiol.*, **18**, 1983, s. 505-508.
- WYATT, R. G. — MEBUS, C. A. — YOLKEN, R. H. — KALICA, A. R. — JAMES, H. D. Jr. — KAPIKIAN, A. Z. — CHANOCK, R. M.: Rotaviral immunity in gnotobiotic calves: heterologous resistance in human virus induced by bovine virus. *Science*, **203**, 1979, s. 548-550.

Došlo dne 17. 4. 1987

ТОМАН, М. — ЗРАЛЫ, З. — ФРАНЦ, Я. — ЧАНДЕРЛЕ, Й. — ШТЕПАНЕК, Я. (Научно-исследовательский институт ветеринарии, Брно): Иммунитетная реакция бовинных плодов на внутриматочную иммунизацию ротавирусом. *Veter. Med. (Praha)*, 33, 1988 (10) : 593-598.

С помощью двух методов введения вируса в амниотическую жидкость иммунизировали плоды коров ротавирусом в последнюю четверть беременности. После внутриматочной иммунизации отмечено более раннее начало отела, а когда плод иммунизировали после 250 дней беременности, то телята рождались мертвыми или со слабой жизнеспособностью. Телята, иммунизированные за 45 дней до рождения, приходили на свет здоровыми и жизнеспособными. У рожденных через 9—14 дней после иммунизации телят обнаружен ротавирусный антиген в навозе. Телята, иммунизированные дольше, чем за 14 дней до родов, обладали при рождении специф. антителом в навозе и сыворотке.

плод коров; внутриматочная иммунизация; ротавирус; иммунитетная реакция

TOMAN, M. — ZRALÝ, Z. — FRANZ, J. — ČANDERLE, J. — ŠTĚPÁNEK, J. (Veterinary Research Institute, Brno): *Immune Response of Bovine Foetuses to Intrauterine Immunization with Rotavirus*. *Veter. Med. (Praha)*, 33, 1988 (10) : 593-598.

Bovine foetuses were immunized in the last quarter of gravidity by two methods of the introduction of the rotavirus in the amnion fluid. The parturition started earlier after intrauterine immunization, and if the foetuses had been immunized after the 250th day of gravidity the calves were either born dead or their viability was poor. Calves immunized more than 45 days before the expected parturition were born healthy and viable. Calves born 9 to 14 days after immunization had rotavirus antigen in their faeces. Calves immunized within an interval longer than 14 days before parturition had specific antibodies in their faeces and blood serum.

bovine foetus; intrauterine immunization; rotavirus; immune response

TOMAN, M. — ZRALÝ, Z. — FRANZ, J. — ČANDERLE, J. — ŠTĚPÁNEK, J. (Forschungsinstitut für Veterinärmedizin, Brno): *Immunreaktion von Rinderfeten auf intrauterine Immunisierung durch Rotavirus*. *Veter. Med. (Praha)*, 33, 1988 (10) : 593-598.

Mit Hilfe zweier Methoden der Virusapplikation in die Amnionflüssigkeit immunisierten wir Rinderfeten durch Rotaviren im letzten Graviditätsviertel. Nach der intrauterinen Immunisierung verzeichneten wir ein früheres Einsetzen der Geburt und falls die Feten nach dem 250. Graviditätstag immunisiert wurden, wurden tote oder wenig lebensfähige Kälber geboren. Die mehr als 45 Tage vor dem vorausgesetzten Geburtstermin immunisierten Kälber kamen gesund und lebenskräftig zur Welt. Bei den in 9 bis 14 Tagen nach der Immunisierung geborenen Kälbern konnten wir das Rotavirus-Antigen im Kot nachweisen. Die in einem Intervall von mehr als 14 Tagen vor der Geburt immunisierten Kälber wiesen zum Zeitpunkt der Geburt ein Niveau spezifischer Antikörper im Kot und im Serum auf.

Rinderfetus; intrauterine Immunisierung; Rotavirus; Immunreaktion

Adresa autorů:

MVDr. Miroslav Toman, CSc., MVDr. Zdeněk Zralý, CSc., RNDr. Jaroslav Franz, CSc., MVDr. Jiří Čanderle, CSc., MVDr. Jan Štěpánek, CSc., Výzkumný ústav veterinárního lékařství, Hudcova 70, 621 32 Brno

VLIV ZKRMOVÁNÍ SLÁMY OŠETŘENÉ LOUHEM SODNÝM BYKŮM VE VÝKRMU NA METABOLICKÝ PROFIL BACHOROVÉ TEKUTINY, ZDRAVÍ A PŘÍRŮSTKY HMOTNOSTI

R. Dvořák, P. Jagoš, J. Jízdny, J. Přikrylová, M. Hradilová

DVOŘÁK, R. — JAGOŠ, P. — JÍZDNÝ, J. — PŘIKRYLOVÁ, J. — HRADILOVÁ, M. (Vysoká škola veterinární, Brno; Zemědělská oblastní laboratoř, Třebíč): *Vliv zkrmování slámy ošetřené louhem sodným bykům ve výkrmu na metabolický profil bachorové tekutiny, zdraví a přírůstky hmotnosti*. Veter. Med. (Praha), 33, 1988 (10) : 599-606.

U byků ve výkrmu jsme studovali vliv zkrmování slámy ošetřené louhem sodným na zdraví, růst a metabolický profil bachorové tekutiny. Do experimentu bylo zařazeno 16 zvířat, která byla rozdělena na pokusnou a kontrolní skupinu ($n = 8$ ks). Pokusné skupině byla po dobu jednoho roku zkrmována louhovaná sláma, kontrolní skupina dostávala obvyklé krmivo. U zvířat byly sledovány vybrané ukazatele metabolického profilu bachorové tekutiny, přírůstky hmotnosti a orientačně zdravotní stav. Zkrmování louhované slámy nemělo po dobu experimentu negativní dopad na zdraví zvířat. V metabolickém profilu bachorové tekutiny byly zjištěny mírné výkyvy a v jednotlivých případech signifikantní rozdíly hodnot pH, celkové acidity a amoniaku i u celkového množství a v zastoupení jednotlivých těkavých mastných kyselin. Při zkrmování louhované slámy bylo dosaženo vyššího, ne však signifikantního přírůstku hmotnosti o 2,04 %. Lze konstatovat, že zkrmování louhované slámy zvyšuje přírůstky hmotnosti a nemá negativní vliv na metabolické procesy v předžaludcích ani na zdraví zvířat. Technologii úpravy slámy ošetřením louhem sodným lze doporučit k širšímu použití.

louh sodný; metabolický profil; bachorová tekutina; přírůstky hmotnosti

V posledních letech je značná pozornost u nás i v zahraničí věnována zvyšování stravitelnosti a výživné hodnoty slámy s cílem rozšířit její využití ke krmným účelům pro přežvýkavce. K její úpravě byly vyvinuty různé mechanické, fyzikálně chemické a biologické postupy. Sláma obilovin má značnou potenciální hodnotu, ale pro vysoký podíl inkrustujících látek, zejména ligninu, je obsah její energie zvířaty obtížně využitelný (Piatkowski aj., 1972; Flachovský, 1979). Pokud by se podařilo většinu energie obsažené ve slámě uvolnit, mohla by nabýt charakteru téměř jaderného krmiva (Kosař aj., 1974). Pro fyzikální, chemickou a biotechnologickou úpravu lze využít slámu všech druhů obilovin. Za optimální délku slámy upravené ke krmným účelům se považuje 5 cm. Z hlediska vytvoření vhodné fyzikální struktury v zažitém bachoru by částice neměly být kratší než 2 cm. Látky používané k úpravě stravitelnosti by neměly narušovat metabolické procesy v organismu. Vzhledem k tomu, že se použití louhu sodného k úpravě krmné slámy považuje za perspektivní, přistoupili jsme k experimentálnímu ověření vlivu dlouhodobého zkrmování slámy ošetřené louhem sodným bykům ve výkrmu na celkový zdravotní stav a na metabolické procesy v bachoru.

MATERIÁL A METODY

V průběhu jednoho roku jsme sledovali vliv dlouhodobého zkrmování slámy ošetřené louhem sodným na metabolický profil bachorové tekutiny, vybrané ukazatele vnitřního prostředí a hmotnostní přírůstky býků ve výkrmu. Do pokusu bylo zařazeno 16 býků, kříženců plemen české strakaté a ayrshirské, s počáteční hmotností 190 až 225 kg. Zvířata byla rozdělena systémem analogů na pokusnou a kontrolní skupinu po osmi kusech. Pro obě skupiny byla sestavena energeticky srovnatelná krmná dávka podle ČSN 46 7070. K výpočtu obsahu živin v krmných dávkách byly použity laboratorní rozborů krmiv. U základních krmných dávek bylo připočteno 10 % potřeby na ztráty při krmení. Výživná hodnota krmných dávek je uvedena v tab. I.

Technologie louhování krmné slámy byla provedena podle tohoto postupu: naštípaná sláma (pšeničná a ječná) procházela přes cyklon na šnekový dopravník, na jehož začátku bylo instalováno čerpadlo s tryskou pro nástřik louhu sodného.

I. Výživná hodnota krmných dávek — Nutritive value of the feed rations

Celoroční krmná dávka u pokusné skupiny s louhovanou slámou

Seno	1,0 kg	}	S	SNL	ŠJ	VI	Ca	P	Na	Mg
Tvarované krmivo s NaOH	9,2 kg		7,93	533	3,31	2,15	44,6	28,2	98,1	11,9

Průměrný denní přírůstek 0,749 kg, do 472 kg živé hmotnosti

Krmná dávka v zimním období — kontrolní skupina

Seno	2,00 kg	}	S	SNL	ŠJ	VI	Ca	P	Na	Mg
Siláž kukuřičná	14,00 kg		6,36	492	2,92	1,9	27,6	15,1	10,6	9,1
Krmná sláma	2,00 kg									
Směs MDB	0,70 kg									
Ječný šrot	0,60 kg									
Močovina	0,07 kg									

Průměrný denní přírůstek 0,734, do 350 kg živé hmotnosti

Krmná dávka v letním období — kontrolní skupina

Seno	1,0 kg	}	S	SNL	ŠJ	VI	Ca	P	Na	Mg
Jetelotráva	27,0 kg		6,02	668	3,79	1,33	79,9	16,7	10,9	14,8
Krmná sláma	1,0 kg									
Ječný šrot	1,2 kg									

Průměrný denní přírůstek 0,734, do 472 kg živé hmotnosti

Norma pro průměrný přírůstek 0,734 kg do živé hmotnosti 350 kg

S	SNL	ŠJ	VI	Ca	P	Na	Mg
6,42	541	3,39	1,28	32,1	23,8	5,5	5,5

Norma pro průměrný přírůstek 0,734 kg do živé hmotnosti 472 kg

S	SNL	ŠJ	VI	Ca	P	Na	Mg
8,17	625	4,33	1,63	35,6	25,5	6,3	6,3

Norma pro průměrný přírůstek 0,749 kg do živé hmotnosti 472 kg

S	SNL	ŠJ	VI	Ca	P	Na	Mg
8,34	638	4,42	1,67	36,3	27,5	6,9	6,9

Ve vzdálenosti 1 m od trysky bylo do slámy dávkováno jaderné krmivo. Směs byla šnekovým dopravníkem dopravena do granulátoru, odtud na vůz, kde byla skladována 24 hodiny a potom zkrmována. Vlastní louhování se dělalo nástřikem 25% roztoku louhu sodného s přidavkem močoviny v dávce 10 až 15 l roztoku na 100 kg slámy. V hotové tvarované směsi bylo obsaženo 67 % slámy, 30 % směsi HZG, 3 % louhu a močoviny (z toho močoviny maximálně 1 %). pH granulí se pohybovalo mezi 8,5 až 9,5. V průběhu pokusu byly biologické tekutiny k laboratornímu vyšetření odebírány dvakrát. První odběr byl realizován před zahájením zkrmování tvarované směsi s obsahem slámy ošetřené louhem sodným, druhý odběr před ukončením experimentu. Pokus probíhal 351 dnů.

Ve vzorcích bachorové tekutiny byly stanoveny: pH přístrojem fy Seibold, typ GKA, celková titrační acidita (CA) metodou podle Jonova aj. (1957), amoniak mikrodifúzní metodou v Conwayových nádobkách (Conway a Byrne, 1933) v modifikaci podle Zapletala (1967). Těkavé mastné kyseliny jsme zjišťovali metodou, kterou vypracovali Cottyn a Boucque (1968) ve vlastní modifikaci s upravenými chromatografickými podmínkami (Jagoš aj., 1977). Počet nálevníků byl určen v komůrce podle Fuchs-Rosenthala (Jagoš aj., 1975). Molární poměr kyseliny octové ku kyselině propionové ($C_2:C_3$) byl vypočítán na základě podílu molárního zastoupení kyseliny octové a kyseliny propionové. Poměr neglukogenních kyselin ku glukogenním (NG/GR) byl stanoven výpočtem podle Orskova aj. (1968). Získané hodnoty byly statisticky hodnoceny *t*-testem.

VÝSLEDKY

Z tab. II je patrné, že pH bachorové tekutiny se pohybovalo jak v prvním, tak ve druhém odběru v mezích referenčních hodnot. U pokusné skupiny byly hodnoty nižší a rozdíly dosáhly statistické významnosti. Celková titrační acidita [CA] se zvýšila u pokusné skupiny proti skupině kontrolní a rozdíl dosáhl statistické významnosti. Zvýšená titrační acidita odpovídá nižším hodnotám pH. Jak při výchozím, tak při konečném odběru však hodnoty celkové titrační acidity nepřekročily rámec referenčních hodnot. U pokusné skupiny ve druhém odběru před ukončením pokusu zjišťujeme proti kontrole nižší hladinu amoniaku. Rozdíl hodnot však nedosáhl signifikance.

Pokud se týká hladiny celkových těkavých mastných kyselin, při druhém odběru nečekaně poklesly koncentrace jak u pokusné, tak u kontrolní skupiny. Hodnoty poklesly až pod hranici referenčních hodnot. I přes tento pokles je hladina celkových těkavých mastných kyselin [TMK] v pokusné skupině vyšší než ve skupině kontrolní a rozdíl dosáhl signifikance. V molárním zastoupení jednotlivých těkavých mastných kyselin v bachorové tekutině zjišťujeme u pokusné skupiny vyšší hodnoty kyseliny octové a nižší hodnoty kyseliny máselné a kyseliny valerové. Molární zastoupení kyseliny propionové se po aplikaci louhované slámy neměnilo. Poměr kyseliny octové (C_2) ku kyselině propionové (C_3) byl u pokusné skupiny vyšší než u skupiny kontrolní, přestože u obou skupin došlo při druhém odběru k celkovému poklesu proti výchozím hodnotám. Poměr neglukogenních (NG) kyselin ku kyselinám glukogenním (GR) byl nepatrně nižší u pokusné skupiny než u skupiny kontrolní.

Celkový počet nálevníků se u pokusné i kontrolní skupiny signifikantně nezměnil. V kontrolní skupině jsme zaznamenali nižší počet nálevníků než ve skupině pokusné. Na základě posouzení ostatních parametrů v bachorové tekutině lze předpokládat, že pro infuzoria byly vytvořeny i při zkrmování louhované slámy dobré podmínky.

II. Vliv dlouhodobého zkrmování slámy ošetřené louhem sodným na vybrané ukazatele vnitřního prostředí — Effect of long-continued administration of straw treated with caustic soda lye on selected parameters of environment inside the proventriculi

Ukazatelé		pH		Celková acidita KJ		NH ₃ mmol.l ⁻¹		Těkavé mastné kyseliny mmol.l ⁻¹		Kyselina octová mol/‰	
		P	K	P	K	P	K	P	K	P	K
Východí hodnoty	$\bar{x}$	6,78	6,94	21,64	18,58	4,81	4,66	112,55	89,64	65,89	62,22
	s	0,10*	1,09	4,43	3,98	1,22	1,78	12,41**	8,45	6,44	2,49
Konečné hodnoty	$\bar{x}$	6,41	6,62	27,24	20,51	5,80	6,24	60,59	47,32	60,15	53,49
	s	0,09**	0,15	2,58**	1,52	0,63	0,85	5,65**	5,12	3,86*	4,49

		kyselina propionová mol/‰		kyselina máselná mol/‰		kyselina valerová mol/‰		C ₂ : C ₃		NG : GR	
		P	K	P	K	P	K	P	K	P	K
$\bar{x}$		14,67	14,41	17,33	21,24	1,69	1,30	4,58	4,34	6,35	6,81
s		1,85	1,07	4,77	3,14	0,65	0,56	0,81	0,33	0,84	0,82
$\bar{x}$		20,15	20,33	19,17	25,30	0,28	0,51	3,13	2,17	5,07	5,18
s		3,85	3,43	3,48*	4,05	0,09**	0,17	0,90	0,61	1,47	1,17

	Počet infuzorii/ml	
	P	K
$\bar{x}$	563 250	449 657
s	159 262	257 918
$\bar{x}$	225 666	135 142
s	120 839	45 252

P — pokusná skupina
K — kontrolní skupina

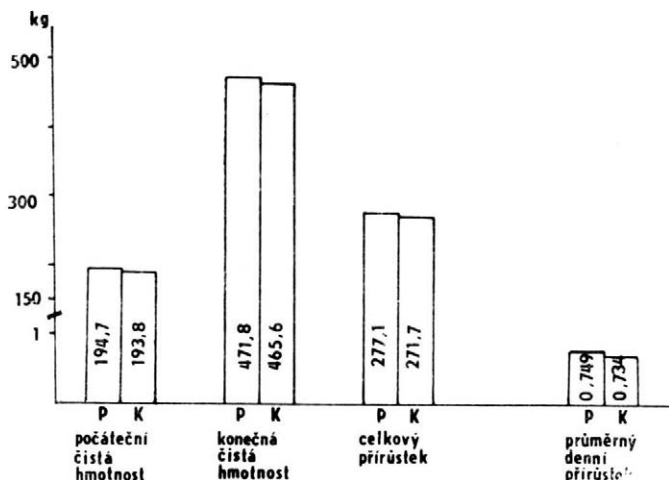
C₂ : C₃ — kyselina octová : kyselina propionová
NG : GR — kyselina neglukogenní : kyselina glukogenní

* $P < 0,05$

** — $P < 0,01$

1. Přírůstky hmotnosti u sledovaných skupin
— Weight gains in the groups under study

P — pokusná skupina
K — kontrolní skupina



Hmotnostní přírůstky jsou uvedeny v obr. 1. U pokusné skupiny bylo dosaženo poněkud vyššího hmotnostního přírůstku než u skupiny kontrolní. Rozdíl však činí pouze 2,04 % a nedosáhl significance.

DISKUSE

U experimentální skupiny byl v průběhu zkrmování louhované slámy zaznamenán mírný pokles pH, který by mohl být způsoben zvýšenou produkcí těkavých mastných kyselin v důsledku narušení lignocelulózových vazeb a zvýšené stravitelnosti hemicelulóz. V našem pokuse jsme však nárůst těkavých mastných kyselin nezaznamenali. Naopak poklesla hladina těkavých mastných kyselin pod referenční rozmezí u obou sledovaných skupin. Nižší koncentrace těkavých mastných kyselin při tomto odběru by mohla být vysvětlena dřívějším odběrem bachorové tekutiny po nakrmení než při zahájení pokusu. Přesto však u pokusné skupiny byla hladina celkových těkavých mastných kyselin signifikantně vyšší než u skupiny kontrolní.

Vyšší hodnoty celkové acidity a nižší hodnoty pH u pokusné skupiny, i když se pohybovaly v referenčním rozmezí, při snížené hladině těkavých mastných kyselin, mohly být také způsobeny zvýšenou koncentrací kyseliny mléčné. Jelikož jsme však s acidogenním působením použitých krmných dávek nepočítali, nebyla hladina kyseliny mléčné stanovována.

Literární údaje vztahující se k hodnotám pH v bachorové tekutině při zkrmování louhované slámy nejsou zcela jednotné. Například T a w a s h aj. (1982) a K u n g aj. (1983) nezjistili změny v pH bachorové tekutiny při zkrmování krmiv ošetřených louhem sodným. Naopak A n d e r s o n aj. (1981) udávají zvýšení hodnot pH bachorové tekutiny a feces po ošetření krmiv louhem sodným.

U amoniaku nebyl ve srovnání s kontrolou zjištěn signifikantní rozdíl, byl zaznamenán pouze mírný pokles u skupiny pokusné. Signifikantní pokles amoniaku v bachorové tekutině při zkrmování louhované slámy uvádějí O l o l a g e a M o w a t (1975). Pokles hladin amoniaku až pod hranici optima obdobně uvádějí T a w a s h aj. (1982). Vysvětlují tuto skutečnost dalším uvolňováním energie působením louhu, což vede k utilizaci amoniaku pro tvorbu bakteriální biomasy. Tuto interpre-

taci může podpořit nález, který popsali Bass aj. (1980). Tito autoři zjistili v prvních hodinách po nakrmení zvýšený obsah celkového dusíku v bachorové tekutině. Naopak Anderson aj. (1981) změny v hladinách amoniaku po zkrmování louhované slámy nezjistili.

Literární údaje týkající se zastoupení jednotlivých těkavých mastných kyselin v bachorové tekutině při zkrmování krmiv ošetřených louhem nejsou jednotné. Např. Ali aj. (1977) nezjistili významné změny ve složení jednotlivých těkavých mastných kyselin. Změny v zastoupení kyseliny octové a propionové pozorovali Bass aj. (1980). Tito autoři zjistili po aplikaci krmiva ošetřeného louhem zvýšené hladiny kyseliny máselné. V našem pokuse však byly hodnoty kyseliny máselné nižší u pokusných zvířat, což je v souladu s poznatky, které uveřejnili Tawash aj. (1982): zjistili, že molární procento se snižuje jak u kyseliny máselné, tak u kyseliny valerové. Zvýšení hladin kyseliny propionové a máselné za současného poklesu kyseliny octové uvádějí Ologa a Mowat (1975), což jsou však výsledky právě opačné, než k jakým jsme dospěli my. Uvedení autoři však sledovali molární zastoupení jednotlivých těkavých mastných kyselin v časové dynamice po nakrmení, zatímco naše výsledky vycházejí z jednoho odběru za dvě hodiny po příjmu krmiva. Lze však konstatovat, že zastoupení jednotlivých těkavých mastných kyselin se pohybovalo v rámci referenčních hodnot.

Na základě našich výsledků můžeme konstatovat, že louh sodný přicházející do bachoru s krmivem neovlivnil životní prostředí nálevníků ani jejich absolutní počty. Infuzoria jsou citlivější na acidogenní prostředí než na přísun bází.

Pokud se týká zvýšení hmotnostních přírůstků při zkrmování louhované slámy, jsou naše zjištění v souladu s nálezy dalších autorů (Pirie a Greehalge, 1978; Drennan aj., 1982). Většina prací zaměřených na výzkum slámy ošetřené louhem sodným se zabývala především stravitelností, která se v převážné většině experimentů zvyšovala. Energie zpřístupněná pro bachorovou mikroflóru se zákonitě odrážela na zvýšení hmotnostních přírůstků.

Z naší práce vyplývá, že zkrmování slámy ošetřené louhem sodným se projevilo určitými změnami v metabolickém profilu bachorové tekutiny. V některých ukazatelích bylo dosaženo signifikantního rozdílu — pH, celková acidita, amoniak, celkové množství a procentuální zastoupení jednotlivých těkavých mastných kyselin. Sledované ukazatele však pouze v ojedinělých případech překročily referenční rozmezí. Při zkrmování slámy ošetřené louhem sodným bylo dosaženo vyššího hmotnostního přírůstku, i když rozdíl proti kontrole nedosáhl signifikance. Základním klinickým vyšetřením v průběhu pokusu nebyly zjištěny změny zdravotního stavu. Rovněž patologicko-anatomickým vyšetřením zvířat po porážce nebyly zjištěny změny způsobené aplikací krmiva ošetřeného louhem sodným. Na základě těchto zjištění lze použití louhu sodného k ošetření slámy pro krmné účely doporučit.

Literatura

ALI, C. S. — MASON, V. C. — WAAGEPETERSEN, J. W.: The voluntary intake of pelleted diets containing sodium hydroxide — treated wheat straw by sheep. 1. The effect of the alkali concentrations on the straw. Z. Tierphysiol. Tierernähr. Futtermittelkde, 39, 1977, s. 175-187.

- ANDERSON, G. D. — BERGER, L. L. — FAHEY, G. C.: Alkali treatment of cereal grains. II. Ruminant measurements and feedlot performance. *J. anim. Sci.*, 52, 1981, s. 144-149.
- BASS, J. M. — FISHWIK, G. — HEMINGWAY, R. G. — PARKINS, J. J.: The effect of additions of sodium hydroxide and concentrates solution containing urea, calcium, phosphorus, sodium, trace elements and vitamins on the intake and digestibility of oat straw by beef cows. *Anim. Prod.*, 30, 1980, s. 13-21.
- CONWAY, E. J. — BYRNE, A.: An absorption apparatus for the microdetermination of certain volatile substances. I. The microdetermination of ammonia. *Biochem. J.*, 27, 1933, s. 419-420.
- COTTYN, B. G. — BOUCQUE, CH. V.: Rapid method for the gaschromatographic determination of volatile fatty acid in rumen fluid. *J. Agric. Fd Chem.*, 1, 1968, s. 105-107.
- ČSN 46 7070. Potřeba živin pro hospodářská zvířata. 1982.
- DRENNAN, M. J. — TAWASH, M. A. — LESTRAGE, J. L.: Sodium hydroxide treatment of straw. I. Effect of straw treatment on the intake and performance of cattle. *Ir. J. agric. Res.*, 21, 1982, s. 249-259.
- FLACHOWSKY, G.: Použití slámy jako tvarovaného krmiva. 1. vyd. Praha, Státní zemědělské nakladatelství 1979. 244 s.
- JAGOŠ, P. — ŠUPÍKOVÁ, M. — DVOŘÁK, R.: Analýza těkavých mastných kyselin v bachorové tekutině plynovou chromatografií. *Veterinářství*, 10, 1977, s. 465-466.
- JAGOŠ, P. — HOFÍREK, B. — DVOŘÁK, R. — ŠUPÍKOVÁ, M. — STRÍŽ, J.: Studium diagnostiky, terapie a prevence poruch bachorového trávení. [Výzkumná zpráva.] Brno, Vysoká škola veterinární 1975. 94 s.
- JONOV, P. S. — MUCHIN, V. G. — SEMUŠKIN, N. R. — FEDOTOV, A. I. — SARABRIN, N. R.: Laboratornyje issledovaniya v veterinarnoj kliničeskoj diagnostike. Moskva 1957. 288 s.
- KOSAŘ, J. — OPÍČAL, M. — PROKŠOVÁ, M. — ZOBAL, S.: Upravené ligno-celulózyvé materiály ve výživě skotu. *Met. Zavád. Výsl. Výzk. Praxe. CSAZ, ÚVTIZ*, 5, 1974. 32 s.
- KUNG, L. — JESSE, B. W. Jr. — THOMAS, J. W. — HUBER, J. T. — EMERY, R. S.: High moisture ground ear corn, high moisture barley or sodium hydroxide treated for lactating cows: Milk production and ration utilization. *Can. J. anim. Sci.*, 63, 1983, s. 155-162.
- LOLAGE, B. G. — MOWAT, D. N.: Influence of whole-plant barley reconstituted with sodium hydroxide on digestibility, rumen fluid and plasma metabolism of sheep. *J. anim. Sci.*, 40, 1975, s. 315-358.
- ORSKOV, E. R. — FLATT, W. P. — MOE, P. W.: Fermentation balance approach to estimate extent of fermentation and efficiency of volatile fatty acids formations in ruminants. *J. Dairy Sci.*, 51, 1968, s. 1429-1435.
- PIATKOWSKI, B. G. — BOLDUAN, F. A. — BAHRO, R. J. — EICHNER, W. — PRÜFER, S. — BERNDT, G. — THOMAS, S. — SIEBENHAAR, U.: Ergebnisse zum neuen Feuchtaufschluss verfahren von Getreidestroh mit Natronlauge. *Tierzucht*, 26, 1972, s. 287.
- PIRIE, R. — GREENHALGH, J. F. D.: Alkali treatment of straw for ruminants. I. Utilization of complete diets containing straw by beef cattle. *Anim. Fd Sci. Technol.*, 3, 1978, s. 143-154.
- TAWASH, M. A. — DRENNAN, M. J. — LESTRANGE, J. L.: Sodium hydroxide treatment of straw. 2. Effect of straw treatment on its digestibility and on certain rumen fluid and blood parameters. *Ir. J. Agric.*, 21, 1982, s. 261-269.
- ZAPLETAL, O.: Toxicita močoviny a některé možnosti jejího ovlivnění u skotu. [Kandidátská disertace.] Brno 1967. 109 s. — Vysoká škola veterinární.

Došlo dne 9. 12. 1987

ДВОРЖАК, Р. — ЯГОШ, П. — ИИЗДНЫ, Й. — ПРЖИКРЫЛОВА, Я. — ГРАДИЛОВА, М. (Институт ветеринарии, Брно; Облагролаборатория, Тржебич): Влияние скармливания откормочным быкам соломы, обработанной едким натром, на метаболический профиль рубцовой жидкости, здоровье и привесы. *Veter. Med. (Praha)*, 33, 1988 (10) : 599-606.

У быков на откорме определяли влияние скармливания обработанной едким натром соломы на здоровье, рост и метаболический профиль рубцовой жидкости. В эксперимент включили 16 животных, разделив их на подопытную и контрольную группы

($n = 8$ гол.). Подопытной скармливали в течение года щелочную солому, а контрольной — обычный корм. Прослеживали за определенными показателями метаболического профиля рубцовой жидкости, за привесами, ориентировочно — за состоянием здоровья. Скармливание щелочной соломы не вызвало на протяжении эксперимента отрицательных последствий у здоровья животных. В метаболическом профиле рубцовой жидкости установлены слабые отклонения, а в отдельных случаях — значимые различия в pH, общей кислотности и в аммиаке, в общем содержании и участии летучих жирных кислот. При скармливании щелочной соломы добились повышенного, но не значимого привеса на 2,04%. Можно констатировать, что скармливание щелочной соломы слабо увеличивает привесы и не оказывает негативного влияния на метаболические процессы преджелудков или на здоровье животных. Технологию обработки соломы едким натром можно рекомендовать для широкого применения.

едкий натр; метаболический профиль; рубцовая жидкость; привесы

DVOŘÁK, R. — JAGOŠ, P. — JÍZDNÝ, J. — PŘIKRYLOVÁ, J. — HRADILOVÁ, M. (University School of Veterinary Medicine, Brno; Regional Agricultural Laboratory, Třebíč): *Effect of the Administration of Straw Treated with Caustic Soda Lye upon the Metabolic Profile of Rumen Liquor, Health, and Weight Gains in Fattened Bulls*. Veter. Med. (Praha), 33, 1988 (10) : 599-606.

Fattened bulls were studied for the effect of the administration of straw treated with caustic soda lye upon the health, growth and metabolic profile of the rumen liquor. Sixteen animals were included in the trial, eight of them being left for control and the other weight being used as the experimental group. The control group were given ordinary feeds and the experimental group were given leach-treated straw for a year. The animals were studied for the selected parameters of the metabolic profile of rumen liquor, for weight gains and, tentatively, for the state of health. The administration of lye-treated straw had no adverse effect on the health of the animals during the trial. Some slight fluctuation was recorded in the metabolic profile of the rumen liquor, and in individual cases significant differences were found in the pH values, in total acidity, in ammonia content, in the total amount of volatile fatty acids, and in the proportions of individual volatile fatty acids. The weight gain of animals fed with lye-treated straw was higher, though the difference (2.04%) was not significant. It can be concluded that administration of lye-treated straw slightly increases the weight gains and has no adverse influence on the metabolic processes in the proventriculi and on the health of the animals. The technology of straw treatment with caustic soda lye can be recommended for use on a larger scale.

caustic soda lye; metabolic profile; rumen liquor; weight gains

Adresy autorů:

Doc. MVDr. Rudolf Dvořák, CSc., prof. MVDr. Přemysl Jagoš, CSc., MVDr. Jaroslava Přikrylová, RNDr. Milada Hradilová, Vysoká škola veterinární, Palackého 1-3, 612 42 Brno
Ing. Jiří Jízdny, Zemědělská oblastní laboratoř, 674 01 Třebíč

IZOLACE KMENŮ *STAPHYLOCOCCUS HYICUS* ZE ZDRAVÝCH HOSTITELŮ A DIAGNOSTICKÁ STUDIE KMENŮ

B. Skalka

SKALKA, B. (Vysoká škola veterinární, Brno): *Izolace kmenů Staphylococcus hyicus ze zdravých hostitelů a diagnostická studie kmenů*. Veter. Med. (Praha), 33, 1988 (10) : 607-616.

Na nosičství *S. hyicus* jsme vyšetřili některé orgány 140 prasat, 148 dojníc a 80 jedinců kura domácího. Vyšetřovaná zvířata byla prosta symptomů onemocnění. Ihned po porážce jsme kultivovali odběry orgánů těchto zvířat do bujónového média s kyselinou nalidixovou a kolistinem s následnou subkultivací na agarové médium obsahující Tween 80 a diagnostikou tweenáza pozitivních kmenů. Izolace *S. hyicus* se zdařila z plic prasat, skotu a kura domácího, z tonzil prasat a skotu i z parenchymu bovinní mléčné žlázy. Nejčastější byly záchyty z tonzil prasat, nejmenší počet izolací byl z parenchymu mléčné žlázy skotu. Soubor 84 kmenů se rozšířil o osm kmenů z epidermitid prasat a 16 kmenů určených jinými autory. U všech kmenů jsme zjišťovali biochemickou aktivitu, senzitivitu k některým antibiotikům a produkci bakteriocinových exolátů. S výjimkou variabilní proteolytické aktivity a malé senzitivity k bacitracinu jsme nezjistili odchylky od vlastností požadovaných pro *S. hyicus*. 14 kmenů mělo bakteriocinovou aktivitu. Na podkladě dosažených výsledků předkládáme návrh rychlé diagnostiky, spolehlivé diferenciací *S. hyicus* od ostatních stafylokokových druhů, spočívající v průkazu negativní hemolytické aktivity na agarech s ovčími erytrocyty, negativní produkce pigmentu, pozitivní produkce hyaluronidázy a charakteristického růstu na agaru s krystalovou violetí.

Staphylococcus hyicus; výskyt u zdravých hostitelů; rychlá diagnostika druhu

Staphylococcus hyicus, původně nazvaný *Micrococcus hyicus* (S o m p o l i n s k y, 1953), později uváděný jako subspecies *hyicus* tvořící se subspecies *chromogenes* druh *S. hyicus* (D e v r i e s e aj., 1978), zaujímá dnes v rámci rodu *Staphylococcus* pozici samostatného druhu v důsledku povýšení subsp. *chromogenes* na kategorii druhu (H á j e k aj., 1986). *S. hyicus* lze izolovat z epidermitid prasat, v nichž je plně uznávána jeho etiologická role, vyskytuje se však i na zdravé kůži prasat a jiných hospodářských zvířat (D e v r i e s e aj., 1983, 1984/85, 1985; K l o o s a S c h l e i f e r, 1986), popřípadě v některých orgánech těchto hostitelů (G u d d i n g, 1980; P h i l l i p s a K l o o s, 1981; C o x aj., 1984; H a r v e y a G i l m o u r, 1985; H o g a n aj., 1987; S h i m i z u aj., 1987). Otázky izolace a exaktní diagnostiky *S. hyicus* se neliší od problematiky obecně charakteristické pro druhy rodu *Staphylococcus* (K l o o s a S c h l e i f e r, 1986). Vzdor této skutečnosti zaujímá *S. hyicus* čelnou pozici mezi těmi druhy stafylokoků, u kterých autoři upozorňují na možnost omylů, zejména při pouhém použití mikrotestů v diagnos-

tice, a to jak záměny za koaguláza-pozitivní druhy [Devriese, 1977; Gudding, 1980; Phillips a Kloos, 1981; Cox aj., 1984; Watts aj., 1986], tak i za koaguláza-negativní stafylokoky [Devriese, 1977, 1979; Devriese a Keyser, 1980; Watts aj., 1984, 1986; Langlois aj., 1984; Harvey a Gilmour, 1985]. Souhrnné popisy *S. hyicus* lze nalézt v mnoha studiích [Devriese, 1977; Devriese aj., 1978, 1985; Kloos a Schleifer, 1986; Hájek aj., 1986; Skalka, 1987] a na možnou produkci bakteriocinů některými kmeny upozorňují, rovněž recentní, studie [Balusek a Hájek, 1985; Müller a Blobel, 1987]. Respektování změn, které přineslo nové vydání Bergeyova manuálu [Sneath aj., 1986], uvádí *S. hyicus* do diagnostické rutiny. V předložené studii jsme se proto zaměřili na zjištění frekvence výskytu tohoto druhu v organismech klinicky zdravých hospodářských zvířat a na vypracování návrhu exaktní, rychlé a ekonomicky málo nákladné diagnostiky *S. hyicus*.

MATERIÁL A METODY

BAKTERIÁLNÍ KMENY

V předložené práci je popsáno studium 108 kmenů *S. hyicus*. Tento soubor tvořilo 84 kmenů izolovaných v laboratoři autorově, 8 kmenů izolovaných SVÚ Jihlava z epidermitid prasat a postoupených nám na identifikaci a 15 kmenů laskavě poskytnutých dr. Hájkem (lékařská fakulta Palackého univerzity, Olomouc). Kontrolně byl použit i sbírkový kmen CCM 2368. Dále se použily kmeny *S. aureus* CCM 6188, *Streptococcus agalactiae* CCM 6187 a *S. equi*.

ZDROJ KMENŮ IZOLOVANÝCH V NAŠÍ LABORATOŘI

Pro studii jsme zvolili prasata, dojnice a kur domácí. Kultivovalo se z makroskopicky nezměněných orgánů těchto klinicky zdravých zvířat, bezprostředně po jejich poražení na jatcích. U prasat se kultivovalo z tonzil a plic, u skotu z tonzil, plic a parenchymu mléčné žlázy, u kura domácího pouze z plic.

MÉDIA

Jako základ pro živné půdy jsme používali živný bujón č. 1 a základ pro krevní agar č. 4, obojí z n. p. IMUNA. Tyto základy se doplnily příslušnými ingrediencemi a výchozí pH médií odpovídalo hodnotě 7,4.

IZOLACE KMENŮ *S. HYICUS*

Pro kultivace z uvedených zdrojů jsme používali bujónové médium obsahující 15 µg kyseliny nalidixové a 10 µg kolistinu na mililitr. Z tekutého média se po 24 hodinách inkubace při teplotě 37 °C kultivovalo na agarové médium obsahující Tween 80. Po další 24hodinové inkubaci při teplotě 37 °C se pro další vyšetření použily především tweenáza-pozitivní kolonie, diagnostikovány však byly všechny izolované stafylokoky.

ORIENTAČNÍ DIFERENCIACE STAFYLOKOKOVÝCH KMENŮ

U tweenáza-pozitivních kmenů se dále hodnotila jejich senzitivita k novobiocinu, produkce hemolysinů na agaru s 5 % propaných ovčích erytrocytů, produkce pigmentu [Skalka, 1980] a hyaluronidázy [Skalka, 1985a]. Kmeny senzitivní k novobiocinu, s pozitivní produkcí hyaluronidázy, s negativní pigmentací a hemolýzou, se podrobily dalším diagnostickým testům. Ostatní izolované stafylokoky byly rovněž druhově určeny dříve popsanými diagnostickými postupy [Skalka, 1984].

DIAGNOSTICKÉ TESTY

Mimo již uvedené testy se u selektovaných kmenů zjišťovala koagulázová aktivita v králičí plazmě, růstový typ na agaru s krystalovou violetí a proteolytická aktivita, všechny tři testy podle dřívějšího popisu (Skalka, 1980). Fermentační aktivita se testovala jak pomocí Staphy-testu LACHEMA, o. p., tak i konvenční metodou, ve které byly použity stejné substráty, jaké obsahuje Staphy-test, ale jejich soubor byl rozšířen o maltózu, mannózu a arginin. Pro tvorbu acetoinu se použilo médium s pyrohroznem sodným (Devriese aj., 1985).

VZTAH K ANTIBIOTIKŮM

Kmeny byly testovány s antibiotickými disky, které obsahovaly novobiocin 30 μg (Oxoid ltd.), dále všechny disky Lachema, o. p., a to bacitracin 10 m. j., furadantin 100 μg , penicilin 10 m. j., erytromycin 10 μg , oxytetracyklin 30 μg , chloramfenikol 30 μg a streptomycin 30 μg .

TESTACE BAKTERIOCINOVÉ AKTIVITY

Pro zjištění produkce „bacteriocin-like“ substancí jsme použili techniku předkultivace vyšetřovaných kmenů (Skalka, 1985b) a následnou aplikaci kmenů indikátorového souboru, který zahrnoval kmen *Corynebacterium renale*, kmeny *S. aureus* Oxford, ČB 27, ČB 66, ČB 54, *S. intermedius* OP 41, P 274, *S. haemolyticus* K 33 a *S. epidermidis* S-2 z naší laboratorní sbírky.

VÝSLEDKY

Mimo rámec předložené studie je výčet všech zachycených druhů rodu *Staphylococcus*. Vzhledem k zaměření práce uvádíme pouze izolace *S. hyicus* a zdůrazňujeme skutečnost, že z tweenáza-negativních stafylokoků nebyl ani jeden dodatečně diagnostikován jako náležející do sledovaného druhu.

Nejvyšší záchyt *S. hyicus* byl z tonzil prasat a poměrně častý byl i z plic tohoto hostitele. Izolace *S. hyicus* z orgánů skotu a kura domácího byly méně časté, jejich nejvyšší frekvence byla z plic skotu, zatímco izolace z parenchymu mléčné žlázy byly výjimečné (tab. I).

I. Izolace kmenů *Staphylococcus hyicus* z orgánů zdravých hospodářských zvířat — Isolation of the strains of *Staphylococcus hyicus* from the organs of healthy farm animals

Druh	Orgán	Počet		Procento záchytů
		vyšetření	izolací	
Prase	tonzily	140	47	33,5
	plíce	140	16	11,4
Skot	tonzily	148	12	8,1
	plíce	148	5	3,3
	parenchym mléčné žlázy	148	2	1,3
Kur domácí	plíce	80	2	2,5

II. Vlastnosti vyšetřovaných kmenů *Staphylococcus hyicus* — Characteristics of the strains of *Staphylococcus hyicus*

Test	Počet			Procento pozitivity
	intenzivně pozitivních	slabě pozitivních	negativních	
Hemolýza na ovčím KA	0	0	103	0,0
Hyaluronidáza	108	0	0	100,0
Tweenáza 80	103	5	0	100,0
Pigment ¹	0	0	108	0,0
KV-agar ²	108	0	0	100,0
Koaguláza (králičí plazma)	20	22	66	38,8
Proteolýza	30	44	34	68,5
Glycerol	108	0	0	100,0
Sacharóza	107	0	1	99,1
Trehalóza	103	4	1	99,1
Manit	0	0	108	0,0
Maltóza	1	0	107	0,9
Mannóza	26	25	57	47,2
Acetoin	0	0	108	0,0
Urea S/K	72/99	0/0	36/9	66,6/91,6
Nitráty	108	0	0	100,0
Fosfatáza	108	0	0	100,0
Arginin	108	0	0	100,0
Novobiocin ³ 20 µg	108	0	0	100,0
Bacitracin 10 m. j.	9	28	71	34,2
Furadantin 100 µg	107	1	0	100,0
Penicilin 10 m. j.	1	17	90	16,6
Erytromycin 10 µg	87	0	21	80,5
Oxytetracyklin 30 µg	58	0	50	53,7
Chloramfenikol 30 µg	93	1	14	87,0
Streptomycin 30 µg	67	10	31	71,3
Bakteriocinová aktivita	5	9	94	12,9

1 = není oranžový nebo krémový pigment, růst v bílých koloniích

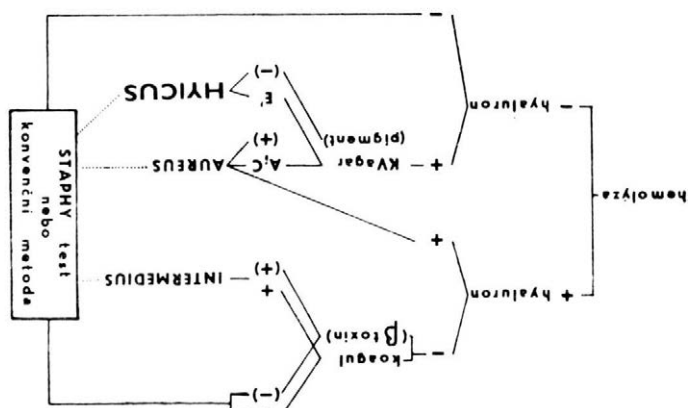
2 = na agaru s krystalovou violetí slabě namodralé kolonie s intenzivně modrým lemem (růstový typ E')

S/K = výsledek Staphy-testu (S) a konvenční metody (K)

3 = pozitivní = senzitivní, negativní = rezistentní

Sledované kmeny *S. hyicus* byly nehemolytické na agaru s pranými ovčími erytrocyty a nedávaly ani náznak synergického hemolytického efektu se stafylokokovým beta-toxinem nebo s CAMP faktorem *S. agalactiae*. Všechny kmeny dávaly intenzivně pozitivní dekapsulační efekt

1. Schéma rychlé diagnostiky kmenů *Staphylococcus hyicus* — Schematic diagram of the rapid diagnosis of *Staphylococcus hyicus* strains



s kmenem *S. equi* a byly pozitivní na médiu obsahujícím Tween 80. Na agaru s krystalovou violetí vyrůstaly všechny kmeny masívně, jejich kolonie byly lehce namodralé s intenzívně modrým okrajovým lemem (růstový typ E'). Pouze 42 kmeny ze sledovaných 108 koagulovaly králičí plazmu, vždy až po 20 až 24hodinové inkubaci, ale jen 20 kmenů tvořilo pevné koagulum. Proteolytickou aktivitu mělo 74 kmenů, jen u 30 však průměr pozitivního efektu převýšil šířku 3 mm, měřenou od kraje kultivační linie. Všechny kmeny vyrůstaly v lesklých bílých koloniích, ani u jednoho z nich nebyl náznak produkce oranžového, krémového nebo žlutého pigmentu (tab. II).

Všechny testované kmeny fermentovaly glycerol, redukovaly nitráty, hydrolyzovaly arginin a tvořily fosfatázu. S výjimkou jediného fermentovaly sledované kmeny sacharózu a trehalózu. Ani jeden kmen nefermentoval manit a neprodukoval acetoin. S výjimkou jednoho kmene byly všechny negativní v maltóze, zatímco utilizace mannózy byly pozitivní u necelých 50 %. Jedinou diferenci mezi výsledky dosahovanými při použití Staphy-testu a konvenční metody jsme pozorovali v hydrolyze močoviny. Zatímco Staphy-testem se určila pouze 66,6% pozitivita, v konvenční metodě dávalo pozitivní výsledek téměř 92 % kmenů (tab. II).

Při testaci vztahu k antibiotikům bylo 100 % kmenů citlivých na novobiocin a furadantin, zatímco pozitivita k ostatním použitým antibiotikům se pohybovala od 16,6 do 80,5 % (tab. II).

Pouze 14 kmenů dávalo bakteriocinový efekt a z nich pět kmenů působilo inhibičně na všechny použité indikátorové kmeny, ostatních devět účinkovalo jen na některé indikátory, častěji na kmeny *S. intermedius* a koaguláza negativní stafylokoky, než na kmeny *S. aureus* nebo *C. renale* (tab. II).

Dosažené výsledky, spolu s literárními údaji, opodstatňují náš návrh na rychlou diagnostiku *S. hyicus*. Tento diagnostický postup je založen na negativní hemolytické aktivitě na boviním krevním agaru, intenzívní produkci hyalurodinázy, typu růstu na agaru s krystalovou violetí a negativní produkci pigmentu. V návrhu, který je vviádřen na obr. 1 a na který se zaměříme v diskusi, je zahrnuta i rychlá diagnostika obou dalších koaguláza-pozitivních druhů stafylokoků.

Postup zvolený pro kvalitativní zjištění výskytu *S. hyicus* u některých druhů klinicky zdravých hospodářských zvířat splnil náš pracovní záměr. Selektivní izolace stafylokoků eliminovala růst většiny nežádoucích bakterií a předběžný výběr suspektních kmenů použitím média s Tween 80, již dříve doporučeného (Devriese, 1977), urychlil nutnou primární diferenciaci. Další testy vyloučily možnost záměny s tweenáza-pozitivními kmeny *S. aureus*, jejichž výskyt mezi animálními ekovary je mnohem nižší, než jak tomu je u humánního ekovaru A (Skalka, 1980, 1984), stejně jako záměny za *S. intermedius*, který má vesměs intenzivní produkci beta-toxinu, nebo s některými koaguláza-negativními druhy, jen zcela výjimečně produkujícími tweenázu, ale nikdy v takové intenzitě jako *S. hyicus* (Devriese aj., 1985; Kloos a Schleifer, 1986). Údaje o tweenáze u *S. hyicus* a u jiných stafylokokových druhů v předložené studii potvrzujeme, i když zde neuvádíme výsledek diagnostiky ostatních stafylokokových druhů, které jsme z vyšetřovaných zdrojů zachytili. Z těchto kmenů však svými vlastnostmi ani jeden neodpovídal požadavkům pro vyslovení diagnózy *S. hyicus*.

Jako nejčastější hostitelé *S. hyicus* se popisují prasata, skot a kur domácí, zejména jejich zdravá i nemocná kůže (Devriese, 1977; Phillips a Kloos, 1981; Devriese aj., 1985; Kloos a Schleifer, 1986). Mimo to se u skotu izoluje z mléka (Harvey a Gilmour, 1985), z distální části struků (Devriese a Keyser, 1980) i z mastitidního vemene (Gudding, 1980; Hogan aj., 1987). U koní jsou pozitivní izolace *S. hyicus* jen z onemocnělé kůže (Devriese aj., 1983, 1984/85). Izolace ze psů a koček jsou možné, považují se však za výjimečné (Biberstein aj., 1984; Cox aj., 1984). Citované údaje podnítily náš výběr vyšetřovaných druhů hospodářských zvířat i naše zaměření na vyšetření jiných tělesných částí, než dobře prostudované kůže. Tím jsme chtěli vyplnit jistou mezeru, která ve znalostech o kolonizaci hostitele *S. hyicus* zatím existuje.

Početný záchyt sledovaného druhu z tonzil prasat i skotu nepovažujeme za překvapivý, neboť tonzily představují přechodnou tělesnou část mezi povrchem těla a vnitřními orgány. Ještě vyšší procento záchytů *S. hyicus* z tonzil zdravých prasat, než jaké jsme mohli zaznamenat, uvádějí Shimizu aj. (1987). Výskyt *S. hyicus* v plicích může být ovlivněn kolonizací tonzil tímto druhem. Zatímco izolace *S. hyicus* z povrchu vemene jsou časté, je naše zjištění výskytu tohoto druhu v parenchymu mléčné žlázy dosud ojedinělé. I když naše pozitivní izolace *S. hyicus* z plic skotu a kura domácího, stejně jako z parenchymu mléčné žlázy skotu, nepředstavují velké procento výskytu, nepovažujeme jejich význam za zanedbatelný již proto, že byly z klinicky zdravých zvířat. Nelze vyloučit, že při stresových vlivech se může uplatnit patogenní funkce *S. hyicus*, ať již jako sekundárního, nebo dokonce primárního etiologického faktoru.

Výsledky dosažené při určování vlastností kmenů sledovaného souboru *S. hyicus* lze konfrontovat jak s údaji nejvýznamnějších popisů v této tématice (Devriese, 1977; Devriese aj., 1978, 1985; Kloos a Schleifer, 1986; Hájek aj., 1986), tak i s popisy možných vzájemných diagnostických záměn *S. hyicus* a *S. epidermidis* (Devriese,

1979; Devriese a Keyser, 1980; Langlois aj., 1984; Harvey a Gilmour, 1985; Watts, 1985; Watts aj., 1984, 1985), *S. simulans* (Watts, 1985; Watts aj., 1986), *S. hominis* (Langlois aj., 1984), *S. intermedius* (Phillips a Kloos, 1981; Biberstein aj., 1984; Cox aj., 1984; Watts, 1985; Watts aj., 1986), rovněž však *S. aureus* (Devriese, 1977; Gudding, 1980; Harvey a Gilmour, 1985). Tyto diagnostické omyly byly způsobeny variabilitou ve fermentaci trehalózy a maltózy, vesměs pozorovanou v mikrotěstech, stejně jako slabou až negativní produkci fosfatázy. Záměny za koaguláza-pozitivní druhy byly podmíněny především tím, že nebyla respektována hemolytická inaktivita *S. hyicus* na ovčích krevních agarrech.

Převážnou většinou svých vlastností odpovídaly kmeny našeho souboru požadavkům určeným pro druh *S. hyicus*. I když negativní fermentaci sacharózy a trehalózy zjištěnou u jednoho kmene a pozitivní fermentaci maltózy jiným kmenem nepovažujeme za zcela bezvýznamné, jsou v rámci přípustné variability (Kloos a Schleifer, 1986). V rámci této variability je i procento ureáza-negativních kmenů zjištěných konvenční metodou, zatímco zarážející je značný počet takových kmenů určených Staphy-testem. Lze to vysvětlit jednak pozdní nebo slabou syntézou ureázy některými kmeny *S. hyicus*, jednak výrobním nedostatkem, neboť většina těchto zjištění byla na Staphy-testech stejné šarže. Nízké procento mannóza-pozitivních kmenů se však od citovaných charakteristik *S. hyicus* výrazně odlišuje, stejně jako proteolytická aktivita, zjištěná pouze u 68,5 % kmenů. Většina pozitivních kmenů dávala jen velmi slabou reakci, mezi nimi i sbírkový kmen CCM 2368. Za nový doplněk charakteristiky *S. hyicus* považujeme zjištění typického růstu kmenů tohoto druhu na agaru s krystalovou violetí, odlišného od typu růstu ekovar *S. aureus* i *S. intermedius*.

V testaci vztahů vyšetřovaných kmenů k antibiotikům se pouze v pozorované nízké citlivosti k bacitracinu odlišujeme od popisu, který podali Kloos a Schleifer (1986), ostatní výsledky jsou shodné s tímto údajem. Rovněž výsledek bakteriocinové aktivity odpovídá popisu jiných autorů (Balusek a Hájek, 1985; Müller a Blobel, 1987). Oba tyto soubory testů považujeme za významné pro detailnější charakteristiku kmenů, kterou si může vyžádat nutnost epizootologické analýzy při výskytu onemocnění vyvolaného *S. hyicus*. Výjimku zde představuje senzitivita k novobiocinu, která má diagnostický význam.

Nejsme jedinými autory, kteří předkládají návrh rychlé diagnostiky *S. hyicus*. Devriese (1977) doporučil jako postačující pro rutinní diagnostiku negativní pigmentaci a negativní „clumping-faktor“, pozitivní dekompozici Tween 80 a pozitivní produkci termonukleázv. Později svůj návrh rozšířil o pozitivní produkci hyaluronidázv a negativní produkci stafylokokového beta-toxinu (Devriese, 1979). Phillips a Kloos (1981) považují za rychlé rutinní diagnostické schéma průkaz koagulázy v „Coagulase-plasma, Difco“, negativní produkci pigmentu a negativní fermentaci maltózv, zejména v „Purple agar base, Difco“. Náš návrh rychlého diagnostického postupu, vycházející z výsledků předložené studie, se blíží Devriesově koncepci. Je založen na čtyřech snadno realizovatelných plotnových testech hodnotitelných po 24 hodinách inkubace, které nevyžadují doplňkové zpracování a pro

kteří lze použít snadno dostupných médií i ingrediencí. Doporučené testy spolehlivě diferencují *S. hyicus* od ostatních koaguláza-pozitivních i koaguláza-negativních druhů. V převážné většině případů není pro vyslovení diagnózy nutné určovat fermentační aktivitu, která, ať již formou mikrotestu nebo konvenční metody, má potom jen komplementární význam v určení *S. hyicus*.

Literatura

- BALUSEK, J. — HÁJEK, V.: Antagonistic activities of coagulase-positive staphylococci. *J. Hyg. Epidemiol. Microbiol. Immunol.*, 28, 1985, s. 147-154.
- BIBERSTEIN, E. L. — JANG, S. S. — HIRSH, D. D.: Species distribution of coagulase-positive staphylococci in animals. *J. clin. Microbiol.*, 19, 1984, s. 610-615.
- COX, H. U. — NEWMAN, S. S. — ROY, A. F. — HOSKINS, J. D.: Species of *Staphylococcus* isolated from animal infections. *Cornell Veter.*, 74, 1984, s. 127-135.
- DEVRIESE, L. A.: Isolation and identification of *Staphylococcus hyicus*. *Amer. J. veter. Res.*, 38, 1977, s. 787-792.
- DEVRIESE, L. A.: Identification of clumping-factor-negative staphylococci isolated from cows' udders. *Res. veter. Sci.*, 27, 1979, s. 313-320.
- DEVRIESE, L. A. — KEYSER de, H.: Prevalence of different species of coagulase negative staphylococci on teats and in milk samples from dairy cows. *J. Dairy Res.*, 47, 1980, s. 155-158.
- DEVRIESE, L. A. — NZUAMBE, D. — GODART, C.: Identification and characteristics of staphylococci isolated from lesions and normal skin of horses. *Veter. Microbiol.*, 10, 1984, s. 269-277.
- DEVRIESE, L. A. — SCHLEIFER, K. H. — ADEGOKE, G. O.: Identification of coagulase-negative staphylococci from farm animals. *J. appl. Bact.*, 58, 1985, s. 45-55.
- DEVRIESE, L. A. — VLAMINCK, K. — NUYTTEN, J. — KEERSMAECKER de, P.: *Staphylococcus hyicus* in skin lesions of horses. *Equine veter. J.*, 15, 1983, s. 263-265.
- DEVRIESE, L. A. — HÁJEK, V. — OEDING, P. — MEYER, S. A. — SCHLEIFER, K. H.: *Staphylococcus hyicus* (Sompolinsky, 1953) comb. nov. and *Staphylococcus hyicus* subsp. *chromogenes* subsp. nov. *Int. J. syst. Bact.*, 28, 1978, s. 482-490.
- GUDDING, R.: Nuclease of *Staphylococcus epidermidis* isolated from mastitic milk. *Acta veter. scand.*, 21, 1980, s. 1-11.
- HÁJEK, V. — DEVRIESE, L. A. — MORDARSKI, M. — GOODFELLOW, M. — PULVERER, G. — VARALDO, P. E.: Elevation of *Staphylococcus hyicus* subsp. *chromogenes* (Devriese et al., 1978) to species status: *Staphylococcus chromogenes* (Devriese et al., 1978) comb. nov. *Syst. appl. Microbiol.*, 8, 1986, s. 169-173.
- HARVEY, J. — GILMOUR, A.: Application of current methods for isolation and identification of staphylococci in raw bovine milk. *J. appl. Bact.*, 59, 1985, s. 207-221.
- HOGAN, J. S. — WHITE, D. G. — PANKEY, J. W.: Effects of teat dipping on intramammary infections by staphylococci other than *Staphylococcus aureus*. *J. Dairy Sci.*, 70, 1987, s. 873-879.
- KLOOS, W. E. — SCHLEIFER, K. H.: Genus IV. *Staphylococcus* Rosenbach 1884, s. 1013-1035. In: SNEATH, P. H. A. et al. (ed.): *Bergey's manual of systematic bacteriology*. 1st ed. Vol. II. Baltimore, London, Los Angeles, Sydney, Williams and Wilkins 1986, s. 965-1595.
- LANGLOIS, B. E. — HARMON, R. J. — AKERS, K.: Identification of *Staphylococcus* species of bovine origin with the DMS Staph-Trac system. *J. clin. Microbiol.*, 20, 1984, s. 227-230.
- MÜLLER, H. P. — BLOBEL, H.: Isolation and characterization of a staphylococcal enzyme bacteriolytic on streptococci. *Zbl. Bakt. Hyg., R. A.*, 264, 1987, s. 41-48.
- PHILLIPS, W. E. jr. — KLOOS, W. E.: Identification of coagulase-positive *Staphylococcus intermedius* and *Staphylococcus hyicus* subsp. *hyicus* isolates from veterinary clinical specimen. *J. clin. Microbiol.*, 14, 1981, s. 671-673.
- SHIMIZU, A. — KAWANO, J. — TERANISHI, H. — HAZUE, S. — FUJINAMI, T. — KIMURA, S. — SUGIHARA, K.: Isolation of *Staphylococcus* species from the tonsils of healthy pigs and phage patterns of isolates. *Jap. J. veter. Sci.*, 49, 1987, s. 703-709.

SKALKA, B.: Studium *Staphylococcus aureus* boviní provenience a srovnání s kmeny izolovanými z jiných hostitelů. [Závěrečná zpráva výzk. úkolu.] Brno, Vysoká škola veterinární 1980. 44 s.

SKALKA, B.: Výzkum ekologie a zkřížené patogenity kmenů *Staphylococcus aureus* z různých hostitelů. [Závěrečná zpráva výzk. úkolu.] Brno, Vysoká škola veterinární 1984. 45 s.

SKALKA, B.: Hyaluronidázový test v diagnostice stafylokoků. Veter. Med. (Praha), 30, 1985a, s. 373-378.

SKALKA, B.: Stafylokokové bakteriociny — jejich současnost a perspektivy. Veterinářství, 35, 1985b, s. 316-317.

SKALKA, B.: *Staphylococcus hyicus* — ekologický význam a diagnostická problematika. Veterinářství, 37, 1987, s. 201-203.

SNEATH, P. H. A. — MAIR, N. S. — SHARPE, M. E. — HOLT, J. G. (eds.): Bergey's manual of systematic bacteriology. 1st ed. Vol. II. Baltimore, London, Los Angeles, Sydney, Williams and Wilkins 1986, s. 965-1595.

SOMPOLINSKY, D.: De l'impetigo contagiosa suis et du *Micrococcus hyicus* n. sp. Schweiz. Arch. Tierheilkunde, 95, 1953, s. 302-309.

WATTS, J. L.: Impact of new staphylococcal species descriptions on mastitis research. Kieler milchwirtsch. Forsch.-Ber., 37, 1985, s. 549-553.

WATTS, J. L. — OWENS, W. E. — NICKERSON, S. C.: Evaluation of the Minitek Gram-positive set for identification of staphylococci isolated from the bovine mammary gland. J. clin. Microbiol., 23, 1986, s. 873-875.

WATTS, J. L. — PANKEY, J. W. — NICKERSON, S. C.: Evaluation of the Staph-Ident and STAPHase systems for identification of staphylococci from bovine intramammary infections. J. clin. Microbiol., 20, 1984, s. 448-452.

Došlo dne 4. 1. 1988

СКАЛКА, Б. (Институт ветеринарии Брно): Изолирование штаммов *Staphylococcus hyicus* из здоровых хозяев и диагностическое изучение штаммов. Veter. Med. (Praha), 33, 1988 (10) : 607-616.

На *S. hyicus* мы обследовали некоторые органы 140 поросят, 148 коров и 80 кур домашних. Обследуемые животные были без симптомов заболевания. Сразу же после забоя мы культивировали пробы из органов этих животных в бульоновой питательной среде с налидиксовой кислотой и колистином с последующим субкультивированием в агаровой питательной среде, содержащей Твин-80 и диагностикой твиназа позитивных штаммов. Изолирование штаммов *S. hyicus* получилось из легких поросят, коров и кур домашних, с тонзил поросят и скота и с паренхимы млечной железы коров. Самым частым находкам при изолировании *S. hyicus* соответствовали тонзилы поросят, наименьшее количество изолирований было с паренхимы молочной железы скота. Группа 84-х штаммов расширилась на 8 штаммов из эпидермид поросят и 16 штаммов, определенных иными авторами. У всех штаммов мы определяли биохимическую активность, чувствительность к некоторым антибиотикам и продукцию бактерицидных экзотоксинов. За исключением вариабельной протеолитической активности и низкой чувствительности к бацитрацину мы не нашли отклонений от свойств, присущих *S. hyicus*. 14 штаммов имело бактерицидную активность. На основании полученных результатов предлагаем способ быстрой диагностики, надежно дифференцирующий *S. hyicus* от остальных стафилококковых видов, основывающийся на показании негативной гемолитической активности в агаре с овечьими эритроцитами, негативной продукции пигмента, позитивной продукции гиалуронидазы, характерного роста на агаре с кристаллическим фиолетовым красителем.

Staphylococcus hyicus; появление у здоровых хозяев; быстрая диагностика вида

SKALKA, B. (University of Veterinary Medicine, Brno): Isolation of *Staphylococcus hyicus* Strains from Healthy Hosts and a Diagnostic Study of the Strains. Veter. Med. (Praha), 33, 1988 (10) : 607-616.

Some organs of 140 pigs, 148 dairy cows and 80 birds (domestic fowl) were examined to see whether they host *S. hyicus*. The animals were free from disease symptoms. The organ samples of these animals were cultivated immediately after slaughter:

broth medium with nalidixic acid and colistin was used as the cultivation medium, from which the specimens were transferred to agar medium containing Tween 80 for subcultivation and for the identification of tweenase-positive strains. *S. hyicus* was successfully isolated from the lungs of pigs, cattle and fowl, from the tonsils of pigs and cattle, and from the parenchyma of the bovine mammary gland. The isolations were most frequent from the tonsils of pigs and the lowest number of isolations was obtained from the parenchyma of the udders of cows. The set of 84 strains was extended by inclusion of eight strains from swine epidermis and 16 strains identified by other authors. Biochemical activity, sensitivity to some antibiotics, and production of bacteriocin exo-substances were determined in all the strains. No deviations from the properties required from *S. hyicus* were recorded, except for the variable proteolytic activity and low sensitivity of bacitracin. Bacteriocin activity was recorded in 14 strains. A rapid diagnostic method is proposed on the basis of the results for reliable differentiation of *S. hyicus* from other staphylococcal species. The method is based on the demonstration of negative haemolytic activity on agars with ovine erythrocytes, negative production of pigment, positive production of hyaluronidase, and characteristic growth on agar with crystal violet.

Staphylococcus hyicus; occurrence in healthy hosts; rapid diagnostic of species

SKALKA, B. (Veterinärmedizinische Hochschule, Brno): *Isolierung von Staphylococcus hyicus-Stämmen aus gesunden Wirten und diagnostische Studie der Stämme*. Veter. Med. (Praha), 33, 1988 (10) : 607-616.

Wir untersuchten einige Organe von 140 Schweinen, 148 Milchkühen und 80 Individuen des Haushuhns in bezug auf die Eventualität Träger des *Staphylococcus hyicus* zu sein. Die untersuchten Tiere waren jeglicher Krankheitssymptomebar. Unmittelbar nach dem Schlachten kultivierten wir die entnommenen Organproben dieser Tiere in einem Bouillonmedium mit Nalidixinsäure und Kolistin, mit nachfolgender Subkultivation auf ein Tween 80 enthaltendes Agarmedium und einer Diagnostizierung tweenase-positiver Stämme. Eine Isolierung des *S. hyicus* gelang aus den Lungen von Schweinen, Rindern und Haushühnern, aus den Tonsillen von Schweinen und Rindern und aus dem Parenchym der bovinen Milchdrüse. Am häufigsten wurde *S. hyicus* in den Schweinetonsillen erfaßt, die niedrigste Zahl der Isolierungen kam aus dem Parenchym der bovinen Milchdrüse. Die Kollektion der 84 Stämme erweiterte sich um acht weitere Stämme aus Epidermitiden von Schweinen und um 16 durch andere Autoren bestimmte Stämme. Bei sämtlichen Stämmen ermittelten wir die biochemische Aktivität, die Sensitivität zu einigen Antibiotika sowie die Produktion bakterioziner Exosubstanzen. Abgesehen von der variablen proteolytischen Aktivität und der geringen Sensitivität zu Bazitrazin, stellten wir keine Abweichungen von den für *S. hyicus* verlangten Eigenschaften fest. Aufgrund der erzielten Ergebnisse unterbreiten wir einen Vorschlag einer raschen Diagnostik, die *S. hyicus* von anderen Staphylokokkenarten zuverlässig zu differenzieren vermag und die auf den Nachweisen einer negativen hämolytischen Aktivität auf Agar mit Schaferythrozyten, einer negativen Pigmentproduktion, einer positiven Hyaluronidaseproduktion und dem charakteristischen Wachstum auf Agar mit Kristallviolett, beruht.

Staphylococcus hyicus; Vorkommen auf gesunden Wirten; rasche Artendiagnostik

Adresa autora:

Doc. MVDr. Boris Skalka, CSc., Vysoká škola veterinární, Palackého 1-3, 612 42 Brno

POSTMORTÁLNÍ TVORBA ANORGANICKÉHO FOSFORU VE SKELETÁLNÍCH SVALECH PRASAT VE VZTAHU K DETEKCI PSE MASA

B. Novotná, Z. Dvořák

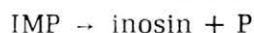
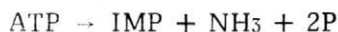
NOVOTNÁ, B. — DVOŘÁK, Z. (Výzkumný ústav masného průmyslu, Brno): *Postmortální tvorba anorganického fosforu ve skeletálních svaích prasat ve vztahu k detekci PSE masa*. Veter. Med. (Praha), 33, 1988 (10) : 617-623.

Sledovali jsme obsah anorganického fosforu a pH_i ve svaích prasat se zaměřením na výskyt PSE masa a hledali jsme jejich vzájemný vztah. Zjistili jsme, že obsah anorganického fosforu se zvyšuje lineárně s poklesem pH_i . Metabolické procesy vedoucí k uvolňování anorganického fosforu však nejsou bezprostředně závislé na rychlosti glykolýzy. Uvolňování fosfátových iontů není za jednu hodinu po porážce prasat skončeno a postupně pokračuje. Tyto ionty se pouze nespecificky podílejí na zvyšování koncentrace elektrolytů ve svaích *post mortem*, přičemž hlavní podíl na tomto zvýšení mají vodíkové ionty a ionty laktátu. Fosfátové ionty tedy nejsou vhodným parametrem pro detekci PSE masa.

fosfát; glykolýza; ATP; ADP; AMP; IMP; fosforylkreatin

Po porážce zvířete probíhají v jeho svalové tkáni reakce v podstatě stejného typu jako ve zvířeti zdravém. Šok vyvolaný v okamžiku porážky nebo při omráčení způsobuje vyplavení hormonů dřeně nadledvinek do krve a postačuje k aktivaci enzymů katalyzujících glukolýzu. Vlastním aktivátorem je především cyklický adenosinmonofosfát, který spouští mechanismus přeměny fosforylázy *b* na fosforylázu *a*, a tedy vlastního rozkladu glykogenu na kyselinu mléčnou (Dvořák, 1988). Tvorba 2 molů laktátu z glukózové jednotky glykogenu vyžaduje vstup celkem 4 molů anorganického fosfátu, které jsou v průběhu glykolýzy zhodnoceny skladováním volné energie ve formě 4 molů ATP, tvořených z původních 4 molů ADP.

Vlastní proces glykolýzy se tedy bezprostředně nepodílí na zvyšující se koncepci anorganického fosfátu ve svaích *post mortem*. Ta se však nutně musí zvyšovat před nástupem rigoru mortis v důsledku rozkladu nukleotidů adeninu a inosinu. Bendall a Davey (1957) sledovali změny těchto nukleotidů ve vztahu k uvolňování amoniaku v králičím svalu před nástupem rigoru mortis. Dvořák (1958) analyzoval rozklad nukleotidu adeninu v hovězím svalu *post mortem*. Z těchto prací vyplývá, že podobně jako amoniak i anorganický fosfát se uvolňuje v ekvimolárních poměrech, které lze vyjádřit rovnicemi:



Postupnou defosforylací a deaminací ATP, ADP a AMP se tedy nutně musí uvolňovat fosfátové ionty. K tomu přistupují další okolnosti: 1. ATP se resyntetizuje z fosforylkreatinu až do jeho úplného vyčerpání (Wilkie, 1986); 2. koncentrace ATP se blíží nule při nástupu rigoru mortis (Bate-Smith a Bendall, 1949).

Podle Lowensteina a Goodmana (1978) je v jednom gramu sušiny svalu v klidovém stavu přítomno v průměru 28,8 μmol nukleotidů (ATP + ADP + AMP + IMP) a 84,0 μmol fosforylkreatinu. Teoreticky by se z těchto sloučenin mohlo uvolňovat 33 μmol fosforu v 1 g svalu, tj. 1,02 mg $\cdot \text{g}^{-1}$. Toto množství odpovídá právě polovině celkového obsahu fosforu, který se uvádí pro čistou svalovinu prasat (Soucí aj., 1962).

Za předpokladu, že glykolytické procesy ve svalu *in vivo* probíhají při současné hydrolýze ATP, nutně se zvyšuje také koncentrace anorganického fosfátu (Wilkie, 1986). Probíhají-li tyto reakce podobně i ve svalech *post mortem*, pak by měl existovat určitý vztah mezi zvyšující se koncentrací vodíkových iontů, resp. pH, a zvyšující se koncentrací anorganického fosfátu. Tento vztah byl hledán a výsledky jsou předmětem předkládaného sdělení.

Studie byla orientována na vztah k možné detekci PSE masa na základě analýzy anorganického fosforu. PSE maso se vyznačuje abnormálně rychlou glykolýzou a v důsledku toho rychle se snižujícím pH masa po porážce prasat. Konečným důsledkem této abnormality jsou ztráta barvy masa a snížená vaznost v důsledku denaturace sarkoplazmatických bílkovin (Dvořák, 1988). PSE vepřové maso je charakterizováno na základě tří parametrů (TGL, 1981; Státní plemenářské podniky, 1980): pH za 45 minut po porážce rovným nebo nižším než 5,8; světlostí masa, měřenou remisí kolorimetricky, rovnou nebo vyšší než 25 %; ztrátou hmotnosti odkapáním, rovnou nebo vyšší než 5 %.

Často se k hodnocení používá pouze měření pH, které je provozně nejjednodušší, vyžaduje však odborné zacházení se skleněnou vpichovací elektrodou, jejíž trvanlivost je omezená. Možností zavést koncentraci anorganického fosfátu jako kritéria pro PSE maso by se získal další parametr, který lze zjistit i v provozních podmínkách s dostatečnou přesností.

MATERIÁL A METODA

Předmětem studie byl *m. longissimus lumborum et thoracis* u prasat z běžného příhonu na brněnské jatky. pH jsme měřili a vzorky jsme odebírali jednak u náhodně vybraného souboru 120 prasat, jednak u souboru vybraného podle $\text{pH}_i < 5,9$, ve kterém byly 73 kusy. pH_i jsme zjišťovali digitálním pH-metrem Orion, model 221, s připojenou vpichovací elektrodou Orion 8163 Ross v oblasti mezi 13. a 14. žebrem.

Měřili jsme na konci porážkové linky, což podle běžného taktu linky v průměru odpovídá době 45 minut *post mortem*. Hodnoty získané v tomto čase jsme označili jako pH_i . Vzorky svalů pro stanovení anorganického fosforu jsme odebírali na totéž místě ihned po měření pH. Asi 250 mg vyříznuté svalové tkáně jsme položili na filtrační papír Whatman č. 1 a stlačením mezi dvěma kompresními skly po dobu pěti minut jsme získali otisk, vzniklý vsáknutím svalové tekutiny do filtračního papíru. Otisk představující kruh o průměru 3 až 20 cm^2 jsme nechali uschnout a uschovali jsme jej k pozdějším analýzám anorganického fosforu v laboratoři. Způsob zpracování svalu do formy otisku umožňuje získat určitou část sarkoplazmy, která se vsákla do filtračního papíru. Kromě sarkoplazmatických bílkovin obsahuje

také převážnou většinu ve vodě rozpustných nízkomolekulárních látek, včetně nukleotidů, fosforylkreatinu a fosfátových iontů. Rychlým vysušením otisku je znemožněna další činnost glykolytických enzymů, nukleotidáz, nukleosidáz, popřípadě kreatinfosfokinázy, které by mohly způsobit další uvolňování anorganického fosfátu.

Jak uvádí Dvořák (1984), plocha otisku není jednoznačně závislá na hmotnosti vzorku svalu, ale je závislá na pH, na schopnosti svalu vázat přidanou vodu, popř. uvolňovat svalovou šťávu, na tlaku a době jeho působení při získávání otisku a také na obsahu bílkovin pojivové tkáně ve vzorku. Z těchto důvodů je zbytečné svalový vzorek vážit. Bylo zjištěno, že ihned po porážce je obsah bílkovin s obsahem kreatinu v lineární závislosti, jestliže byly analýzy otisku vztaženy na plochu 1 cm². To znamená, že v otisku jsou rovnoměrně zastoupeny tyto složky sarkoplazmy bez ohledu na velikost otisku. Lze tedy očekávat, že i fosfátové ionty jsou vždy v otisku podobně zastoupeny. Tato metoda není zcela přesná. Dvořák (1984) zjistil, že 1 cm² otisku různých svalů prasat (s výjimkou svalu klížky a *m. sternomandibularis*, bohatých na obsah glykogenu) obsahuje průměrně 356 µg bílkovin s variačním koeficientem 12,1 %. Otisk z *m. longissimus thoracis* obsahoval v průměru 348 µg.cm⁻¹. S podobnou variabilitou lze počítat i při analýzách fosforu.

Anorganický fosfor v otisku jsme analyzovali extrakcí rozpustných sloučenin do roztoku kyseliny trichlóroctové a kolorimetrickým stanovením přítomných fosfátových iontů reakcí s vanadičnanem a molybdenanem amonným.

Z otisku jsme vyřízli proužky tak, aby neobsahovaly jeho okraje, vložili je do kyvety spektrofotometru Chiratic LX a extrahovali přidavkem 3,0 ml kyseliny trichlóroctové (30 g.l⁻¹) po dobu 30 minut. Když jsme proužek vyjmuli, přidali jsme k extraktu 3,0 ml činidla připraveného smícháním stejných dílů roztoku molybdenanu amonného ($c = 30 \text{ mmol.l}^{-1}$) a vanadičnanu amonného ($c = 2 \text{ mmol.l}^{-1}$). Po smíchání jsme za 20 minut měřili intenzitu žlutého vybarvení roztoku při 400 nm. K získání kalibrační křivky jsme použili Na₂HPO₄ · 12 H₂O p.a., obsahující 20 µg P.ml⁻¹. Zjištěný obsah fosfátových iontů jsme přepočítali na µg anorganického fosforu v otisku o ploše 1 cm².

Hodnoty anorganického fosforu získané z otisků lze interpretovat ve vztahu k dříve zjištěnému obsahu bílkovin v otisku (Dvořák, 1984), jenž činil 348 µg v 1 cm². V případě, že by veškerý fosfor ve svalu (2 mg.g⁻¹) byl přítomný v rozpustné formě a stejnoměrně distribuovaný ve frakci sarkoplazmatických bílkovin (přítomných v průměrném množství 38 mg.g⁻¹) tvořících otisk, pak 18 µg P.cm⁻² je ekvivalentní 2 mg P v 1 g svalu. Polovina tohoto množství, tj. 9 µg.cm⁻², by odpovídala fosforu, který se teoreticky může uvolnit z fosforylkreatinu a nukleotidů adeninu nebo inosinu.

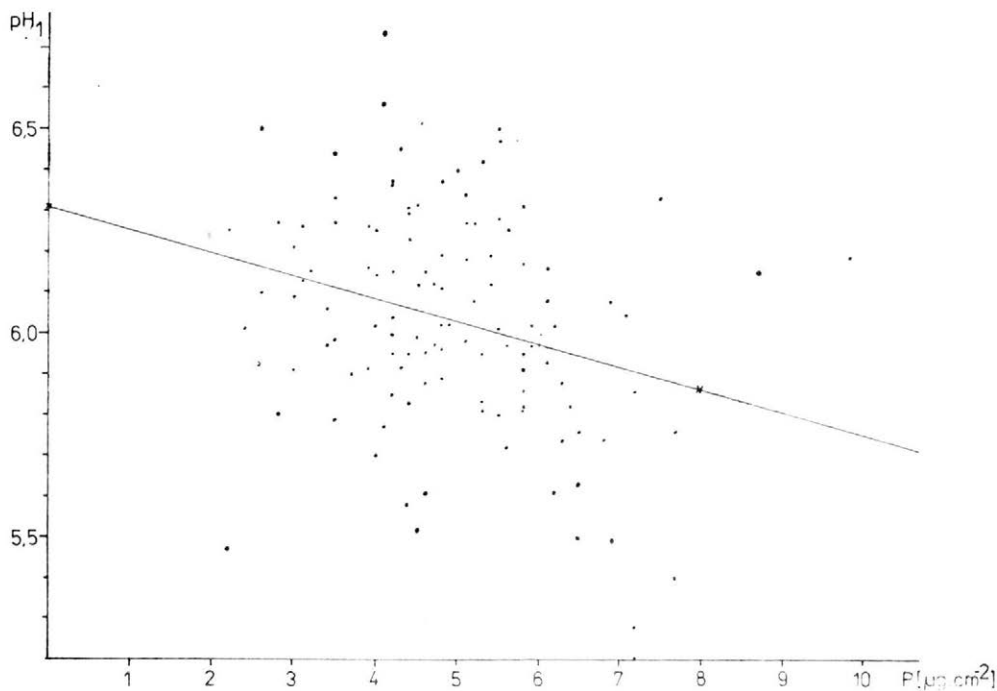
VÝSLEDKY

Vztah mezi hodnotami pH_i a koncentrací anorganického fosforu v otiscích svalové tkáně z *m. longissimus lumborum et thoracis*, zjištěných v náhodně vybraném souboru prasat, je uveden na obr. 1. Vyplývá z něho také variabilita v hodnotách pH_i i v obsahu fosforu. Lze pozorovat, že glykolýza indikovaná hodnotami pH_i probíhá ve svalech náhodně vybraného souboru prasat zcela nestejně; kromě typického průběhu (rozmezí pH_i 6,2–5,8), vyznačujícího normální maso, nacházíme i případy ukazující na PSE maso (pH_i ≤ 5,8).

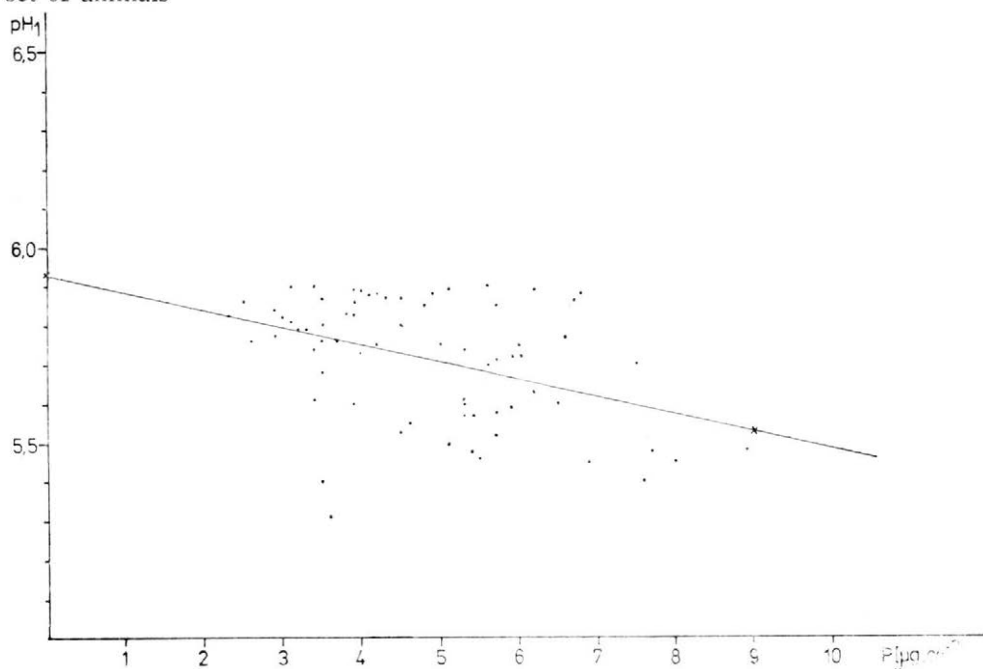
Statisticky byly hodnoty vyhodnoceny lineární rovnicí regresní přímky, pro niž platí: $y = 6,3091 - 0,056 x$, $s_b = \pm 0,011$, $r = -0,2805$.

Z rovnice vyplývá, že anorganický fosfor se v 1 cm² otisku zvyšuje přibližně o 2 µg při poklesu pH_i o jednu desetinu. Korelace mezi oběma parametry je však statisticky nevýznamná.

Skupina hodnot při koncentraci fosforu v rozmezí 6 až 7 µg a pH_i nižším než 5,8 vedla k domněnce, že u PSE masa, charakterizovaného právě podle pH_i, by se mohlo uvolňovat více anorganického fosforu než při běžném průběhu glykolýzy. Z toho důvodu byla větší pozornost věnována výběru vzorků pro analýzy fosforu prasat, u nichž bylo zjiště-



1. Závislost pH_i na koncentraci anorganického fosforu v otiscích svalové tkáně z náhodně vybraného souboru — Relation of pH_i value to the concentration of inorganic phosphorus in the imprints of muscular tissue from a randomly selected set of animals



2. Závislost pH_i na koncentraci anorganického fosforu v otiscích svalové tkáně ze souboru s pH_i menším nebo rovným 5,9 — Relation of pH_i value to the concentration of inorganic phosphorus in the imprints of muscular tissue from a set of animals with pH_i lower than or equal 5.9

no $pH_i = 5,9$ a méně, tedy v případech s indikací PSE masa. Tímto způsobem byla vybírána další skupina 73 prasat, u nichž byly zjištěny hodnoty uvedené v obr. 2. Získané hodnoty probíhají zdánlivě podle jiného vztahu než podle rovnice dříve uvedené. Doplněním tohoto souboru o hodnoty s $pH_i \leq 5,9$ (uvedené v obr. 2) bylo prokázáno, že jde pouze o část stejného souboru.

DISKUSE

pH_i a anorganický fosfor ve svalu jsme sledovali v časovém úseku asi 45 až 60 minut po porážce prasat. V této době nejsou ještě ukončeny autolytické procesy, které ve svalech *post mortem* probíhají. Za hodinu po porážce našel Lawrie (1960) v *m. longissimus lumborum et thoracis* ještě $6,28 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$ glykogenu, $8,3 \%$ ATP-fosforu a $18,9 \%$ fosforylkreatinového fosforu (u ATP se jedná o fosfor labilní) z celkem rozpustného fosforu, kterého zjistil $2,04 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$. Při těchto hodnotách nalezl průměrné pH_i 6,71, při konečném pH_{24} 5,45.

Z experimentálních dat vyplývá, že průměrné pH_i je 6,03 při měření na náhodně vybraném souboru prasat. Jednotlivé hodnoty pH se však pohybují v rozmezí 6,74 až 5,47, tedy v hodnotách, které Lawrie (1960) uvádí jako průměrné. Nižší hodnoty odpovídají konečným hodnotám pH_{24} . Je tedy zřejmé, že ve sledovaném souboru prasat byly i kusy s příznaky PSE masa, tedy s ukončenou glykolýzou. Skutečnost, že průměrné pH_i 6,03 je nižší než průměr, který uvádí Lawrie (1960), také naznačuje na četnost výskytu PSE masa.

Značná variabilita pH_i je doprovázena také značnou variabilitou zjištěného obsahu anorganického fosforu, jehož průměr je $5 \mu\text{g} \cdot \text{cm}^{-2}$. Analýzy fosforu z otisků mají semikvantitativní charakter, přesto však lze z výsledků činit závěry v tom smyslu, že hydrolýza fosfátových iontů není za hodinu po porážce prasat ukončena a postupné uvolňování anorganického fosforu by pokračovalo dále. Končilo by pravděpodobně až při zjištění průměrného obsahu $18 \mu\text{g P} \cdot \text{cm}^{-2}$ (podle úvahy z metodiky).

Obsah anorganického fosforu se zvyšuje lineárně s poklesem pH_i , i když toto zjištění není statisticky významné, jak vyplývá z korelačního koeficientu rovnice regresní přímky mezi pH_i a P ($r = -0,281$). Zvýšení P o $2 \mu\text{g} \cdot \text{cm}^{-2}$ při snížení pH_i o jednu desetinu nesvědčí o přímém vztahu mezi rychlostí glykolýzy a zvyšující se koncentrací fosforu. Jak uvádí Needhamová (1942), je rychlost poklesu pH kontrolována rychlostí štěpení ATP. Tento názor ovšem nevylučuje skutečnost, že ztráty ATP jsou ihned nahrazovány resyntézou ATP z ADP, přičemž donorem fosfátu a volné energie potřebné k resyntéze je fosforylkreatin, kterého je ve svalu zvířete v klidovém stadiu asi $17 \mu\text{mol} \cdot \text{g}^{-1}$ (Lowenstein a Goodman, 1978). K resyntéze ATP dochází až do úplného vyčerpání fosforylkreatinu, teprve pak se koncentrace ATP blíží nule — ve stadiu *rigor mortis*.

Rozklad ATP na ADP by poskytl $5 \mu\text{mol P} \cdot \text{g}^{-1}$, čili $154 \mu\text{g P} \cdot \text{g}^{-1}$, na otisku by se projevil zvýšením obsahu fosforu přibližně o $0,7 \mu\text{g} \cdot \text{cm}^{-2}$. Tato reakce nepochybně probíhá již v první fázi *post mortem*. Hydrolýza však pokračuje při opětovné resyntéze ATP z fosforylkreatinu a končí vyčerpáním fosfátových iontů z obou těchto látek, při uvolnění

dalších 523 $\mu\text{g P.g}^{-1}$, jež by se na otisku projeví zvýšením obsahu fosforu přibližně o dalších 2,4 $\mu\text{g.cm}^{-2}$. Při zjištěném průměrném obsahu fosforu 5 $\mu\text{g.cm}^{-2}$ lze soudit, že tyto reakce v podstatě proběhly. Lawrie (1960) zjistil, že ve sledované době existují ještě zbytky ATP a fosforylkreatinu a že je možné, že reakce neproběhla ještě kvantitativně. Na zvýšení anorganického fosforu se však podílejí zcela jistě i další reakce, např. $\text{ATP} \rightarrow \text{AMP} + 2\text{P}$ při okamžitém následném uvolnění amoniaku za tvorby IMP. Dalším zdrojem anorganického fosforu jsou patrně nukleové kyseliny. Rozkládají se činností nukleotidáz. Jsou to typické autolytické reakce, se kterými je nutno ve svalů *post mortem* počítat, zejména při postupně se zvyšující teplotě svalové tkáně (vlivem získané volné energie rozkladem makroergických fosfátových vazeb) a dostatečně vysokém pH.

Tyto změny vedou k uvolňování anorganického fosforu, nejsou však bezprostředně závislé na rychlosti glykolýzy. V tom také spočívá vysvětlení, proč ve svaích charakterizovaných jako PSE maso nebyla zjištěna koncentrace anorganického fosforu významně vyšší než ve svaích, ve kterých probíhá glykolýza nižší rychlostí.

Nezdařil se tedy původní záměr indikovat PSE maso ještě na konci porážkové linky, např. náhradou skleněné pH elektrody za elektrodu selektivní na fosfátové ionty, nebo vhodnými selektivními indikačními reakcemi. Z výsledků lze soudit, že fosfátové ionty se jako celek nespécificky podílejí na zvyšování koncentrace elektrolytů ve svaích *post mortem*, přičemž hlavní podíl na tomto zvýšení mají vodíkové ionty a ionty laktátu.

Literatura

- BATE-SMITH, E. C. — BENDALL, J. R.: Factors determining the time course of *rigor mortis*. J. Physiol., 110, 1949, s. 47-65.
- BENDALL, J. R. — DAVEY, C. L.: Ammonia liberation during *rigor mortis* and its relation to changes in the adenine and inosine nucleotides of rabbit muscle. Biochim. biophys. Acta, 26, 1957, s. 93-103.
- DVOŘÁK, Z.: Breakdown of adenine nucleotides in beef muscle *post mortem* and its relation to the content of ammonia. Experientia, 14, 1958, s. 133-134.
- DVOŘÁK, Z.: Obsah kreatinu v moči jako indikátor obsahu čistých svalových bílkovin a svalové hmoty v těle jatečných zvířat — teoretické předpoklady. Živoč. Vyr., 29, 1984, č. 5, s. 475-479.
- DVOŘÁK, Z.: Nutriční hodnocení masa jatečných zvířat. Praha, SNTL 1988, 261 s.
- LAWRIE, R. A.: *Post mortem* glycolysis in normal and exsudative *longissimus dorsi* muscles of the pig in relation to so-called white muscle disease. J. comp. Path., 70, 1960, č. 3, s. 273-295.
- LOWENSTEIN, J. M. — GOODMAN, M. N.: The purine nucleotide cycle in skeletal muscle. Fed. Proc., 37, 1978, s. 2308-2312.
- NEEDHAM, D. M.: The adenosinetriphosphatase activity of myosin preparations. J. Biochem., 36, 1942, s. 113-120.
- SOUCI, S. W. — FACHMANN, W. — KRAUT, H.: Die Zusammensetzung der Lebensmittel. 1. díl. Stuttgart, Wiss. Verlagsgesellschaft M. B. H. 1962.
- STÁTNÍ PLEMENÁŘSKÉ PODNIKY: Metodika sledování PSE a DFD masa u prasat prověřených ve stanicích kontroly dědičnosti a výkrmnosti a testovacích stanicích hybridů prasat. Hradištko 1980, 29 s.
- TGL 24704/28: Chemisch-physikalische Prüfung von Fleisch und Fleischerzeugnissen. Beurteilung der Muskelfleischqualität von geschlachteten Schweinen. DDR. 1981.
- WILKIE, D. R.: Muscular fatigue: effect of hydrogen ions and inorganic phosphate. Fed. Proc., 45, 1986, s. 2921-2923.

Došlo dne 4. 12. 1987

НОВОТНА, Б. — ДВОРЖАК, З. (Научно-исследовательский институт мясной промышленности, Брно): Постмортальное образование неорганического фосфора в скелетных мышцах поросят в отношении к определению PSE мяса. *Veter. Med. (Praha)*, 33, 1988 (10) : 617-623.

Мы изучали содержание неорганического фосфора и pH_i в мышцах поросят в замором на появление PSE мяса и пытались найти их взаимоотношение. Мы нашли, что содержание неорганического фосфора повышается прямолинейно со снижением pH_i . Метаболические процессы, ведущие к освобождению неорганического фосфора, однако не являются непосредственно зависимыми от скорости гликолиза. Освобождение фосфатных ионов не заканчивается через один час после забоя поросят, а постепенно продолжается. Эти ионы только неспецифически принимают участие в повышении концентрации электролитов в мышцах постмортем, причем главную долю на этом повышении имеют ионы водорода и ионы лактата. Следовательно, фосфатные ионы не являются удобным параметром для определения PSE мяса.

Фосфат; гликолиз; АТФ; АДФ; АМФ; ИМФ; фосфорилкреатин

NOVOTNÁ, B. — DVOŘÁK, Z. (Research Institute of Meat Industry, Brno): *Post-mortem Production of Inorganic Phosphorus in the Skeleton Muscle of Pigs in relation to Detection of PSE Meat*. *Veter. Med. (Praha)*, 33, 1988 (10) : 617-623.

The content of inorganic phosphorus and pH_i were studied in the muscles of pigs with special regard to the occurrence of PSE meat and mutual relationships were sought between the inorganic phosphorus and the pH_i . The content of inorganic phosphorus was found to grow linearly with decreasing pH_i . However, the metabolic processes leading to the release of inorganic phosphorus are not directly dependent on glycolysis rate. The release of phosphate ions is not finished within an hour after the slaughter of the pigs and the process continues. These ions contribute only non-specifically to the increase of electrolyte concentration in muscles *post mortem*, the main contribution being provided by hydrogen ions and lactate ions. Hence, the phosphate ions are not a suitable parameter for the detection of PSE meat.

phosphate; glycolysis; ATP; ADP; AMP; IMP; phosphorylcreatine

NOVOTNÁ, B. — DVOŘÁK, Z. (Forschungsinstitut der Fleischindustrie, Brno): *Postmortale Bildung anorganischen Phosphors in den Skelettmuskeln von Schweinen im Hinblick auf den Nachweis von PSE-Fleisch*. *Veter. Med. (Praha)*, 33, 1988 (10) : 617-623.

Wir untersuchten den Gehalt an anorganischem Phosphor und den pH_i -Wert in den Muskeln von Schweinen in bezug auf das Vorkommen von PSE-Fleisch und suchten ihre gegenseitige Beziehung aufzuklären. Wir stellten fest, daß der Gehalt des anorganischen Phosphors mit dem Rückgang des pH_i linear ansteigt. Die zur Freigabe des anorganischen Phosphors führenden Stoffwechselprozesse hängen jedoch von der Geschwindigkeit der Glykolyse nicht unmittelbar ab. Die Freigabe von Phosphationen ist während einer Stunde nach dem Schlachten der Schweine nicht beendet und setzt schrittweise fort. Diese Ionen sind an der Erhöhung der Elektrolytenkonzentration in den Muskeln *post mortem* nur unspezifisch beteiligt, wobei den Hauptanteil an dieser Erhöhung die Wasserstoff- und Laktationen bilden. Phosphationen sind daher kein geeigneter Parameter zum Nachweis von PSE-Fleisch.

Phosphat; Glykolyse; ATP; ADP; AMP; IMP; Phosphorylkreatin

Adresa autorů:

MVDr. Blanka Novotná, RNDr. Zdeněk Dvořák, CSc., Výzkumný ústav masného průmyslu, Palackého 1-3, 612 00 Brno

Upozorňujeme čtenáře, že v čísle 11 časopisu

VETERINÁRNÍ MEDICÍNA

mají být uveřejněny tyto příspěvky:

- V. Krupka, J. Šnoflák, R. Harnach: 70 let Biovety
- J. Zajac, A. Žuffa: Vyhodnotenie imunoenzymatickej reakcie pri kvantifikovaní protilátok proti vírusu infekčnej bovinnej rinotracheitídy
- M. Lopatářová, L. Holý: Kvalita embryí ve vztahu k jejich přežívání *in vitro*
- P. Kaláb, K. Hruška, O. Matoušková: Sledování funkce žlutého tělíska při poruchách reprodukce skotu
- Š. Faix, L. Leng, M. Szanyiová, R. S. Karimbayev, K. Boďa: Vplyv intrarenálnej infúzie jódacetátu na exkréciu močoviny u oviec
- L. Fukal, Z. Sova: Sledování výskytu aflatoxinů ve vejcích
- M. Dvořák, A. Láníková, I. Diblíková: Inhibiční účinek chemických látek na růst plísně *Aspergillus parasiticus* a na tvorbu aflatoxinu v kukuřici
- J. Lenárt, V. Kmeť: Identifikácia bachorových baktérií mikrobiologickými diagnostickými papierovými testami MIDIPA
- A. Lauková, V. Kmeť, Z. Joneciová: Charakterizácia adherentných ureolytických a amylolytických bachorových baktérií

**VPLYV INHIBÍTORA TRYPSÍNU ZO SEMIEN VIKY SIATEJ
NA RAST BACHOROVÝCH PROTOZOÍ *ENTODINIUM SIMPLEX*
IN VITRO**

**J. Smutný, Š. Ivanko, J. Várady, F. Gyulai, J. Strapáč, Z. Dičáková,
E. Šulík**

SMUTNÝ, J. — IVANKO, Š. — VÁRADY, J. — GYULAI, F. — STRAPÁČ, J. — DIČÁKOVÁ, Z. — ŠULÍK, E. (Ústav fyziológie hospodárskych zvierat SAV, Košice; Vysoká škola veterinárská, Košice): *Vplyv inhibítora trypsinu zo semien viky siatej na rast bachorových protozoí Entodinium simplex in vitro*. Veter. Med. (Praha), 33, 1988 (10) : 625-631.

Overovali sme neprítomnosť proteolytickej aktivity trypsinového typu (trypsin-like) v protozoách *Entodinium simplex*. Zisťovali sme, či inhibícia možnej trypsin-like proteolytickej aktivity bakteriálnej populácie kultivačného média ovplyvní rast protozoí. Bolo zistené, že: — za uvedených kultivačných podmienok nebola trypsin-like proteolytická aktivita stanoviteľná ani u protozoí *Entodinium simplex*, ani v populácii baktérií v kultivačnom médiu; — prítomnosť inhibítora trypsinu zo semien viky siatej neovplyvňuje negatívne rast protozoí za podmienok uvedených v práci; — pridávanie hrubého bielkovinového preparátu inhibítora trypsinu do kultivačného média čiastočne zlepšilo rast protozoí, ale zároveň spôsobilo nárast populácie baktérií pri súčasnom znížení ich proteolytickej aktivity.

bachorové protozoá; inhibítor trypsinu; vika siata

Protozoá sú významnou súčasťou bachorového ekosystému, ale ich úloha v bachore ešte nie je úplne objasnená. V bachorovej tekutine bežne tvoria okolo 50 % mikrobiálneho proteínu (Teather a i., 1984). Rowe a i. (1985) zistili podobný pomer celkových objemov baktérií a protozoí v bachorovej tekutine. Teather a i. (1984) zistili vysoko pozitívnu koreláciu medzi hladinami celkového mikrobiálneho proteínu a proteínu protozoí. Zároveň potvrdili negatívnu koreláciu medzi hladinou proteínu frakcie protozoí a hladinou proteínu bakteriálnej frakcie. Napriek tomu prežívavce môžu žiť dlhý čas aj bez prítomnosti protozoí v bachore (tzv. defaunované zvieratá).

Ushida a Jouany (1985) pri skúmaní účinku protozoí na degradáciu proteínu v bachore potvrdili, že baktérie majú dominantnú úlohu pri degradácii rozpustných proteínov a naopak protozoá zvyšujú degradáciu relatívne nerozpustných proteínov v bachore. Onodera (1986) zistil, že prítomnosť protozoí v mikrobiálnej suspenzii bachora vždy zvyšuje syntézu lyzínu z aspartátu. Bachorový obsah z faunovaných kôz tvoril vyššie množstvá lyzínu než z defaunovaných zvierat. Protozoá majú teda pozitívny účinok najmä pri degradácii menej hodnotných krmív s nižším obsahom rozpustných proteínov.

Pri skúmaní proteolytickej aktivity bachorových mikroorganizmov sa zistilo, že špecifická aktivita bakteriálnej frakcie bola šesťkrát až desaťkrát vyššia než špecifická aktivita protozoálnej frakcie. Značná časť proteolytickej aktivity baktérií (až do 40 %) je inhibovaná inhibítormi trypsínu zo sóje a tiež inými inhibítormi serínových proteáz (Brock a i., 1982). Aj Prins a i. (1983) zistili, že dominantnou proteolytickou aktivitou bachorových baktérií je aktivita podobná trypsínu (trypsin-like). Dominantnou proteolytickou aktivitou bachorových protozoí je aminopeptidázová aktivita. V menšej miere sa u oboch skupín na proteolytickej aktivite podieľajú karboxypeptidázy, metaloproteázy a proteázy podobné chymotrypsínu. Pri skúmaní proteázovej aktivity bachorových protozoí dospeli aj Forsberg a i. (1984) k záveru, že hlavnou proteolytickou aktivitou protozoí je aminopeptidázová aktivita a v menšom rozsahu proteázy asparátového typu.

Z uvedených zistení sa zdá, že inhibíciou trypsin-like aktivity v bachore by bolo možné zvýšiť podiel protozoálnej frakcie mikroorganizmov na úkor bakteriálnej frakcie, a zvýšiť tak konverziu niektorých ťažkorozpuštných rastlinných proteínov na mikrobiálnu bielkovinu ľahšie využiteľnú makroorganizmom. Prítomnosť inhibítora trypsínu by nemala negatívne ovplyvniť proteolýzu ani rast bachorových protozoí.

V tejto práci sme sledovali vplyv inhibítora trypsínu prítomného v semenách viky siatej na rast bachorových protozoí *Entodinium simplex*, kultivovaných *in vitro*.

MATERIÁL A METÓDY

Použité chemikálie boli od firmy Lachema (čistota p. a.) okrem kryštalického trypsínu (Léčiva, Praha) a azokazeínu, ktorý bol pripravený v našom laboratóriu kopuláciou kazeínu s diazotovanou kyselinou sulfanilovou podľa postupu, ktorý popísali Mahadevan a i. (1979).

Protozoá *Entodinium simplex* boli kultivované anaeróbne v atmosfére oxidu uhličitého v kultivačnom médiu s obsahom sterilizovanej bachorovej šťavy podľa Coleman a (1978).

Obsah proteínov bol stanovovaný Lowryho metódou, ktorú modifikoval Peterson (1977). Na kalibráciu bol použitý trypsin.

Celková proteolytická aktivita bola stanovená metódou, ktorú uviedli Kakade a i. (1969) na azokazeín vo fosfátovom tlmivom roztoku pH 7,6.

Proteolytická aktivita trypsinového typu bola stanovená Lachema testom na trypsin so syntetickým substrátom N- α -tosyl-L-arginín-4-nitranilid (L-TAPA) s tým rozdielom, že doba inkubácie bola predĺžená na štyri hodiny pri teplote 39 °C.

Hrubý preparát inhibítora trypsínu zo semien viky bol pripravený izoláciou s 0,01 N NaOH podľa autorov Rackis a i. (1974) a Smith a i. (1980). Bielkovinový extrakt bol uchovávaný pri teplote -20 °C až do použitia. Obsahoval 4,75 mg. ml⁻¹ proteínu s inhibičnou aktivitou 14,67 IJ na 1 g proteínu (1 IJ = = 68,16 mg proteínu).

Inhibičná jednotka (IJ) je definovaná ako množstvo proteínu, ktoré inaktívuje 1 mg aktívneho trypsínu (Norioka a i., 1982).

Kultivované protozoá boli rozdelené na tri skupiny, v každej boli použité tri kultivačné nádoby s objemom 50 ml kultivačného média.

Prvá skupina bola jedenkrát denne prikrmovaná 0,2 ml 6% suspenzie pšeničnej múky v destilovanej vode a cca 5 mg sušenej mletej trávy. Druhá skupina bola jedenkrát denne prikrmovaná 0,2 ml 6% suspenzie pšeničnej múky v roztoku hrubého preparátu inhibítora trypsínu zo semien viky (príprava popísaná vyššie) a cca 5 mg sušenej mletej trávy. Tretia skupina bola raz denne prikrmovaná 0,2 ml 6% suspenzie múky zo semien viky v destilovanej vode a cca 5 mg sušenej mletej trávy.

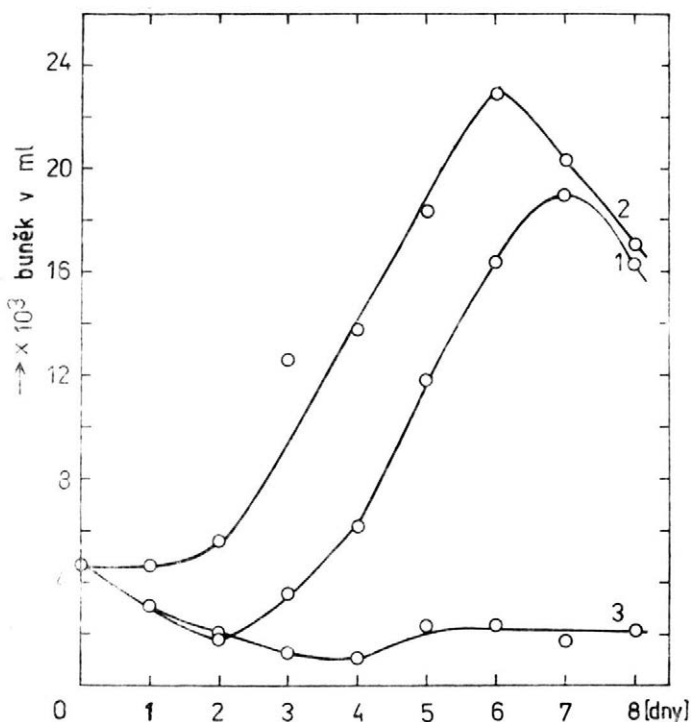
V jednotlivých nádobkách z každej skupiny boli denne sledované počty protozoí. Vzorky boli odoberané vždy pred kŕmením a počítané pod mikroskopom po fixácii s roztokom jódu. Po ôsmich dňoch kultivácie bol pokus ukončený.

V každej z troch skupín bola po ukončení pokusu stanovená trypsin-like aktivita a celková proteolytická aktivita pri pH 7,6 zvlášť pre samotné kultivačné médium, pre celú suspenziu, pre protozoálnu frakciu a pre suspenziu baktérií v kultivačnom médiu po odstránení protozoí. Z nameraných hodnôt boli počítané proteolytické aktivity protozoálnej a bakteriálnej frakcie tak, aby zodpovedali koncentrácii protozoí a baktérií v celkovom objeme kultivačného média.

Intracelulárne proteolytické enzýmy v suspenziách baktérií a protozoí boli uvoľňované sonifikáciou ultrazvukom 23 kHz za chladenia na ultrazvukovom generátore Soniprep 150 MSE. Protozoá boli z kultivačného média získané centrifugáciou 10 minút pri 1500 g. Baktérie a zvyšky buniek po sonifikácii boli odstraňované centrifugáciou 60 minút pri 20 000 g.

VÝSLEDKY A DISKUSIA

Priebeh rastových kriviek protozoí kŕmených pšeničnou múkou bez inhibítora (krivka 1 na obr. 1) a s inhibítorom (krivka 2 na obr. 1) ukazuje kratšiu adaptačnú fázu a rýchlejší rast počtu protozoí v prítomnosti inhibítora trypsínu. Na konci sledovaného obdobia sa počty protozoí oboch skupín vyrovnávajú. Priebeh rastu protozoí kŕmených len múkou zo semien viky (krivka 3 na obr. 1) ukazuje, že tieto podmienky sú pre rast protozoí nevhodné. Z tab. I vidieť, že prítomnosť inhibítora trypsínu nespôsobuje predpokladané zníženie rastu bakteriálnej frakcie. Nárast bakteriálnej frakcie v druhej skupine môže byť vysvetlený prídavaním bielkovinového extraktu zo semien viky. Zvýšený obsah rozpustných proteínov oproti prvej skupine môže spôsobiť aj zvýšený



1. Priebeh kultivácie protozoí *Entodinium simplex* in vitro (1, 2, 3 — rastové krivky jednotlivých pokusných skupín, ako sú uvedené v metodologickej časti) — The course of cultivation of *Entodinium simplex* protozoans in vitro (1, 2, 3 — growth curves of the individual experimental groups, as given in the methodical part)

I. Obsah bielkovín a celkové proteolytické aktivity v kultúrach *in vitro* protozoi *Entodinium simplex* (1, 2, 3 — jednotlivé pokusné skupiny, ako sú uvedené v metodologickej časti; a — obsah bielkovín v celkovom objeme kultivačného média; b — množstvo premeneného azokazeínu prepočítané na 1 ml vzorky; c — množstvo premeneného azokazeínu prepočítané na 1 mg proteínu vzorky; P — proteozoálna frakcia; B — bakteriálna frakcia; E — bezbunečná frakcia — kultivačné médium po kultivácii; C — celková suspenzia) — Protein content and over-all proteolytic activity in the *in vitro* cultures of *Entodinium simplex* protozoans (1, 2, 3 — individual experimental groups as given in the methodical part; a — protein content in over-all volume of nutrient medium; b — amount of converted azocasein converted per 1 ml of sample; c — amount of converted azocasein converted per 1 mg of protein sample; P — protozoan fraction; B — bacterial fraction; E — cellless fraction — nutrient medium after cultivation; C — suspension as a whole)

			P	B	E	C
1	a	($\mu\text{g} \cdot \text{ml}^{-1}$)	49	11	325	385
	b	($\mu\text{g} \cdot \text{ml}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$)	0,0598	0,1150	0,0726	0,2274
	c	($\mu\text{g} \cdot \text{mg}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$)	1,2204	10,4540	0,1618	0,5906
2	a	($\mu\text{g} \cdot \text{ml}^{-1}$)	55	40	325	120
	b	($\mu\text{g} \cdot \text{ml}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$)	0,0829	0,0574	0,0958	0,2761
	c	($\mu\text{g} \cdot \text{mg}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$)	1,5072	1,4351	0,2974	0,5621
3	a	($\mu\text{g} \cdot \text{ml}^{-1}$)	27	28	295	360
	b	($\mu\text{g} \cdot \text{ml}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$)	0,0297	0,1055	0,0430	0,1782
	c	($\mu\text{g} \cdot \text{mg}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$)	1,1300	1,7678	0,1457	0,4950

rast bakteriálnej populácie, pretože — ako zistili Ushida a Jouany (1985) a Hino a Russell (1987) — za odbúravanie rozpustných proteínov sú zodpovedné prevažne baktérie.

Prítomnosť inhibítora trypsínu v pridávaných bielkovinách nemala na baktérie očakávaný účinok. Ani v jednom z kultivačných médií nebola zistená proteolytická aktivita trypsínového typu ani pri predĺženej štvorhodinovej inkubácii so špecifickým substrátom L-TAPA pri pH 8,2 a teplote 39 °C, hoci by ju bolo možné očakávať v skupine 1, v ktorej boli protozoá kŕmené len pšeničnou múkou. Pri dodatočnom testovaní obsahu inhibítorov trypsínu v používanej pšeničnej múke podľa autorov Smith a i. (1980) bol stanovený inhibičný účinok pšeničnej múky na 30,6 % inhibičného účinku rovnakého množstva múky viky. Inhibičný účinok rovnakého množstva proteínu pšenice bol až 49,5 % inhibičného účinku proteínu viky. Denne pridávané množstvo pšeničnej múky v skupinách 1 a 2 by teoreticky mohlo inhibovať 16,2 μg trypsínu. Denne pridávané množstvo múky z viky by teoreticky mohlo inhibovať 52,9 μg trypsínu. Denne pridávaný preparát inhibítora obsahoval 0,95 mg proteínu, ktorý môže inhibovať 13,9 μg trypsínu. V prvej skupine bolo teda teoreticky denne inhibované 16,2 μg trypsínu, v druhej skupine 30,1 μg trypsínu a v tretej skupine 52,9 μg trypsínu. Podľa údajov, ktoré uviedli Prins a i. (1983), sa trypsin-like aktivita bežnej populácie baktérií bachora pohybuje od 1,48 po 6,17 mU na 1 mg bakteriálneho proteínu, čo v prepočte zodpovedá rozsahu 88,8 až 370,3 pkat v 1 mg proteínu. Podľa obsahu bakteriálneho proteínu v jednotlivých skupinách po ukončení pokusu (tab. I) pridávané množstvo inhibičnej aktivity trypsi-

nu teoreticky stačí na úplnú inhibíciu celého množstva predpokladanej proteolytickej aktivity trypsínového typu vo všetkých skupinách pokusu (1 μ g nami používaného trypsínu mal aktivitu 42 pkat na L-TAPA). Je pravdepodobné, že počas kultivácie protozoí *in vitro* sa v populácii baktérií selektívne rozmnožili tie druhy baktérií, ktoré nevykazujú trypsin-like proteolytickú aktivitu už v kontrolnej skupine 1. Nulovú trypsin-like aktivitu v populácii bachorových baktérií a protozoí stanovili aj Iriki a i. (1983), čo je v rozpore s tým, čo zistili Brock a i. (1982) a Prins a i. (1983). Predsa však v skupine 2 došlo aj k lepšiemu rastu protozoí, pravdepodobne práve pre zvýšený rast takých kmeňov baktérií, ktoré nekonkurujú protozoám v potrave, ale naopak, slúžia pre ne ako potrava pri dostatku energetických substrátov (škrob).

Zlý rast protozoí v skupine 3 pravdepodobne tiež nie je spôsobený prítomnosťou inhibítora trypsínu, ale skôr nízkym obsahom energetických substrátov. Môže tu tiež hrať úlohu prítomnosť iných látok, nevhodných pre kultiváciu protozoí, ktoré neboli extrahovateľné do roztoku hrubého preparátu inhibítora trypsínu používaného v skupine 2. Tieto otázky však neboli predmetom skúmania v tomto pokuse.

Namerané hodnoty celkovej proteolytickej aktivity celej suspenzie, samotného kultivačného média po ukončení kultivácie a izolovanej protozoálnej a bakteriálnej frakcie všetkých troch pokusných skupín sú uvedené v tab. I. Proteolytická aktivita bakteriálnej frakcie (počítaná na miligramy bakteriálneho proteínu) rádovo zodpovedá aktivite, ktorú namerali Brock a i. (1982) pri pH 6,8. Proteolytická aktivita protozoálnej frakcie je až päťnásobne vyššia ako tá, ktorú namerali Brock a i. (1982). Títo pracovali so zmesnou populáciou protozoí, izolovanou z bachorovej tekutiny. Viac ako desaťnásobné rozdiely proteolytickej aktivity jednotlivých druhov bachorových protozoí pozoroval aj Coleman (1983).

Proteolytická aktivita protozoí bola najvyššia v skupine 2, v ktorej bol pozorovaný aj najrýchlejší rast, a najnižšia v skupine 3 s najslabším rastom. V prepočte na miligramy protozoálneho proteínu však rozdiely v aktivite nie sú tak výrazné.

Proteolytická aktivita baktérií bola najnižšia v skupine 2, aj keď obsah bakteriálneho proteínu bol v tejto skupine najvyšší. Tento fakt by bolo možné vysvetliť pozorovaním (Moravcová a Chaloupka, 1984), pri ktorom sa zistilo, že syntéza excelulárnych proteáz bola znížená so zvyšovaním koncentrácie aminokyselín v rastovom médiu baktérií *Bacillus megaterium*. Po odstránení aminokyselín z média sa syntéza excelulárnych proteáz obnovila. Degradácia pridávaných rozpustných bielkovín v skupine 2 by mohla mať podobný účinok na proteolytickú aktivitu mikrobiálnej suspenzie.

Obsah rozpustného proteínu v skupinách 1 a 2 v kultivačnom médiu bol rovnaký, hoci ku skupine 2 bolo denne pridávané navyše 152 μ g proteínu na mililiter kultivačného média. Zvýšený obsah baktérií v tejto skupine oproti skupine 1 môže potvrdzovať zistenie, že za odbúranie rozpustných proteínov v bachore sú zodpovedné predovšetkým baktérie (Hino a Russel, 1987; Ushida a Jouany, 1985).

Výsledky naznačujú, že prítomnosť inhibítorov trypsínu v kultivačnom médiu môže byť jedným z faktorov nepriamo ovplyvňujúcich rast bachorových protozoí. Pre jednoznačné závery však treba tejto problematike venovať viac pozornosti.

Literatúra

- BROCK, F. M. — FORSBERG, C. W. — BUCHANAN-SMITH, J. G.: Proteolytic activity of rumen microorganisms and effects of proteinase inhibitors. *Appl. Envir. Microbiol.*, **44**, 1982, s. 561-569.
- COLEMAN, G. S.: Rumen entodiniomorphid protozoa. In: *Methods of cultivating parasites in vitro*. TAYLOR, A. E. R. — BAKER, J. R. (eds). London, Academic Press 1978, s. 39-54.
- COLEMAN, G. S.: Hydrolysis of fraction I leaf protein and casein by rumen entodiniomorphid protozoa. *J. appl. Bact.*, **55**, 1983, s. 111-118.
- FORSBERG, C. W. — LOVELOCK, L. K. A. — KRUMHOLZ, L. — BUCHANAN-SMITH, J. G.: Protease activities of rumen protozoa. *Appl. Envir. Microbiol.*, **47**, 1984, s. 101-110.
- HINO, T. — RUSSEL, J. B.: Relative contributions of ruminal bacterial and protozoa to the degradation of protein *in vitro*. *J. anim. Sci.*, **64**, 1987, s. 261-270.
- IRIKI, T. — NUKATA, M. — ABE, M.: Semi-quantitative assay of some hydrolytic enzymes of rumen bacteria and protozoa fractions by API-ZYM system. *Jap. J. zootechn. Sci.*, **54**, 1983, s. 476-478.
- KAKADE, M. L. — SIMONS, N. — LIENER, I. E.: An evaluation of natural vs. synthetic substrates for measuring the antitryptic activity of soybean samples. *Cereal Chem.*, **46**, 1969, s. 518-526.
- MAHADEVAN, S. — ERFLE, J. D. — SAUER, F. D.: A colorimetric method for the determination of proteolytic degradation of feed proteins by rumen microorganisms. *J. anim. Sci.*, **48**, 1979, s. 947-953.
- MORAVCOVÁ, J. — CHALOUPKA, J.: Repression of the synthesis of exocellular and intracellular proteinases in *Bacillus megaterium*. *Folia Microbiol.*, **29**, 1984, s. 273-281.
- NORIOKA, S. — OMICHI, K. — IKENAKA, T.: Purification and characterization of protease inhibitors from peanuts (*Arachis hypogaea*). *J. Biochem.*, **91**, 1982, s. 1427-1434.
- ONODERA, R.: Contribution of protozoa to lysine synthesis in the *in vitro* rumen microbial ecosystem. *Appl. Envir. Microbiol.*, **51**, 1986, s. 1350-1351.
- PETERSON, G. L.: A simplification of the protein assay method of Lowry et al., which is more generally applicable. *Analyt. Biochem.*, **83**, 1977, s. 346-356.
- PRINS, R. A. — Van RHEENEN, D. L. — Van't KLOOSTER, A. T.: Characterization of microbial proteolytic enzymes in the rumen. *Antonie van Leeuwenhoek*, **49**, 1983, s. 585-595.
- RACKIS, J. J. — Mc GHEE, J. E. — LIENER, I. E. — KAKADE, M. L. — PUSKI, G.: Problems encountered in measuring trypsin inhibitor activity of soy flour. Report of a collaborative analysis. *Cereal Sci. Today*, **19**, 1974, s. 513-516.
- ROWE, J. B. — DAVIES, A. — BROOME, A. W. J.: Quantitative effects of defaunation on rumen fermentation and digestion in sheep. *Brit. J. Nutr.*, **54**, 1985, s. 105-119.
- SMITH, C. — Van MEGEN, W. — TWAALFHOVEN, L. — HITCHCOCK, Ch.: The determination of trypsin inhibitor levels in foodstuffs. *J. Sci. Fd Agric.*, **31**, 1980, s. 341-350.
- TEATHER, R. M. — MAHADEVAN, S. — ERFLE, J. D. — SAUER, F. D.: Negative correlation between protozoal and bacterial levels in rumen samples and its relation to the determination of dietary effects on the rumen microbial population. *Appl. Envir. Microbiol.*, **47**, 1984, s. 566-570.
- USHIDA, K. — JOUANY, J. P.: Effect of protozoa on rumen protein degradation in sheep. *Reprod. nutr. Dev.*, **25**, 1985, s. 1075-1081.

Došlo dňa 25. 1. 1988

СМУТНЫ, Я. — ИВАНКО, Ш. — ВАРАДЫ, Й. — ГИЛАИ, Ф. — СТРАПАЧ, И. — ДИ-
ЧАКОВА, З. — ШУЛИК, Э. (Институт физиологии сельскохозяйственных животных,
САН — Кошице; Институт ветеринарии, Кошице): Влияние ингибитора трипсина из
семян вики посевной на рост рубцовых простозоев *Entodinium simplex in vitro*.
Veter. Med. (Praha), **33**, 1988 (10) : 625-631.

Испытывали влияние отсутствия протеолитической активности трипсинового типа
(трипси-лайк) в простозоях *E. simplex*. Определяли, повлияет ли ингибция возможной

трипсин-лайк протеолитической активности у бактериальной популяции на среде культивации на рост простозоев. Как установлено, в данных условиях культивации эту активность нельзя установить ни у простозоев *E. simplex*, ни в популяции бактерий в кульвационной среде; наличие ингибитора трипсина из семян вики посевной не оказывает отрицательного влияния на рост простозоев в данных условиях; добавка грубого белкового препарата этого ингибитора в кульвационную среду частично улучшает рост простозоев но в то же время вызывает нарастание популяции бактерий при одновременном понижении их протеолитической активности.

рубцовые простозои; ингибитор трипсина; вика посевная

SMUTNÝ, J. — IVANKO, Š. — VÁRADY, J. — GYULAI, F. — STRAPÁČ, I. — DIČÁKOVÁ, Z. — ŠULÍK, E. (Institute of Farm Animal Physiology of Slovak Academy of Sciences, Košice; University School of Veterinary Medicine, Košice): *The Effect of the Trypsin Inhibitor from Vetch Seeds on in vitro Growth of the Rumen Protozoans Entodinium simplex*. Veter. Med. (Praha), 33, 1988 (10) : 625-631.

Absence of trypsin-like proteolytic activity was studied in the protozoans *Entodinium simplex*. The purpose was to see whether the growth of the protozoans can be influenced by the inhibition of the possible trypsin-like proteolytic activity of the bacterial population in the nutrient medium. The following findings were obtained: — under the abovementioned cultivation conditions, trypsin-like proteolytic activity could be determined neither in the *Entodinium simplex* protozoans nor in the population of bacteria in the nutrient medium; — the presence of trypsin inhibitor from vetch seeds had no adverse influence on the growth of protozoans under the conditions of the trial; — addition of the crude protein preparation of trypsin inhibitor to the nutrient medium partly improved the growth of the protozoans but on the other hand it caused an increase of the bacterial population while reducing its proteolytic activity.

rumen protozoans; trypsin inhibitor; vetch

SMUTNÝ, J. — IVANKO, Š. — VÁRADY, J. — GYULAI, F. — STRAPÁČ, I. — DIČÁKOVÁ, Z. — ŠULÍK, E. (Institut für Physiologie landwirtschaftlicher Nutztiere der Slowakischen Akademie der Wissenschaften, Košice; Veterinärmedizinische Hochschule, Košice): *Einfluß des Trypsininhibitors aus Samen der Saatwicke auf das Wachstum der Pansenprotozoen Entodinium simplex in vitro*. Veter. Med. (Praha), 33, 1988 (10) : 625-631.

Wir untersuchten das Fehlen der proteolytischen Aktivität vom Trypsintyp (trypsin-like) in den Protozoen *Entodinium simplex*. Wir prüften, ob die Inhibition der „trypsin-like“ proteolytischen Aktivität der bakteriellen Population des Kultivationsmediums das Wachstum der Protozoen beeinflusst. Es wurde festgestellt, daß: — unter den angeführten Kultivierungsbedingungen eine „trypsin-like“ proteolytische Aktivität weder bei den Protozoen *Entodinium simplex*, noch in der Bakterienpopulation im Kultivationsmedium zu ermitteln war; — das Vorhandensein des Trypsininhibitors aus Samen der Saatwicke unter den in der Arbeit angeführten Bedingungen keinen negativen Einfluß auf das Wachstum der Protozoen hat; — das Hinzufügen eines Roheiweißpräparats des Trypsininhibitors in das Kultivationsmedium das Wachstum der Protozoen zwar teilweise verbesserte, zugleich jedoch einen Anstieg der Bakterienpopulation bei gleichzeitigem Rückgang ihrer proteolytischen Aktivität verursachte.

Pansenprotozoen; Trypsininhibitor; Saatwicke

Adresy autorov:

RNDr. Ján Smutný, MVDr. Jozef Várady, DrSc., ing. František Gyulai, CSc., RNDr. Imrich Strapáč, CSc., Ústav fyziológie hospodárskych zvierat SAV, Dukelských hrdinov 1/B, 040 01 Košice
Prof. ing. Štefan Ivanko, DrSc., RNDr. Zuzana Dičáková, MVDr. Emil Šulík, Vysoká škola veterinárska, Komenského 73, 041 81 Košice

Upozorňujeme čtenáře, že v čísle 12 časopisu

VETERINÁRNÍ MEDICÍNA

mají být uveřejněny tyto příspěvky:

- J. Neumann: 70 let Vysoké školy veterinární v Brně
- R. Dvořák, P. Jagoš, M. Hradilová, B. Vospěl, F. Branžovský: Vybrané ukazatele vnitřního prostředí vysokoprodukčních dojnic se zaměřením na energetický metabolismus při použití antiketogenního preparátu Liuos Asetona
- M. Machátková, J. Petelíková, F. Horký, R. Bílek, J. Priesnitz, E. Jokešová: Dlouhodobá kultivace dělených embryí skotu *in vitro*
- J. Laurinčík, J. Pivko, P. Grafenau, M. Oberfranc: Získavanie oocytov aspiráciou preovulačných folikulov jalovic
- B. Pástorová, J. Arendarčík: Vplyv celotelovej protrahovanej expozície gama-žiarenia (6,7 Gy) na aktivitu monoamínooxidázy v hypotalame oviec v anestríckom období
- V. Jurajda, R. Halouzka: Izolace patogenního viru Markovy nemoci z hejna kuřic vakcinovaných krůtí herpetickou vakcínou
- M. Kriváňová, I. Zeleňák: RUSITEC — fermentačné zariadenie pre štúdium tráviacich procesov u prežúvavcov

H. Križanová, N. Halaša, L. Roško, J. Zubaj

KRIŽANOVÁ, H. — HALAŠA, M. — ROŠKO, L. — ZUBAJ, J. (Ústredný štátny veterinárny ústav, Bratislava; Štátny veterinárny ústav, Košice; Štátna veterinárna správa, Bratislava): *Výsledky štúdia pôvodu moru včelieho plodu*. Veter. Med. (Praha), 33, 1988 (10) : 633-640.

V poslednom období sa pri klinických prehliadkach plodových plástov podozrivých na mor včelieho plodu pozorujú v niektorých prípadoch určité odlišnosti. Povrchové zmeny napadnutých buniek sa síce v podstate nelíšia od zmien, aké sa pozorujú pri more včelieho plodu a aj postihnuté larvy majú hnedú farbu, avšak larvičky bývajú niekedy uložené akoby „vo vrecúšku“. Tieto zmeny pripomínajú ochorenie zvané vrecovitost (sack brood). Ani konzistencia lariev nie je typicky hlienovito gumovitá, skôr je prevlhlo vodnatá. Preto aj všetok plod i plást je potom ako mokvavo vodnatý. Tieto odlišnosti nás viedli k tomu, že sme tieto prípady začali podrobnejšie študovať.

mor včelieho plodu; bakteriálne nákazy včelieho plodu; *Bacillus larvae*

Bakteriálne choroby včelieho plodu sú rozšírené na celom svete. Niektoré z nich spôsobujú nielen oslabenie včelstva, ale aj ich úplný zánik. Medzi nebezpečné ochorenia patrí aj mor včelieho plodu. Naše pracovisko študuje túto problematiku po mnoho rokov. Na základe získaných poznatkov prichádzame k záveru, že ochorenie môže spôsobovať viac variantov *Bacillus larvae*.

MATERIÁL A METÓDY

Podobne ako pri zisťovaní iných bakteriálnych nákaz včelieho plodu sme z každej postihnutej larvy robili natívny preparát riedený mäsopeptónovým bujónom (MPB). Preparát sme prezerali v mikroskope s fázovým kontrastom. Kultivácia sa robila na médiách: Brain heart infusion (Oxoid CCM 225) a VF (základ pre VF bujón, Imuna, Šarišské Michaľany) s agarom (Agar bacteriological Oxoid L 11). Obe médiá boli obohatené o 20 % defibrovannej baranej krvi (BHIKA a VFKA). Naočkované živné médiá sme nepriedušne uzatvorili a inkubovali pri teplote 37 °C po dobu 48 až 96 hodín. Pri izolovaných mikroorganizmoch sme sledovali ich rastovú náročnosť, morfológiu, tvorbu pigmentu a biochemické vlastnosti — štiepenie glycidov [v peptónovej vode s hovädzím extraktom (Oxoid) a 1 % cukru (Cowan a Steel, 1970) za použitia brómtymolovej modrej ako indikátora, ako aj s 0,2 až 0,5 % škrobu; doba sledovania 31 dní], hydrolýzu želatíny (podľa Clarka), pomnoženie v MPB (s 0,2—0,5 % škrobu) a v bujónoch [pripravených s 1 % hovädzieho extraktu (Oxoid) a s 0,5 % škrobu]. Mediá obohatené škrobom sme použili preto, lebo sa u mikroorganizmov prejavovala schopnosť rásť v prítomnosti škrobu. Ďalej sme sledovali prežívanie kultúr pri izbovej teplote i pri teplotách vyšších (zahrievanie a var). K porovnaniu sme použili zbierkové kmene *Bacillus larvae* (z vlastných izolácií), ako aj zbierkový kmeň *Bacillus pulvifaciens* CCM 39 zo Štátnej zbierky mikroorganizmov pri Výskumnom ústave veterinárneho lekárstva v Brne.

Na použitom médiu BHIKA a VFKA vyrástli z vyšetrovaného materiálu za 48 hodín pri teplote 37 °C našedlé kolónie, neskôr až žltohnedo-oranžového zafarbenia, niekedy s tmavo pigmentovaným stredom. Pigmentovanie bolo zreteľné až po viacdňovej inkubácii, niekedy sa strácalo, v ďalšej subkultivácii sa však znovu objavovalo. Po preočkovaní na bežný krvný agar kmene niekedy vyrástali za 48 až 96 hodín len ako práškovité kolónie; rast bol slabý a nevýrazný, závislý od šarže média. Po ďalšej inkubácii pri izbovej teplote sa za niekoľko dní kultúry rozrastali do jemných povlakovitých kolónií s oranžovým stredom. V natívnom preparáte vo fázovom kontraste sa pozoroval živý pohyb paličiek (cca 0,5—0,6 × 5—6 μ veľkých), ktoré sa veľkosťou i tvarom podobali zárodkom *B. larvae*. Paličky mali zaoblené konce, pohybovali sa buď vretenovitým pohybom okolo vlastnej osi, alebo veľmi výrazným natriasaním (twitching), alebo tiež bežným spôsobom, to je priamočiarno dopredu. Pohyb bol teda odlišný od pohybu zárodkov *B. larvae*.

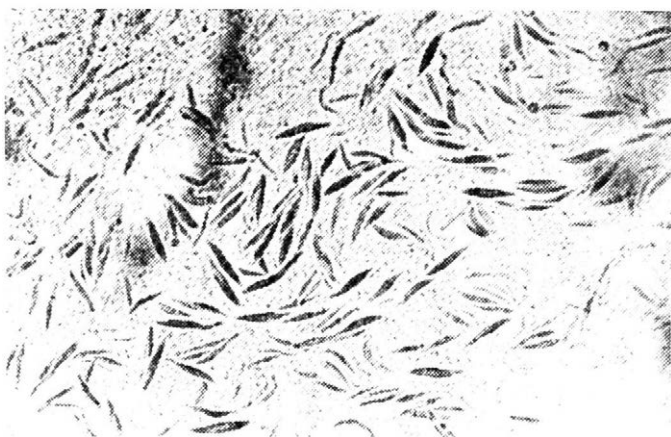
V mäsopeptónovom bujóne sa mikroorganizmy nepomnožovali ani za použitia kvalitných peptónov, iba v ňom preživali. Bežné cukry boli pre ich pomnožovanie nedostačujúcim substrátom; k svojmu prejavu vyžadovali ako základ 1% Beef extrakt, prípadne obohatený 0,2 až 0,5 % rozpustného škrobu. Na želatínovom agare bol porast veľmi skromný, na škrobovom agare však bol výraznejší a tiež s tvorbou pigmentu. Kmene boli kataláza-negatívne.

Prežívanie a odolnosť izolovaných kultúr mikroorganizmov voči vysušeniu sme sledovali po dobu jedného roku; uchovávané pri izbovej teplote vydržali úplné vysušenie; stačilo prevlhčiť vysušené lupienky média mäsopeptónovým bujónom a po následnej rekultivácii na BHIKA alebo VFKA vyrástli v typickej forme, so zachovaním svojich morfológických i biochemických vlastností. Vydržali dokonca var po dobu niekoľkých hodín; spoľahlivo ich ničilo len autoklavizovanie.

Špirálovité útvary, ktoré možno pozorovať epimikroskopicky v kultúrach *B. larvae* na želatínovom agare vo forme vretienok (obr. 1, 2 — útvar Vč 166-70) — [Križanová a i., 1978], sme v počiatoch našej práce u študovaných kmeňov pozorovali len zriedka. V ďalšej fáze prác sa však špirálovité útvary objavovali častejšie, a to v kultúrach vyrastených na VFKA alebo BHIKA. Pretože porasty na želatínovom agare boli skromné, nebolo možné hľadať kolónie vretienkovitého tvaru epimikroskopicky. Domnievame sa, že špirálovité útvary sa adaptovali už aj do týchto mikroorganizmov.

Kmeň CCM 39 (N. R. Smith) rástol na BHIKA, VFKA i na bežnom krvnom agare (KA) za 24 až 48 hodín pri teplote 37 °C a taktiež tvoril červenohnedý pigment. Rast a pigment boli na želatínovom agare ešte výraznejšie ako na KA. Pri štúdiu sa pomocou želatínového agaru zistilo, že tento kmeň pozostáva z dvoch farebne odlišných mikroorganizmov. Kolónie tohto zbierkového kmeňa sa nakoniec diferencovali na dva druhy, a to na kolónie s tvorbou intenzívneho tmavooranžovo-hnedého pigmentu, ktoré boli za použitia skielkovej metódy s 3%, 5% a 10% H₂O₂ kataláza-negatívne, a na kolónie veľmi striedmo pigmentované, ktoré boli kataláza-pozitívne (pričom sa pri tomto druhu mikroorga-

1. Odtlačkový preparát (nefarbený) z kultúry zo želatínového agaru: špirály formované do vretienkovitého tvaru — Offprint preparation (unstained) from the culture on gelatine agar: spirals formed into spindle shape

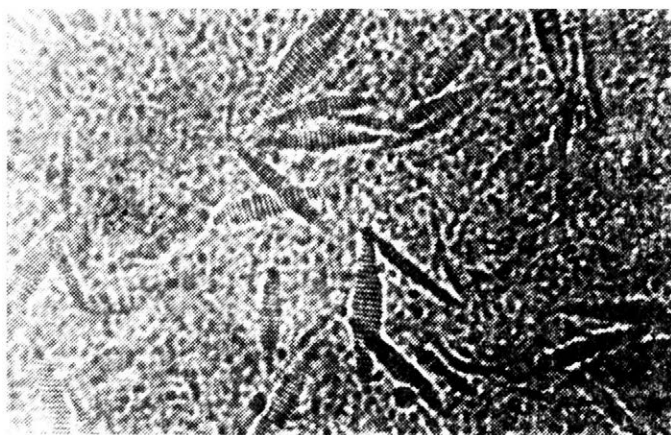


nízmov v niektorých subkultúrach objavovali kolónie s tmavým pigmentom).

K biochemickým reakciám postačovali bežne pripravované cukrové roztoky. Tekuté médiá boli po pomnožení (vrátane MPB) taktiež primerane pigmentované. Paličky kmeňa CCM 39 mali živý pohyb, ale odlišný od izolovaných a študovaných kmeňov.

Kultúry *B. larvae* rastú tiež na výberových médiách (BHKA a VFKA) za 48 až 96 hodín pri teplote 37 °C a sú kataláza-negatívne. Pri klasickom more včelieho plodu sa v larvách, okrem spór a pohyblivých paličiek (v larve nemusia byť pohyblivé), objavujú aj nepohyblivé špirály. Na pevnej pôde sa tieto špirály formujú do tvaru vretienka (útvár Vč 166-70), v ktorom špirály presne do seba zapadajú (obr. 1 a 2). Možno ich veľmi dobre pozorovať epimikroskopicky (po 48 a viac hodinách) na nevysušenom a nepriedušne uzatváranom želatínovom agare. V odtlačkovom preparáte zo želatínového agaru býva kontúra vretienkovitých útvarov jasná a špirály výrazné. Z BHKA a VFKA sa kontúry špirál strácajú v matnom vretienku, ktoré je „pretučnejšie“ ako na želatínovom agare. Tieto útvary sa tvoria len na vlhkejšom médiu a len za prítomnosti paličiek, ktoré im pravdepodobne dodávajú rastový substrát; netvoria sa v prítomnosti spór a v otvorených kultúrach. Pohyb paličiek

2. Odtlačkový preparát (nefarbený) z kultúry zo želatínového agaru (detail): vretienkovitá forma (útvár Vč 166-70), u ktorej špirály presne do seba zapadajú — Offprint preparation (unstained) from the culture on gelatine agar (detail): spindle form (formation Vč 166-70) in which the spirals fit exactly into one another



I. Charakteristické vlastnosti študovaných kmeňov v porovnaní so zbierkovými kmeňmi *B. larvae* a *B. pulvifaciens* CCM 39 — Characteristic properties of the studied strains, as compared with the collection strains of *B. larvae* and *B. pulvifaciens* CCM 39

Použitý test		<i>B. pulvifaciens</i> CCM 39		<i>B. larvae</i>	Študované kmene
		kolónie s pigmentáciou	kolónie bez zreteľného pigmentu		
1. KA bežný		rastie	rastie	rastie slabو	rastie slabو
2. BHIKA		rastie	rastie	rastie	rastie
3. VFKA		rastie	rastie	rastie	rastie
4. Škrobový agar		rastie	rastie	rastie	rastie, vzťah ku škrobu výrazný pigment
5. Želatinový agar		rastie	rastie	rastie	porast v mieste inokula (chudobný)
6. Tvorba pigmentu		červeno-hnedý	diskrétne nažltlý	našedlý	žlto-hnedo-oranžový
7. Motilita		pohyblivý (i sólo paličky)		pohyblivý, vyžaduje hustý preparát	pohyblivý (3 rozdielne druhy pohybu)
8. Kataláza		negatívna	pozitívna	negatívna	negatívna
Rast v prítomnosti	9. glycín 1 % (BHIKA)	rastie	rastie	rastie	rastie
	10. NaCl 3,5 % (BHIKA)	rastie	rastie	rastie	rastie
Rast v bujónoch	11. MPB bežný	pomnožuje sa		nepomnožuje sa, iba preživa	
	12. MPB bežný + 0,2 % škrobu	pomnožuje sa		pomnožuje sa slabو, preživa	
	13. MPB bežný + 0,5 % škrobu	pomnožuje sa		pomnožuje sa slabو, preživa	
	14. Beef extrakt + 0,2 % škrobu	pomnožuje sa		pomnožuje sa	
	15. Beef extrakt + 0,5 % škrobu	pomnožuje sa		pomnožuje sa dobre	
Rast v cukrových roztokoch	16. s peptónovou vodou	pomnožuje sa, s prejavom aktivity		nepomnožuje sa, iba preživa	
	17. základ 1 % Beef extrakt	pomnožuje sa, s prejavom aktivity		pomnožuje sa, s pomalým prejavom aktivity	
	18. Beef extrakt + 0,2 % škrobu	pomnožuje sa, s prejavom aktivity		pomnožuje sa, s prejavom aktivity	
Prejav aktivity	19. glukóza	+	+	+	+
	21. trehalóza	+	+	+	+

B. larvae je lepšie postrehnuteľný, ak je natívny preparát hustejší. Osa-motené paličky (v tom istom preparáte) sa však už prestali pohybo-vať, keď z hustého „chumáčika“ unikli. Všetky doposiaľ izolované kul-túry *B. larvae* boli pohyblivé (natívny preparát však treba zhotovovať s MPB).

B. larvae sa nepomnožuje v MPB, bežne pripravované cukrové roz-toky sú preň slabým rastovým substrátom, rýchlo v nich dochádza k sporulácii, a to aj v prípadoch, keď sa použili čerstvé kultúry. V cukroch sa nepomnožovali ani špirálovité útvary (chýbal im rastový substrát paličiek *B. larvae*). Koloidné útvary a „neurčitá sieťovina“, aké možno vidieť v natívnom preparáte zhotovenom zo želatínového agaru, BHIKA alebo VFKA, sa v týchto natívnych preparátoch z cukrov ne-dokázali; aj reakcia v cukroch sa ukazuje ako nezreteľná. V cukroch zhotovených s Beef extraktom, obzvlášť po pridaní 0,2 až 0,5 % škrobu, sa však táto aktivita prejavuje tak pri *B. larvae*, ako aj pri študovaných kmeňoch. Výsledky pozorovania biochemických vlastností študovaných kmeňov uvádzame v tab. I.

DISKUSIA

Pri more včelieho plodu sa vo včelích larvách zisťujú okrem spór a pohyblivých paličiek aj nepohyblivé špirálovité útvary. Z takýchto prípadov sa vždy izoluje *B. larvae* (White, 1906), pričom v kultúrach vyrastených na pevnej pôde (nepriedušne uzatvorenej) sa spolu so spórmi a paličkami *B. larvae* zisťujú aj vretienkovité útvary zložené zo špirál, ktoré presne do seba zapadajú (Križanová a i., 1978). Tieto špirálovité útvary považovali mnohí autori za poprepletané bičíky (Borchert, 1966, 1974). Bergey (1986) sa však o týchto bičíkoch nezmieňuje.

Pri prípadoch nami študovaných sme v počiatkoch našej práce po-zorovali v postihnutých larvách včiel špirálovité útvary len zriedka, v ďalšej fáze prác sa objavovali častejšie. Na BHIKA a VFKA sa z ta-kýchto prípadov izolujú našedlé kolónie, ktoré až neskôr nadobúdajú intenzívny žltó-hnedo-oranžový pigment, ktorý *B. larvae* nikdy netvorí. Podľa Bergeya (1986) by tvorba pigmentu poukazovala na prísluš-nosť k *B. pulvificiens*. *B. pulvificiens* (kmeň CCM 39) však tvorí zreteľnejší pigment, ktorý veľmi dobre vystupuje na želatínovom agare, najlepšie pri teplote 37 °C. V našej práci sme kultúru tohto kmeňa po-mocou želatínového agaru diferencovali na dva druhy kolónií: jedny s tvorbou intenzívneho červeno-hnedého pigmentu, druhé diskrétno na-žltlé. Na BHIKA a na VFKA nebol rozdiel pigmentov tak markantný ako na želatínovom alebo škrobovom agare. Tieto dva druhy kolónií sa ne-líšili biochemickými reakciami v cukroch, ale líšili sa katalázou. Druh sýto červeno-hnedých kolónií nami diferencovaných mal katalázu (3; 5; 10% H₂O₂) na skielku negatívnu, podobne ako kmene *B. larvae*. Ko-lónie so striedmym pigmentom boli výrazne kataláza-pozitívne.

Bergey (1986) pri *B. pulvificiens* udáva, že tvorba katalázy zá-visí od média a je negatívna na nutrient agare, pozitívna na J-médii. Podľa našich výsledkov (oba pigmentovo rozdielne druhy sa očkovali na jednu platňu) bola kataláza na tom istom médiu pri oboch dife-

rencovaných druhoch kolónií rozdielna. Túto vlastnosť si kmene zachovali podnes.

Pohyblivosť *B. larvae* a mikroorganizmov druhej varianty moru včelieho plodu bola odlišná. Zatiaľ čo paličky *B. larvae* sú pohyblivé len keď je preparát hustejší, pri nami opisovanom type sú pohyblivé aj sólové paličky. Možno postrehnúť viac druhov pohybu v tom istom natívnom preparáte, a to: bežný pohyb, rotáciu okolo vlastnej osi, prípadne veľmi výrazné natriasania (twitching). *B. pulvificiens* (CCM 39, obe farebne diferencované kolónie) tieto dva posledné druhy motility nemajú.

Kolónie študovaných kmeňov sa podobali vzhľadom i pigmentom na kolónie CCM 39 (tie, ktoré boli kataláza-negatívne) a neskôr nadobúdali na BHIKA a na VFKA tmavý, žltó-hnedo-oranžový pigment. Všetky študované kmene — *B. larvae* z vlastných izolácií, zbierkový kmeň CCM 39 a kmene izolované z druhého variantu moru včelieho plodu — boli navzájom odlišné farebne (pigmentom), morfológicky, pohybom i náročnosťou na médiá.

Pri more včelieho plodu je jedným z charakteristických klinických príznakov to, že sa obsah larvy pri tzv. zápalkovej skúške ťahá výrazne gumovito do nitky, že postihnutý plást je suchší a že po vyčistení plástových buniek včelami zostávajú na dne buniek príškvarky. V prípadoch moru včelieho plodu študovaných nami v poslednej dobe sa už tieto charakteristické klinické príznaky do určitej miery pozmenili. Uhynuté larvy sú uložené v „hnedom vrecúšku“ a pri zápalkovej skúške sa ich obsah ťahá skôr hlienovito. Aj plásty s uhynutým plodom sú mokvavo prevlhle. Táto forma moru včelieho plodu sa pozoruje len v poslednom období, a to po rozšírení klieštika včelieho — *Varroa jacobsoni* — na našom území. Pripisujeme to hlavne väčšej pohyblivosti týchto zárodkov, ktoré rýchlejšie prenikajú do tela lariev i po povrchu buniek plástu, a to spôsobuje prevlhlosť celých plástov.

Je pravdepodobné, že sa tieto formy moru včelieho plodu vyskytujú aj v iných zemiach, v ktorých sa vyskytuje klieštikovitost'. Myslíme si však, že kmene mikroorganizmov, ktoré sa z takýchto prípadov izolujú, sa podrobnejšie neštudujú, ale jednoznačne sa zaradia k *B. pulvificiens*. To potom spôsobuje, že sa v praxi nezavádzajú ani príslušné epizootologické opatrenia s ohľadom na mor včelieho plodu.

Pôvodcu moru včelieho sa nám podarilo izolovať dokonca aj z klieštika včelieho — *Varroa jacobsoni* (zo suspenzie urobenej z klieštikov odchytených v bunkách, v ktorých boli morom postihnuté včelie larvy) a študovaný mikroorganizmus aj z dutiny brušnej víjačky voštinovej (*Galleria mellonella*, Liné 1758).

Predložená práca má upozorniť, že sa pravdepodobne v zemiach, v ktorých sa rozšírila klieštikovitost' včiel, vyskytujú dva typy moru včelieho plodu: „klasický“, aký sa opisuje po mnoho desaťročí (Borchert, 1966, 1974; Svoboda a i., 1968 a ďalší), a „atypický“, ako o ňom píšeme v našej práci.

Bergey (1986) pri opise *B. pulvificiens* uvádza iba to, že sa izoluje z uhynutých včelích lariev, a v stati pri opise *B. larvae*, že sú si tieto dva druhy mikroorganizmov navzájom podobné. Nami študované mikroorganizmy sa však od *B. pulvificiens* odlišujú hlavne pigmentom, motilitou a rastovou náročnosťou. Tieto nami študované mikroorganizmy sa

nemohli podľa doposiaľ známych kritérií taxónov zaradiť ani k *B. larvae*, ani k *B. pulvificiens*. Od *B. larvae* sa líšia hlavne pigmentom kolónií, morfológiou kultúr a pohybom paličiek. Podobajú sa síce na *B. pulvificiens*, ale od týchto mikroorganizmov sa odlišujú hlavne rastovou náročnosťou na izolačné a typizačné médiá a motilitou; pigmentom sa ovšem podobajú na *B. pulvificiens*. Skôr by sa dalo usudzovať, že ide o určitý intermediárny typ, ktorý sa pre nejakú príčinu adaptoval na včelie larvy a ukázal sa pre ne vysoko patogénny. Je povšimnutia hodná skutočnosť, že sa začal objavovať až po rozšírení klieštika včelieho — *Varroa jacobsoni*. Toto ochorenie zaviečkováných lariev včelieho plodu je ešte nebezpečnejšie ako v prípadoch, kedy sa izoluje *B. larvae*, pretože včely robotnice nie sú schopné postihnuté bunky vyčistiť. Treba preto vždy odporúčať, aby sa aj pri tomto „atypickom“ more včelieho plodu uskutočňovali tie isté epizootologické opatrenia ako pri „klasickom“ more včelieho plodu.

Technická spolupráca: ved. techn. T. Sedláčková, E. Grosová, R. Brečelyová.

Literatúra

- BERGEY'S MANUAL of determinative bacteriology. 8. ed. Baltimore, The Williams and Wilkins Comp. 1986.
- BORCHERT, A.: Die Krankheiten und Schädlinge der Honigbiene. Leipzig, S. Hirzel Verlag 1966.
- BORCHERT, A.: Schädigungen der Bienenzucht durch Krankheiten, Vergiftungen und Schädlinge der Honigbiene. Leipzig, S. Hirzel Verlag 1974.
- COWAN, S. T. — STEEL, K. J.: Manual for the identification of medical bacteria. Cambridge, University Press 1970. 108 s.
- KRIŽANOVÁ, H. — KOPPEL, Z. — HORVÁTH, J. — BESEDA, M. — HALAŠA, M.: Štúdium špiralovitých a vretienkovitých útvarov v kultúrach *Bacillus larvae* (White, 1906), pôvodcu moru včelieho plodu. Veter. Med. (Praha), 23, 1978, s. 305-315.
- SVOBODA, J. — HANKO, J. — HARAGSIMOVÁ, L. — HARAGSIM, O.: Nemoci a škůdci včely medonosné. Praha, Státní zemědělské nakladatelství 1968.

Došlo dňa 8. 10. 1986

КРЖИЖАНОВА, Г. — ГАЛАША, М. — РОШКО, Л. — ЗУБАЙ, Я. (Центральный государственный ветеринарный институт, Братислава; Государственный ветеринарный институт, Кошице; Государственное ветуправление, Братислава): Результаты исследования возбудителя гнильца пчелиного расплода. Veter. Med. (Praha), 23, 1988 (10) : 632-640.

В последний период клинические осмотры сотов с расплодом, подозрительных на гнилец детки обнаруживают определенные различия. Поверхностные изменения пораженных клеток хотя и не отличаются по существу от изменений, вызываемых гнильцом, и пораженные личинки тоже буреют, но часто уложены как бы в «карманчике», что напоминает заболевание известное под названием мешетчатый расплод. Также консистенция личинок не типично резинисто-слизистая, а скорее переувлажненная. Поэтому-то и весь расплод вместе с сотами водянисто-макнувшие. Эти различия навели нас на мысль подробно изучить эти явления.

гнилец американский; бактериальные заражения расплода; *Bacillus larvae*

KRIŽANOVÁ, H. — HALAŠA, M. — ROŠKO, L. — ZUBAJ, J. (Central State Veterinary Institute, Bratislava; State Veterinary Institute, Košice; State Veterinary Administration, Bratislava): *Results of the Study of a Causative Agent of American Foul Brood*. Veter. Med. (Praha), 33, 1988 (10) : 633-640.

Recently, during clinical examinations of the brood combs suspected to be infected by American foul brood, certain dissimilarities were observed in some cases. Surface changes in the infected cells are similar to those observed in the cells with American foul brood, the infected larvae are also of brown colour; however, the small larvae are sometimes placed "in a sack". These changes are similar to the disease called sack brood. The consistency of larvae is not typically phlegmy and gummy but rather watery. Therefore, the entire brood and comb have oozy and watery consistency. These dissimilarities have become a reason of more detailed study.

American foul brood; bacterial infections of brood; *Bacillus larvae*

KRIŽANOVÁ, H. — HALAŠA, M. — ROŠKO, L. — ZUBAJ, J. (Staatliches Zentralinstitut für Veterinärmedizin, Bratislava; Staatliches Institut für Veterinärmedizin, Košice; Staatliche Veterinärverwaltung, Bratislava): *Untersuchungsergebnisse der amerikanischen Faulbrut*. Veter. Med. (Praha), 33, 1988 (10) : 633-640.

In der letzten Zeit können wir im Rahmen der klinischen Untersuchungen der Brutweben, die der amerikanischen Faulbrut verdächtig sind, in einigen Fällen Abweichungen und Unregelmässigkeiten beobachten. Die an der Oberfläche der befallenen Zellen aufgetretenen Umwandlungen unterscheiden sich im Grunde genommen nicht von denjenigen, die im Falle der amerikanischen Faulbrut zu beobachten sind und auch die befallenen Larven sind braun, die Lärvenchen sind manchmal wie in einer Tasche untergebracht. Die Umwandlungen erinnern an die sog. Sackbrut. Die Konsistenz der Larven ist nicht typisch schleim-gummiartig, sie ist eher wässrig. Deshalb sind auch die Brut und die Webe einigermaßen wässrig. Diese Unterschiedlichkeiten bewogen uns dazu, dass wir begannen, diese Fälle ausführlicher und gründlicher zu studieren und zu untersuchen.

amerikanische Faulbrut; bakterielle Ansteckungen der Bienenbrut; *Bacillus larvae*

Adresy autorov:

MVDr. Helena Križanová, MVDr. Miloš Halaša, CSc., Ústredný štátny veterinárny ústav, Nábr. arm. gen. L. Svobodu 23, 842 52 Bratislava

MVDr. Ľudovít Roško, Štátny veterinárny ústav, 040 01 Košice

MVDr. Ján Zubaj, Štátna veterinárna správa, 800 00 Bratislava

V listopadu 1988 oslaví n. p. Bioveta Ivanovice na Hané významné výročí — 70 let své existence.

První bezvýsledné snahy české veřejnosti o zřízení pracoviště pro výrobu očkovacích látek a pro výzkum a diagnostiku nemocí zvířat v českých zemích jsou datovány již z konce minulého století. Realizace tohoto záměru však byla umožněna až po rozpadu rakousko-uherské monarchie a po vzniku samostatné Československé republiky v roce 1918. Poválečné období bylo velmi příznivé pro šíření nakažlivých chorob, zejména slintavky, sněti slezinné, vztekliny a vozňřivky. Dodávky léků ze zahraničí byly značně nespolehlivé i pro jejich mnohdy neodpovídající kvalitu. Aby bylo možné zvládnout nákazovou situaci, bylo nezbytné osamostatnit se od cizích vlivů a dosáhnout toho, aby protinákazovou činnost, tj. diagnostiku nákaz, výrobu a kontrolu očkovacích látek, řídily výlučně státní orgány.

Vláda ČSR proto pověřila MVDr. Jana Hamra organizováním veterinární služby v ČSR. Jeho zásluhou bylo výnosem ministerstva zemědělství číslo 39 z 23. 11. 1918 prosazeno zřízení provizorního Státního ústavu pro rozpoznávání zvířecích nákaz a výrobu očkovacích látek v Praze. Ústav se skládal ze dvou územně vzdálených částí. Část ústavu pro rozpoznávání nákaz byla umístěna v Praze na Královských Vinohradech, séroterapeutická část byla pro značný počet potřebných koní — producentů sér — umístěna v Hranicích na Moravě.

Dodávky specifických léčivých sér byly zahájeny v květnu roku 1919. Na jaře 1920 byly obě části ústavu přemístěny do Prahy na Hradčany, kde byly spojeny ve Státní diagnostický a séroterapeutický veterinární ústav. Pro vzniklé provozní potíže bylo nedlouho nato rozhodnuto tento ústav přemístit do Ivanovic na Hané, kde začal působit 15. 4. 1922. V roce 1927 byl získán ivanovický zámek s 26 hektary orné půdy, čímž ústav získal svou v podstatě dnešní konečnou rozlohu a umístění. Od 1. ledna 1935 byl ústav prohlášen za samostatný státní podnik, vedený a administrativně řízený podle tehdejších zásad samofinancování.

Činnost ústavu se každoročně rozšiřovala. V roce 1919, v prvním roce výroby, byly expedovány čtyři výrobky (červenková vakcína a kultura, sérum a vakcína proti choleře drůbeže) v objemu 1118 litrů, v roce 1924 vyráběl ústav 40 preparátů v objemu 9,5 tisíce litrů, v roce 1936 již 114 preparátů v objemu 14 tisíc litrů. Rozšiřovala se rovněž diagnostická činnost ústavu. V roce 1921 bylo provedeno 3155 vyšetření, v roce 1924 již více než 21 tisíc. V celém období první republiky zajišťoval ústav v Ivanovicích celostátní diagnostiku nákaz zvířat a doškolování veterinárních lékařů. Významně se také podílel na veterinárním výzkumu. Jsou známy průkopnické odborné práce MVDr. K. Rašina o toxoplazmóze.

Velmi nepříznivě se na činnosti ústavu projevila okupace a druhá světová válka. Po zrušení státoprávnosti byl přeměněn název na Veterinární ústav v Ivanovicích na Hané. Přes značné materiální ztráty a surovinové potíže byla ihned po osvobození zahájena výroba nejdůležitějších veterinárních přípravků, nyní již ve Státním veterinárním ústavu v Ivanovicích na Hané. Výnosem ministerstva zdravotnictví z 9. 6. 1951 byl tento název změněn na Bioveta, státní veterinární výrobní ústav — zkráceně Bioveta Ivanovice na Hané. V roce 1952 byla Bioveta převedena z resortu zdravotnictví do resortu zemědělství a výživy v rámci sjednocení veterinární činnosti. Rozhodnutím vlády s platností od 1. 1. 1953 byla Bioveta přeměněna ze státního zařízení na národní podnik s vlastním statutem veterinárního výrobního ústavu.

Diagnostická činnost ústavu byla po válce postupně vyčleňována z jeho pracovní náplně a převáděna do nově vznikajících veterinárních vyšetřovacích ústavů. V náplni ivanovického pracoviště nejdéle přetrvávala pouze diagnostika vztekliny, vozňřivky a infekční anemie koní.

Zestátnění veterinární služby v roce 1953 přineslo nové úkoly i pro Biovetu. Zaměření veterinární činnosti na komplexní zabezpečení rozrůstající se živočišné velkovýroby včetně zavedení bezplatného očkování proti infekčním chorobám se odrazilo i v požadavcích na modernizaci sortimentu výroby podniku. Katalog z roku 1958 uvádí 93 výrobky, z toho 38 typů vakcín a antigenů k imunizaci, 28 léčivých specifických sér, 5 typů alergenů, 17 diagnostických preparátů a 5 ostatních výrobků. Mnohé z nich jsou dodnes tradiční součástí výrobního sortimentu podniku.

Nová situace vedla k diferenciaci biologické výroby na specializovanou odvětví. V první polovině 50. let vznikly Biovety v Terezíně a v Nitře. V roce 1952 zahájily

činnost dvě odbočky iwanovické Biovety — v Opavě a v Telči a v roce 1957 bylo zřízeno výzkumné a vývojové středisko ve Vyškově.

Od 1. 1. 1959 se Bioveta Ivanovice stala vedoucím národním podnikem a s oběma Biovetami pobočnými vytvořila výrobně-hospodářskou jednotku VHJ Bioveta. Z ní vznikl v roce 1967 oborový podnik Bioveta Ivanovice na Hané s dvěma odštěpnými závody — v Terezíně a v Nitře. Od 1. 1. 1968 byl tento oborový podnik zrušen a vznikly tři nezávislé hospodářské organizace. Od roku 1978 nese podnik svůj současný název — národní podnik Bioveta Ivanovice na Hané. Přímým nadřízeným orgánem je Státní veterinární správa ČSR. Toto uspořádání se v současné době ukazuje jako plně vyhovující jak z hlediska plynulého a pružného zajišťování potřeb veterinární služby, tak i z hlediska výrobních jistot národního podniku.

Poslední desetiletí v historii podniku je charakterizováno intenzivním rozvojem ve všech oblastech jeho působení. Soustavně modernizovaný a inovovaný sortiment obsahuje v současné době více než 200 biopreparátů. Výroba zboží ve srovnatelných cenách vzrostla od roku 1981 více než o 30 %, včetně úspěšného exportu. Jeho zvýšení přitom dosahujeme téměř výhradně růstem produktivity práce na základě využití výsledků vědeckotechnického rozvoje a zlepšovatelského hnutí pracovního kolektivu podniku. Za totéž období činil nárůst zisku 45 % v objemu přesahujícím 200 miliónů Kčs a hodnota upravených vlastních výkonů se zvýšila o 25 %. Podniku se tak daří úspěšně zabezpečovat opatření k urychlování ekonomického a sociálního rozvoje, obsažená v Zásadách přestavby hospodářského mechanismu a určená k realizaci v 8. pětiletce.

Výzkumná a vývojová činnost je bezprostředně spjata s výrobou a je zaměřena na urychlené uplatňování výsledků výzkumu ve výrobní praxi. Z řešení vlastních výzkumných úkolů resortního plánu RVT v období 7. a 8. pětiletky jsme výrobně realizovali 17 moderních biopreparátů v hodnotě vyšší než 14 miliónů Kčs. Ze spolupráce s Výzkumným ústavem veterinárního lékařství v Brně bylo ve stejném období realizováno dalších devět moderních vakcín v objemu téměř 30 tisíc litrů a v hodnotě 17 miliónů Kčs.

V 8. pětiletce řešíme problematiku zaměřenou na aktivní tvorbu zdraví zvířat, na další rozvoj biotechnologií a na uspokojování potřeb veterinární služby na úseku efektivní prevence a profylaxe v podmínkách socialistické živočišné velkovýroby. První výsledky tohoto výzkumu jsou již realizovány (vakcína proti vzteklině inaktivovaná tkáňová, vakcína proti pseudomonádovým infekcím kožeslinových zvířat, vakcína proti trichofytóze koní, mikrobiotické preparáty pro drůbež a pro mláďata hospodářských zvířat, soupravy Elisa k diagnostice EBL, Auješzkého choroby a k průkazu rotavirů). S pracovišti ČSAV, ÚSOL, o. p., Praha a VÚVeL Brno se podílíme na řešení a výrobní realizaci výzkumných úkolů státního plánu VTR. Významným úkolem Biovety v oblasti VTR v období 8. pětiletky je účast v řešení a realizaci Komplexního programu vědeckotechnického pokroku členských zemí RVHP.

Výzkumné plány na období 9. pětiletky jsme zaměřili na široké uplatnění monoklonálních protilátek, na produkci koncentrovaných vícevalentních vakcín určených ke sdružené vakcinaci, na rozšíření biostimulačních preparátů na bázi mikrobiotik, na intenzivní používání buněčné kultivace, včetně výroby potřebných médií. Zvyšování intenzity výzkumné a vývojové činnosti urychluje inovační proces, uplatněním nových výrobních technologií a zavedením výroby moderních biopreparátů si vytvoříme předpoklady pro rozšíření odbytových možností zejména v oblasti exportu. Vytvořené technologie budou zaměřeny na snížení materiálové a energetické náročnosti, což příznivě ovlivní ukazatele efektivnosti vědeckotechnického rozvoje.

Smělé cíle v oblasti vědeckotechnického rozvoje jako hlavního činitele všestranného hospodářského a sociálního rozvoje podniku odpovídají tradici vytvořené v celém období 70 let existence nejstaršího státního veterinárního pracoviště v ČSSR, národního podniku Bioveta Ivanovice na Hané, nositele státního vyznamenání Za zásluhy o výstavbu a čestného názvu Podnik socialistické práce. Jsou zárukou úspěšného plnění všech současných i budoucích úkolů podniku, vyplývajících z jeho postavení v československém národním hospodářství.

MVDr. Vratislav Krupka, MVDr. Jan Šnoblák,
MVDr. Richard Harnach, CSc.
Bioveta, n. p., Ivanovice na Hané

CONTENTS

Holý L., Lopatářová M., Krontorád P.: The Quality and Developmental Stage of Bovine Embryos in Relation to their <i>in-vivo</i> Survival after Ipsilateral Non-surgical Transfer	577
Jagoš P., Dostálová M., Zajac J., Bouda J.: Changes in Immunoglobulin Concentrations in the Blood Serum of Calves from Birth to the Age of Six Months	589
Toman M., Zralý Z., Franz J., Čanderle J., Štěpánek J.: Immune Response of Bovine Foetuses to Intrauterine Immunization with Rotavirus	593
Dvořák R., Jagoš P., Jízdny J., Přikrylová J., Hradilová M.: Effect of the Administration of Straw Treated with Caustic Soda Lye upon the Metabolic Profile of Rumen Liquor, Health, and Weight Gains in Fattened Bulls	599
Skalka B.: Isolation of <i>Staphylococcus hyicus</i> Strains from Healthy Hosts and a Diagnostic Study of the Strains	607
Novotná B., Dvořák Z.: Post-mortem Production of Inorganic Phosphorus in the Skeleton Muscle of Pigs in relation to Detection of PSE Meat	617
Smutný J., Ivanko Š., Várady J., Gyulai F., Strapáč I., Dičáková Z., Šulík E.: The Effect of the Trypsin Inhibitor from Vetch Seeds on <i>in vitro</i> Growth of the Rumen Protozoans <i>Entodinium simplex</i>	625
Křižanová H., Halaša N., Roško L., Zubaj J.: Results of the Study of a Causative Agent of American Foul Brood	633

INHALT

Holý L., Lopatářová M., Krontorád P.: Qualität und Entwicklungsstadien von Rinderembryonen in bezug auf deren Überleben <i>in vivo</i> nach ipsilateralem unblutigen Transfer	577
Jagoš P., Dostálová M., Zajac J., Bouda J.: Dynamik der Immunoglobulinniveaus im Blutserum von Kälbern von der Geburt bis zum Alter von sechs Monaten	589
Toman M., Zralý Z., Franz J., Čanderle J., Štěpánek J.: Immunreaktion von Rinderfeten auf intrauterine Immunisierung durch Rotavirus	593
Dvořák R., Jagoš P., Jízdny J., Přikrylová J., Hradilová M.: Einfluß der Verfütterung von mittels Natronlauge behandeltem Stroh auf das Stoffwechselprofil der Pansenflüssigkeit, auf Gesundheit und Lebendmassezunahmen von Mastbullen	599
Skalka B.: Isolierung von <i>Staphylococcus hyicus</i> -Stämmen aus gesunden Wirten und diagnostische Studie der Stämme	607
Novotná B., Dvořák Z.: Postmortale Bildung anorganischen Phosphors in den Skelettmuskeln von Schweinen im Hinblick auf den Nachweis von PSE-Fleisch	617
Smutný J., Ivanko Š., Várady J., Gyulai F., Strapáč I., Dičáková Z., Šulík E.: Einfluß des Trypsininhibitors aus Samen der Saatwicke auf das Wachstum der Pansenprotozoen <i>Entodinium simplex in vitro</i>	625
Křižanová H., Halaša N., Roško L., Zubaj J.: Untersuchungsergebnisse der amerikanischen Faulbrut	633



Rukopisy odevzdány k tisku 5. 7. 1988 — Podepsáno k tisku 13. 9. 1988

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 1988

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, Gottwaldova tř. 206, 709 90 Ostrava 9. Objednávky do zahraničí vyřizuje PNS — ústřední expedice a dovoz tisku Praha, závod 01, administrace vývozu tisku, Kafkova 19, 160 00 Praha 6.