

VĚDECKÝ ČASOPIS



VETERINÁRNÍ MEDICÍNA

2

ROČNÍK 35 (LXIII)
PRAHA
ÚNOR 1990
CENA 15 Kčs
CS ISSN 0375-9427

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 Hromádka, prof. MVDr. Jozef Hrušovský, DrSc., prof. MVDr. Dagmar Ježková, DrSc., doc. MVDr. Evžen Jurák, DrSc., MVDr. Jaroslav Palásek, CSc., prof. MVDr. Mikuláš Pješčák, CSc., doc. MVDr. Jozef Sokol, CSc., prof. MVDr. Bohumil Ševčík, DrSc.

Vedoucí redaktorka ing. Zdeňka Radošová

OBSAH

Kolouch F., Váňová L., Pícha J., Režnický M., Ševčík B.: Morfometrie explantátů luteální tkáně krav po adici různých dávek 15-glykal cloprostenu (Glystrophon inj. Spofa)	65
Deptula W., Ruczkowska J., Szenfeld J., Choroszy-Król I., Trávníček M.: Imunologický status u hovädzieho dobytku prirodzene infikovaného mikroorganizmami <i>Chlamydia trachomatis</i> a <i>Chlamydia psittaci</i>	73
Lukášová J., Radová P., Sojková M., Kryštofová J.: Vliv mléčných kultur na přežívání salmonel v mléce	81
Vrzal V., Čupera Z., Chumela J., Zatloukal L.: Ověřování imunogenních a protekčních schopností vakcíny proti vzteklině tkáňové inaktivované	87
Ruprich J., Piskač A.: Účinek polychlorovaných bifenylov (PCB) na organismus kuřat: vliv dlouhodobého příjmu středních dávek Deloru 103 na koncentraci thyroxinu, trijódthyroninu a celkového vápníku v krevním séru	97
Tokošová M.: Sledovanie účinku cyadoxu a virginiamycinu na priebeh Markovej choroby u kurčiat	105
Fukal L.: Rychlý a jednoduchý postup pro radioimunochemické stanovení aflatoxinu B ₁ v obilninách a krmivech s komerční analytickou soupravou	113
Procházka H., Brunclík T., Jandl J., Jirásek V., Novosad J., Hampl J.: Přechody cesia v krátkých potravních řetězcích	119

СОДЕРЖАНИЕ

Колоух Ф., Ванова Л., Пиха Й., Режники М., Шевчик Б.: Морфометрия эксплантатов лютеальной ткани коров после адииции различных доз 15-гликал клопростенола (Glystrophon inj. Spofa)	71
Дептула В., Ручковска Я., Сенфелд Й., Хороши-Крол, И., Травничек М.: Статус иммунологии у говяжьего группного рогатого скота естественно инфицированного микроорганизмами <i>Chlamydia trachomatis</i> и <i>Chlamydia psittaci</i>	79
Лукашова Й., Радова П., Сойкова М., Крыштофова Я.: Действие молочных культур на выживаемость сальмонелл в молоке	86
Врзал В., Чупера З., Хумела Й., Затлоукал Л.: Аттестация иммуногенных и протекционных способностей инактивированной тканевой вакцины против бешенства	94
Руприх Й., Пискач А.: Эффект полихлорированных бифенилов (ПХБ) на организм цыплят: действие долгосрочного приема средних доз делора 103 на концентрацию тироксина, трийодтрионина и общего кальция в кровяном сыворотке	103
Токосова М.: Наблюдение за эффектом циадокса и виргиниамидина на ход болезни Марка у цыплят	112
Фукал Л.: Быстрый и простой ход для радиоимунохимического определения афлатоксина B ₁ в зерновых и кормах коммерческой аналитической единицей	116
Прохазка Г., Брунцлик Т., Яндл Я., Ирасек В., Новосад И., Гампл Я.: Переходы цезия в коротких цепочках пищевых продуктов	127

MORFOMETRIE EXPLANTÁTŮ LUTEÁLNÍ TKÁNĚ KRAV PO ADICI RŮZNÝCH DÁVEK 15-GLYKAL CLOPROSTENOLU (GLYSTROPHAN INJ. SPOFA)

F. Kolouch, L. Váňová, J. Pícha, M. Režnický, B. Ševčík

KOLOUCH, F. — VÁŇOVÁ, L. — PÍCHA, J. — REŽNICKÝ, M. — ŠEVČÍK, B. (Výzkumný ústav pro biofaktory a veterinární léčiva, Pohoří-Chotouň): *Morfometrie explantátů luteální tkáně krav po adici různých dávek 15-glykal cloprostenolu (Glystrophan inj. Spofa)*. Veter. Med. (Praha), 35, 1990 (2) : 65-72.

Histologickým a morfologickým vyšetřením jsme sledovali explantáty gravidních žlutých tělísek čtyř krav poražených sedmý den po superovulaci PMSG a po provedené inseminaci. K médiu explantátů luteální tkáně jsme přidávali testovanou látku 15-glykal cloprostenol v dávkách 2,5; 25 a 250 $\mu\text{g} \cdot \text{ml}^{-1}$ média. Paralelně byl sledován cloprostenol v přípravku Oestrophan inj. Spofa v dávce 25 $\mu\text{g} \cdot \text{ml}^{-1}$ média. Médium působilo 24 hodiny při teplotách 37 °C a 24 °C. Kromě přehledného histologického vyšetření jsme sledovali tyto morfometrické ukazatele: celkový počet luteálních buněk na ploše 1 mm², průměrnou plochu luteálních buněk a jejich jader a stanovení nukleocytoplazmatického poměru těchto buněk, plochu parenchymu (luteální buňky a stroma) luteální tkáně na ploše 1 mm². Uvedené vyšetření naznačilo, že 15-glykal cloprostenol v dávce 25 $\mu\text{g} \cdot \text{ml}^{-1}$ média působí na luteální tkáň stimulačně, luteotropně. Projevilo se to zejména hyperplazií luteální tkáně, nejvyšším nukleocytoplazmatickým poměrem a největší plochou parenchymu luteální tkáně. Naproti tomu desetinásobně vyšší dávka (250 $\mu\text{g} \cdot \text{ml}^{-1}$ média) téže látky působila luteolyticky, podobně jako paralelně ověřovaný cloprostenol.

morfometrie luteální tkáně; krávy; 15-glykal cloprostenol (Glystrophan inj. Spofa); luteotropní a luteolytický účinek

Mnohostranné farmakologické účinky syntetických prostaglandinů naznačují další možnosti jejich specifických účinků na různé orgánové systémy. Je známo, že endogenní prostaglandiny se uplatňují v patogenezi mnoha onemocnění a medikamentózní inhibice jejich syntézy patří mezi základní terapie zánětlivých procesů (Ruckebusch aj., 1983).

Ze skupiny syntetických analogů prostaglandinu F₂ alfa je v oblasti reprodukce pro svůj účinek na morfologickou a funkční regresí periodického, pseudogravidního a gravidního žlutého tělíska široce využíván cloprostenol. Od ukončení syntetického vývoje tohoto analogu byly na bázi této substance na světovém trhu zavedeny různé přípravky, mezi něž patří i československý Oestrophan inj. Spofa (Ševčík aj., 1980).

V současné době byl v k. p. Spolana Neratovice ve spolupráci s VŠCHT Praha syntetizován originální derivát prostaglandinu F₂ alfa-15-glykal cloprostenol, jehož farmakologický účinek na morfologické změny v luteální tkáni skotu jsme se snažili prokázat.

Abychom získali co nejobjektivnější výsledky, zařadili jsme do metodického postupu vedle klasického histologického vyšetření také vyšetření morfometrické.

Volba morfometrických ukazatelů luteální tkáně, významných pro stanovení účinku testované látky, vychází ze základních morfologických poznatků autorů našich (Hynek, 1960; Horák aj., 1981; Klika aj., 1985) i zahraničních (Sajonski a Smolich, 1972; Horstmann aj., 1975; Bertrand a Chatre, 1976; Irvin aj., 1978; Banks, 1981; Rao a Gibori, 1987).

Práce z posledních pěti let zahrnují již parametry kvantitativní morfologie. Jde převážně o morfometrická sledování, která jsou nejčastěji orientována na distribuci různých typů luteálních buněk normálních (Okuda aj., 1984; Duby aj., 1985) i v různém stupni degenerovaných (Betts aj., 1985).

Pro morfologické sledování luteolytického nebo luteotropního účinku farmakologicky aktivních látek je důležitý výběr těch morfometrických ukazatelů, podle nichž lze interpretovat úroveň regrese žlutého tělíska. Luteolytický proces se projevuje omezením množství cytoplazmatických granulací, periferní vakuolizací a kondenzací cytoplazmy velkých granulóza-luteálních buněk. Tyto buňky ztrácejí svůj původní tvar a nabývají hvězdovitěho tvaru. Po vyjasnění a vymizení jadérek dochází k pyknóze jader těchto buněk (Bertrand a Chatre, 1976).

V našem orientačním experimentu jsme na explantátech luteální tkáně krav sledovali účinek adice různých dávek nového československého derivátu prostaglandinu F₂ alfa (15-glykal cloprostenolu) na histologické a morfometrické ukazatele luteální tkáně. Paralelně byl sledován známý luteolytický účinek cloprostenolu v přípravku Oestrophan inj. Spofa.

MATERIÁL A METODY

Testovaná látka: 15-glykal cloprostenol číslo šarže SP 8102 Oestrophan inj. Spofa.

Schéma pokusu: Od čtyř krav po porážce jsme odebrali žlutá tělíska sedmý den po superovulaci a po inseminaci. Superovulace byla vyvolána aplikací PMSG. Ze žlutých tělísek byly připraveny explantáty, k jejichž médiu byla přidávána testovaná látka 15-glykal cloprostenol v dávkách 2,5, 25 a 250 $\mu\text{g} \cdot \text{ml}^{-1}$ média a cloprostenol v přípravku Oestrophan inj. Spofa. V kontrolní skupině byly vzorky dvojího typu, s inkubací luteální tkáně v médiu a bez inkubace. Působení média s přídavkem testované látky na luteální tkáň jsme sledovali po dobu 24 hodin při teplotách 37 a 24 °C. Explantáty luteální tkáně, určené k histologickému vyšetření, byly z média převedeny do 4% formolu k fixaci na dobu 24 hodin. Potom byly převedeny do 80% alkoholu na 48 hodin. Vzorky zpracované parafinovou technikou jsme barvili hematoxylinem-eozinem.

Sledované ukazatele:

- a) přehledné histologické vyšetření luteální tkáně,
- b) morfometrie luteální tkáně uskutečněná na obrazovém analyzátoru T.A.S plus (WILD LEITZ).

Morfometricky bylo sledováno pět ukazatelů:

- celkový počet luteálních buněk na ploše 1 mm²,
- průměrná plocha 50 luteálních buněk,
- průměrná plocha jader těchto buněk,
- stanovení nukleocytoplazmatického poměru těchto buněk (poměr plochy jádra k ploše cytoplazmy),
- plocha parenchymu luteální tkáně na ploše 1 mm².

Výsledky získané morfometrickým vyšetřením luteální tkáně jsme statisticky hodnotili T-testem.

Na základě přehledného histologického vyšetření jsme v luteální tkáni kontrolní skupiny zjistili převahu různě velkých, funkčních luteálních buněk. V největších z nich byly přítomny četné vakuoly lokalizované v cytoplasmě, převážně kolem jádra.

Podobný histologický obraz jsme zjistili po adici nejnižší dávky ($2,5 \mu\text{g} \cdot \text{ml}^{-1}$) 15-glykal cloprostenolu s tím rozdílem, že přítomnost vakuol v cytoplasmě byla méně častá a jejich lokalizace byla patrná převážně na periférii cytoplazmy.

Střední dávka testované látky ($25 \mu\text{g} \cdot \text{ml}^{-1}$) vyvolala odlišný histologický nález. Převahu v luteální tkáni tvořily menší luteální buňky s výraznou cytoplazmatickou granulací. Jejich nahloučení způsobilo vymizení intercelulárních prostorů a kompresi cévních sinů.

Při použití nejvyšší dávky testované látky ($250 \mu\text{g} \cdot \text{ml}^{-1}$) byl histologický nález charakteristický přítomností změn odpovídajících luteolýze. Výrazné zastoupení buněk s pyknotickými jádry, větší výskyt buněk degenerativního charakteru, zvětšení intercelulárních prostorů na úkor parenchymu, to vše nasvědčovalo výraznému luteolytickému účinku testované látky.

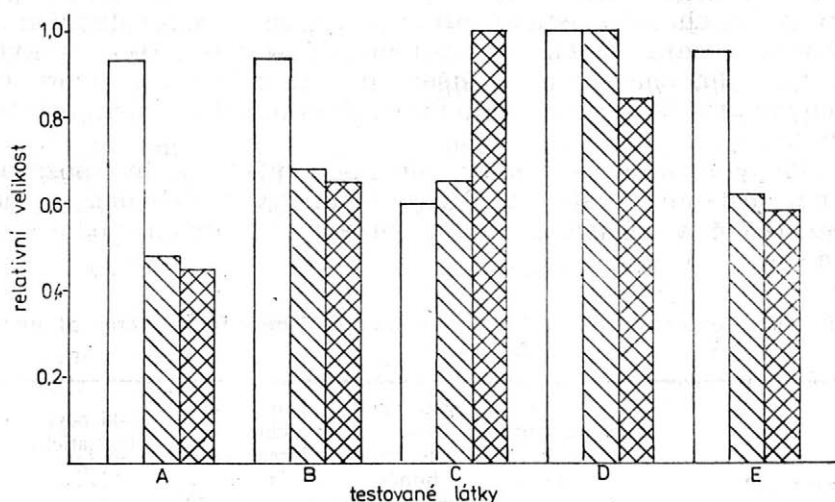
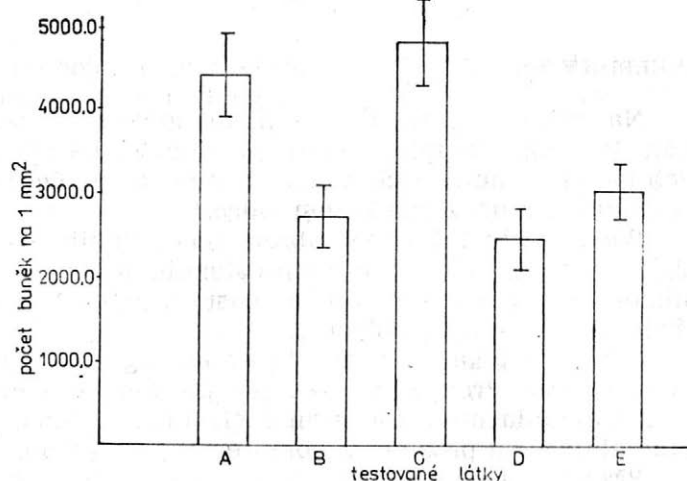
Obdobný histologický nález, ale méně výrazný, byl pozorován po adici cloprostenolu. Nebyly zjištěny rozdíly v histologických nálezech luteální tkáně v závislosti na rozdílných teplotních podmínkách inkubace.

I. Morfometrie explantátů luteální tkáně krav — The morphometry of luteal tissue explants in cows

Testované látky	Počet luteálních buněk (na 1 mm^2)	Průměrná plocha luteálních buněk (μm^2) $n = 50$	Průměrná plocha jader luteálních buněk (μm^2) $n = 50$	Nukleocytoplazmatický poměr (N/C)	Plocha parenchymu luteální tkáně (na 1 mm^2)
	$\bar{x} \pm s$				
Kontrolní skupina (1)	$4426,8 \pm 508,2$	$319,7 \pm 19,6$	$13,8 \pm 2,6$	$0,045 \pm 0,010$	$85,4 \pm 3,1$
15-glykal cloprostenol $2,5 \mu\text{g}$ (2)	* 1 $2737,0 \pm 367,4$	$320,7 \pm 16,0$	$19,6 \pm 1,8$	** 1 $0,065 \pm 0,009$	$80,4 \pm 3,1$
15-glykal cloprostenol $25 \mu\text{g}$ (3)	* 2 $4831,4 \pm 528,6$	** 1, 2 $205,6 \pm 3,3$	$18,7 \pm 1,9$	** 2 $0,100 \pm 0,012$	$99,5 \pm 0,3$
15-glykal cloprostenol $250 \mu\text{g}$ (4)	** 1, 3 $2475,2 \pm 360,4$	** 3 $342,4 \pm 34,1$	$28,8 \pm 6,6$	$0,084 \pm 0,027$	$47,8 \pm 3,9$
Cloprostenol $25 \mu\text{g}$ (5)	** 1 * 3 $3046,0 \pm 332,4$	** 3 $325,7 \pm 6,8$		** 1–3 $0,058 \pm 0,006$	$59,9 \pm 2,3$

$P < 0,01$ * $P < 0,05$ **

1. Průměrný počet luteálních buněk — Average counts of luteal cells



2. Srovnávací diagram morfometrických parametrů luteální buňky — Comparative diagramme of morphometric indicators of the luteal cell

□ průměrná plocha luteálních buněk — average area of luteal cells

▨ průměrná plocha jader luteálních buněk — average area of the nuclei of luteal cells

⊠ nukleocytoplazmatický poměr — nucleocytoplasmic ratio

3. Parenchym luteální tkáně — Luteal tissue parenchyma

Fig. 1—3:

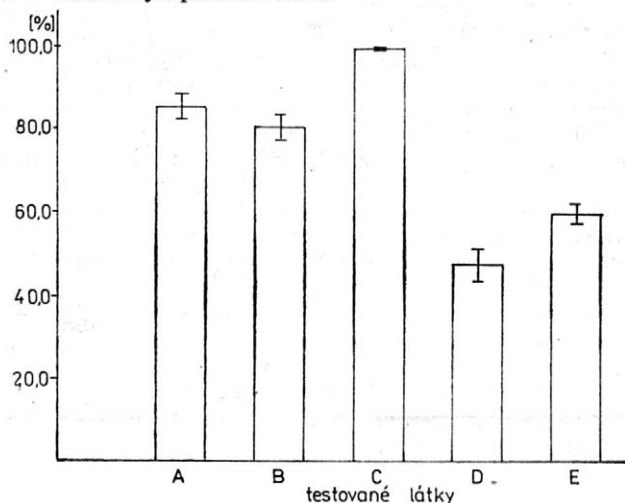
A — kontrolní skupina — control group

B — 15-glykal cloprostenol
2,5 $\mu\text{g} \cdot \text{ml}^{-1}$

C — 15-glykal cloprostenol
25,0 $\mu\text{g} \cdot \text{ml}^{-1}$

D — 15-glykal cloprostenol
250,0 $\mu\text{g} \cdot \text{ml}^{-1}$

E — Cloprostenol
25,0 $\mu\text{g} \cdot \text{ml}^{-1}$



Výsledky sledovaných morfometrických ukazatelů jsou uvedeny v tab. I. Průměrný počet luteálních buněk je znázorněn na obr. 1, srovnávací diagram morfometrických parametrů luteální buňky na obr. 2 a procentuální zastoupení parenchymu na obr. 3.

DISKUSE

Při hodnocení morfologických ukazatelů luteální tkáně vycházíme ze skutečnosti, že předmětem našeho sledování byla tkáň žlutého tělíska gravidních krav v sedmém dnu po superovulaci, tj. ve fázi proliferace, která je ukončena devátý den ovariálního cyklu. Období od třetího do devátého dne cyklu bývá označováno jako vaskularizační fáze (Zerobin, 1987) nebo jako fáze růstu žlutého tělíska (Horstmann aj., 1975; Gasse aj., 1985).

Tomuto stadiu odpovídají zjištěné nálezy histologického a morfometrického vyšetření luteální tkáně v kontrolní skupině.

Po přidavku nejnižší použité dávky 15-glykal cloprostenolu byl patrný luteolytický účinek, kterému kromě histologických nálezů nasvědčují i získané hodnoty kvantitativních ukazatelů. Je to především statisticky významně nižší průměrný počet luteálních buněk, zvětšení plochy jader a v důsledku toho významně vyšší nukleocytoplazmatický poměr než u kontrolní skupiny. Ze srovnávacího diagramu morfometrických parametrů luteální buňky vyplývá, že úroveň hodnot je velmi podobná paralelně testovanému cloprostenolu, jehož luteolytický účinek, který se projevil i v našem experimentu, je obecně známý.

Po adici střední dávky testované látky jsme pozorovali hyperplazii luteální tkáně potvrzenou vedle histologického vyšetření také morfometricky, zjištěním nejvyššího průměrného počtu luteálních buněk a jejich nejmenší plochy ($P < 0,05$). Při téměř nezměněné ploše jader byl v této skupině nukleocytoplazmatický poměr nejvyšší.

Plocha buňky představuje velmi citlivý ukazatel. Odráží-li změny v průběhu normálních vývojových fází luteální tkáně, tím spíše podléhá vlivu farmakologicky aktivních látek.

Stejně významným ukazatelem funkce luteálních buněk je morfometrie parenchymu luteální tkáně, která vychází z její tříslůžkové morfologické struktury. Tuto strukturu tvoří luteální buňky a mezibuněčné prostory, vaskularizační systém a pojivové stroma. Tvar těchto částí a stupeň jejich podílu na stavbě luteální tkáně je variabilní podle jejího vývojového stadia (Gasse aj., 1985). Plocha parenchymu pro naše měření představovala pouze luteální buňky a stroma. Zbývající struktury byly před vlastním měřením z obrazu diskriminovány.

Po přidavku střední dávky 15-glykal cloprostenolu byla plocha parenchymu luteální tkáně největší. To společně s výsledky zbývajících parametrů naznačuje luteotropní účinek testované látky.

Adicí námi použité nejvyšší dávky 15-glykal cloprostenolu jsme dosáhli zcela opačného — tj. luteolytického účinku, který byl mnohem výraznější než po adici cloprostenolu. Tento účinek byl prokázán histologicky, přičemž naše nálezy byly shodné s nálezy, které při luteolýze vyvolané aplikací analogu prostaglandinu F2 alfa uvádějí Bertrand a Chatre (1976).

Také morfometrické nálezy potvrzují tento účinek. Byl zjištěn nej-

menší významný počet luteálních buněk s největší plochou buňky a jádra. S tím souvisí i nejmenší plocha parenchymu. Zjištění dvojího protikladného účinku závislého na dávce testované látky je důvodem, aby účinnost 15-glykal cloprostenolu byla dále sledována v pokusech *in vivo*.

Působení námi testované látky na luteální tkáň se projevilo různým stupněm sekrece progesteronu do kultivačního média [Kolektiv, 1988]. Ve sledovaném časovém úseku, tj. v prvních třiceti minutách a v intervalu mezi první a druhou hodinou inkubace, bylo dosaženo maximální sekrece progesteronu po adici střední dávky 15-glykal cloprostenolu. Tato skutečnost je v souladu se zjištěnými morfologickými a morfometrickými změnami a naznačuje luteotropní účinek testované látky v této dávce.

Literatura

- BANKS, W. J.: Applied veterinary histology. Baltimore, Williams and Wilkins 1981, s. 494-503.
- BERTRAND, M. — CHATRE, J. L.: Physiopathologie lutéale chez la vache. Rev. Méd. vét., 77, 1976, č. 4, s. 541-574.
- BETTS, J. G. — FORREST, D. W. — HUMPHREY, W. D. — RANDEL, R. D. — HARRISON, L. M. — LOVERING, S. L.: Cloprostenol induced luteal regression in the beef cow. II. Histological evaluation of corpora lutea and correlation with luteal progesterone. Theriogenology, 23, 1985, č. 3, s. 523-534.
- DUBY, R. T. — BROWNING, T. — CAREY, D. — BLACK, L.: Progesterone synthesis and histology of postpartum bovine corpora lutea. Theriogenology, 23, 1985, č. 4, s. 619-630.
- GASSE, H. — PAUKERT-ADAM, J. — SCHWARZ, R.: Luteingewebe des Rindes und seine endokrinen Funktionen aus morphologischer Sicht. Dtsch. tierärztl. Wschr., 92, 1985, č. 3, s. 107-113.
- HORÁK, J. — HORÁKOVÁ, A. — MARETTA, M. — MARŠALA, J. — ZIBRÍN, M.: Veterinárna histológia II. Bratislava, Príroda 1981.
- HORSTMANN, G. — SCHWARZ, R. — GRUNERT, E.: Makro- und mikroskopische Untersuchungen über den Einfluss eines synthetischen Gonadotropin-Releasing-Hormons auf die Eierstöcke regelmässig rindernder Kühe. Dtsch. tierärztl. Wschr., 82, 1975, č. 6, s. 228-231.
- HYNEK, B.: Vaječník krávy. Praha, ČSAZV 1960, s. 119-135.
- IRVIN, H. J. — RANDEL, R. D. — HAEUSLY, W. E. — SORESENSEN, A. M.: Reproductive studies of brahman cattle. III. Comparison of weight, progesterone content, histological characteristic and 3beta-hydroxysteroid dehydrogenase activity and brahman X hereford heifers. Theriogenology, 10, 1978, č. 6, s. 417-427.
- KLIKA, E. — VACEK, Z. — DVOŘÁK, M. — KAPPELLER, K.: Histologie. Praha, Avicenum 1985.
- KOLEKTIV: Glystrophan inj. [Závěrečná zpráva.] Pohoří-Chotouň, Výzkumný ústav pro biofaktory a veterinární léčiva 1988.
- OKUDA, K. — KEEBERG-RUPPERT, S. — LEIDL, W.: Histologische und hormonelle Untersuchungen am Corpus luteum periodicum des Rindes. Zuchthygiene, 19, 1984, s. 169-181.
- RAO, M. C. — GIBORI, G.: Corpus luteum: Animal models of possible relevance to reproductive toxicology. Reprod. Toxicol., 1, 1987, č. 1, s. 61-69.
- RUCKEBUSH, J. — TONTAIN, P. L. — KORITZ, G. D.: Veterinary pharmacology and toxicology. Boston, M + P Press Limited 1983.
- SAJONSKI, H. — SMOLLICH, A.: Mikroskopische Anatomie. Leipzig, S. Hirzel Verlag 1972.
- SEVČÍK, B. — MOSTECKÝ, J. — POLÁK, L. — RYCHTAŘÍK, V.: Oestrophan inj. — čas. přípravek pro řízení reprodukce ve velkochovech. Veterinářství, 30, 1980, č. 10, s. 442-444.
- ZEROBIN, K.: Physiologie der Fortpflanzung. In: SCHAUNERT, A. — TRAUTMAN, A.: Lehrbuch der Veterinärphysiologie. Berlin und Hamburg, Paul Parey Verlag 1987.

Došlo dne 9. 3. 1989

КОЛОУХ, Ф. — ВАНОВА, Л. — ПИХА, Й. — РЕЖНИЦКИ, М. — ШЕВЧИК, Б. (Научно-исследовательский институт биофакторов и ветеринарных лекарств, Погоржи-Хотоуны): Морфометрия эксплантатов лютеальной ткани коров после адииции различных доз 15-гикал клопростенола (*Glystrophan inj. Spofa*). Veter. Med. (Praha), 35, 1990 (2) : 65-72.

Гистологическим и морфометрическим обследованием изучали эксплантаты беременных желтых тел четырех коров убитых на 7 день после суперовуляции ПМСГ и после проведенного искусственного осеменения. К медиуму — среде эксплантатов лютеальной ткани добавляли аттестируемое вещество 15-гикал клопростенол в дозах 2,5; 25 и 250 $\mu\text{г} \cdot \text{мл}^{-1}$ среды. Параллельно изучали клопростенол в препарате Oestrophan inj. Spofa в дозе 25 $\mu\text{г} \cdot \text{мл}^{-1}$ среды. Среда действовала 24 часа при температурах 37°C и 24°C. Помимо обширного гистологического обследования изучали следующие морфометрические показатели: общее число лютеальных клеток на площади 1 мм^2 , среднюю площадь лютеальных клеток и их ядер и определение нуклеоцитоплазматического соотношения этих клеток, площадь паренхимы (лютеальные клетки и строма) лютеальной ткани на площади 1 мм^2 . Приведенное обследование показало, что 15-гикал клопростенол в дозе 25 $\mu\text{г} \cdot \text{мл}^{-1}$ среды действует на лютеальную ткань стимуляционно, лютеотропно. В основном это проявилось гиперплазией лютеальной ткани, самым высоким нуклеоцитоплазматическим соотношением и самой большой площадью паренхимы лютеальной ткани. В противоположность этому десятикратно большая доза (250 $\mu\text{г} \cdot \text{мл}^{-1}$ среды) того же вещества действовала лютеолитически, подобно как параллельно проверяемый клопростенол.

морфометрия лютеальной ткани; коровы; 15-гикал клопростенол (*Glystrophan inj. Spofa*); лютеотропный и лютеолитический эффект

KOLOUCH, F. — VÁNOVÁ, L. — PÍCHA, J. — REŽNICKÝ, M. — ŠEVČÍK, B. (Research Institute of Feed Supplements and Veterinary Products, Pohoří-Chotouň): The morphometry of luteal tissue explants in cows after addition of various doses of 15-glycal cloprostenol (*Glystrophan inj. Spofa*). Veter. Med. (Praha), 35, 1990 (2) : 65-72.

Histological and morphometrical examinations were made to investigate the explants of yellow bodies in four gravid cows slaughtered the seventh day after PMSG superovulation and after artificial insemination. The medium of luteal tissue explants was added the test substance 15-glycal cloprostenol at doses of 2.5; 25 and 250 μg per ml of the medium. Parallely cloprostenol in the Oestrophan inj. Spofa preparation was investigated at a dose of 25 μg per ml of the medium. The action of the medium lasted 24 hours at temperatures of 37 and 24°C. Besides an overall histological examination the following morphometric indicators were studied: total counts of luteal cells per 1 mm^2 area, average area of luteal cells and their nuclei and determination of the nucleocytoplasmic ratio of these cells, parenchymal area (area of luteal cells and stroma) of the luteal tissue per 1 mm^2 area. The examinations have indicated that 15-glycal cloprostenol at a dose of 25 μg per ml of the medium has stimulating, luteotropic effects on the luteal tissue. The effects were manifested by luteal tissue hyperplasia and the largest area of luteal tissue parenchyma. On the other hand the effects of a tenfold higher dose (250 μg per ml of the medium) of the same substance were luteolytic similarly like those of parallely tested cloprostenol.

luteal tissue morphometry; cows; 15-glycal cloprostenol (*Glystrophan inj. Spofa*); luteotropic effects

KOLOUCH, F. — VÁNOVÁ, L. — PÍCHA, J. — REŽNICKÝ, M. — ŠEVČÍK, B. (Forschungsinstitut für Biofaktoren und Veterinärarzneimittel, Pohoří-Chotouň): Morphometrie der Explantate des Lutealgewebes der Kühe nach Verabreichung verschiedener Gaben von 15-Glykal Cloprostenol (*Glystrophan inj. Spofa*). Veter. Med. (Praha), 35, 1990 (2) : 65-72.

Auf dem Wege der histologischen und morphometrischen Untersuchung werteten wir die Explantate der graviden Gelbkörper der am 7. Tag nach der PMSG-Superovulation und nach der durchgeführten künstlichen Besamung geschlachteten vier Kühe aus. Dem Medium der Lutealgewebeexplantate setzten wir den getesteten

Stoff 15-Glykal Cloprostenol in Dosen von 2,5; 25 und 250 $\mu\text{g} \cdot \text{ml}^{-1}$ Medium zu. Parallel untersuchten wir Cloprostenol im Oestrophan inj. Spofa in einer Gabe von 25 $\mu\text{g} \cdot \text{ml}^{-1}$ Medium. Das Medium wirkte 24 Stunden lang bei 37° und 24°C ein. Neben einer übersichtlichen histologischen Untersuchung widmeten wir Aufmerksamkeit folgenden Merkmalen: Gesamtzahl der Lutealzellen je 1 mm², Durchschnittsfläche der Lutealzellen und ihrer Kerne und Festlegung des nukleozytoplasmatischen Verhältnisses dieser Zellen, Parenchymfläche (Lutealzellen und Stroma) des Lutealgewebes auf einer Fläche von 1 mm². Die Untersuchung deutete an, dass 15-Glykal Cloprostenol in einer Gabe von 25 $\mu\text{g} \cdot \text{ml}^{-1}$ Medium auf das Lutealgewebe stimulierend, luteotrop einwirkt. Dies fand seinen Niederschlag vor allem in der Hyperplasie des Lutealgewebes, im grössten nukleozytoplasmatischen Verhältnis und in der grössten Parenchymfläche des Lutealgewebes. Eine Gabe von 250 $\mu\text{g} \cdot \text{ml}^{-1}$ Medium (also eine 10× höhere Gabe) wirkte sich luteolytisch ähnlich wie das parallel überprüfte Cloprostenol aus.

Morphometrie des Lutealgewebes; Kühe; 15-Glykal Cloprostenol (Glystrophon inj. Spofa); luteotrope und luteolytische Wirkung

Adresa autorů:

MVDr. František Kolouch, CSc., MVDr. Ludmila Váňová, ing. Josef Pícha, CSc., ing. Miroslav Režnický, prof. MVDr. Bohumil Ševčík, DrSc., Výzkumný ústav pro biofaktory a veterinární léčiva, Pohoří-Chotouň, 254 49 Jílové u Prahy

IMUNOLOGICKÝ STATUS U HOVÄDZIEHO DOBYTKA PRIRODZENE INFIKOVANÉHO MIKROORGANIZMAMI *CHLAMYDIA TRACHOMATIS* A *CHLAMYDIA PSITTACI*

W. Deptula, J. Ruczkowska, J. Szenfeld, I. Choroszy-Król, M. Trávníček

DEPTULA, W. — RUCZKOWSKA, J. — SZENFELD, J. — CHOROSZY-KRÓL, I. — TRÁVNÍČEK, M. (Zaklad Mikrobiologii Uniwersytetu Szczecinskiego, Szczecin; Zaklad Mikrobiologii AM, Wroclau, PLR; Státny veterinárny ústav, Prešov): *Imunologický status u hovädzieho dobytku prirodzene infikovaného mikroorganizmami Chlamydia trachomatis a Chlamydia psittaci*. Veter. Med. (Praha), 35, 1990 (2) : 73-80.

V práci je popísaná imunologická odpoveď u 12- až 14-mesačných býčkov, prirodzene infikovaných mikroorganizmami *Chlamydia (Ch.) psittaci* a *Chlamydia trachomatis*. V priebehu infekcie uvedenými mikroorganizmami (chlamýdie izolované zo spermatu) bez klinických príznakov sa mení aktivita leukocytov a polymorfonukleárných buniek (PMN) v periférnej krvi a znižujú sa koncentrácie sérových imunoglobulínov (IG). Bolo dokázané, že infekcia býčkov *Ch. trachomatis* zvyšuje schopnosť buniek PMN pohlcovať baktérie (zo 14,2 na 20,1), percento fagocytujúcich buniek v periférnej krvi (z 13,0 na 26,5 %), aktivitu redukcie NBT tak v spontánnom teste (z 3 na 6), ako aj v teste stimulovanom (z 8 na 12), a tiež aktivitu myeloperoxidázy (z 0,29 na 0,42). U týchto zvierat sme taktiež pozorovali zníženie (hoci nie štatisticky významné) koncentrácií sérových IgG₁, IgG₂, IgA približne o 10 % a u IgM okolo 30 %. U býčkov infikovaných *Ch. psittaci* sa znížila migrácia leukocytov v periférnej krvi (zo 4,5 na 2,7 mm), adhérenca buniek PMN (z 50 na 32), množstvo lyzozýmu (z 0,63 na 0,35 mg.l⁻¹). U týchto býčkov bolo tiež potvrdené zníženie koncentrácie sérových Ig z 12,2 na 8,2 g.l⁻¹ u IgG₁ a z 3,8 na 1,7 g.l⁻¹ u IgM.

Chlamydia psittaci; *Chlamydia trachomatis*; býci; bunková a humorálna imunita

Existuje mnoho výskumných prác týkajúcich sa chlamýdií a chlamýdióz u ľudí a zvierat, málo z nich sa však dotýka sledovania imunologického statusu. U hovädzieho dobytku infikovaného *Chlamydia (Ch.) psittaci* je popísaná jedine úloha sérových imunoglobulínov (Deptula a i., 1985; Krauss a i., 1985; Deptula a Szenfeld, 1988), poprípade niektoré etapy procesu fagocytózy a polymorfonukleárných buniek (PMN) v periférnej krvi, či obsahu lyzozýmu v krvnom sére (Deptula a i., 1985, 1988). Tieto fakty, ako aj častý výskyt subklinických infekcií u zvierat vyvolávaných chlamýdiami (Roslanowski a i., 1986), boli dôvodom k realizácii tejto štúdie. V práci sú uvedené hodnoty faktorov nešpecifickej bunkovej imunity ako aj hodnoty ukazovateľov humorálnej imunity u hovädzieho dobytku prirodzene infikovaného *Ch. trachomatis* a *Ch. psittaci*.

Skupina zvierat	Hodnoty	Nešpecifická bunková imunita				
		migrácia [mm]	adhe- rencia [%]	fagocytovanie — percento buniek NBT		
				fagocy- tárny index	percento fagocyto- vaných buniek	v spon- tánnom teste
Infekcia <i>Chlamydia trachomatis</i>	X min — max	3,8 3,3–4,1	48 40–53	20,1 ^b 15,3–25,1	26,5 ^b 20–35	6 ^b 5–12
Infekcia <i>Chlamydia psittaci</i>	X min — max	2,7 2,5–3,1	32 28–38	14,5 10,5–17,5	14 15–18	3 1–7
Kontrolná	X min — max	4,5 ^a 4,0–4,6	50 ^a 40–53	14,2 10,3–16,9	13 11–19	3 2–6

Vysvetlivky: a — štatisticky významné rozdiely medzi skupinami II a III
b — štatisticky významné rozdiely medzi skupinami I a III

MATERIÁL A METÓDY

Sledovanie bolo urobené na 44 býčkoch (rozdelených do troch skupín, plemena ncb — poľské nížinné čierno-biele), vo veku 12 až 14 mesiacov, ktoré boli náhodne vybrané spomedzi zvierat odchovaných v centrálnej odchovni býkov. U zvierat, ktoré boli v procese prípravy na aukčný trh, sa neprejavovali klinické príznaky akéhokoľvek ochorenia. Zvieratá sme rozdelili do skupín na základe vyšetrenia ejakulátu a sérologických vyšetrení.

Prvú skupinu tvorili býky (vybrané zo 100 kusov), z ejakulátu ktorých sa na bunkovej kultúre McCoy izolovala *Ch. trachomatis* (Ripa a Mardh, 1977; Ruczowska a Choroszy-Król, 1988), čo bolo potvrdené testom ELISA (Chlamydiazom f. Abbot) a priamou imunofluorescenciou za použitia monoklonálnych protilátok (Chlamyset f. Orion Diagnostic) (Tam a i., 1984). U tejto skupiny zvierat boli izolačné pokusy na kuracích embryách a hladiny protilátok v komplement-fixačnej reakcii za použitia antigénu *Chlamydia psittaci* f. Dessau — NDR negatívne.

Druhú skupinu zvierat predstavovalo 22 zvierat (vybraných z 280 býkov), u ktorých bola pri dvojnásobnom opakovanom vyšetrení spermy odobranej v intervale 10 až 14 dní potvrdená prítomnosť *Ch. psittaci* metódou izolácie na kuracích embryách, rovnako ako metódou priamej imunofluorescencie za použitia konjugátu vyrobeného z ovčieho rekonvalescentného séra s vysokým titrom protilátok voči *Ch. psittaci*. U týchto býkov bola v opakovanom súbežnom vyšetrení taktiež potvrdená séropozitivita voči chlamýdiám metódou komplement-fixačnej reakcie za použitia antigénu *Ch. psittaci* f. Dessau, NDR.

Tretiu skupinu tvorilo 18 býkov, v sperme ktorých sa nezistila ani *Ch. trachomatis*, ani *Ch. psittaci* a u ktorých sa nezistili pozitívne hladiny protilátok voči chlamýdiám za použitia komplement-fixačnej reakcie.

V krvi, ktorá bola odobraná od všetkých zvierat dvakrát v odstupe siedmich dní zo všetkých troch skupín, sme sledovali tieto hodnoty: izoláciu leukocytov a buniek PMN a aj ich spontánnu migráciu v agaróze metódou, ktorú uviedli Nowacki (1980) a Naylor a Little (1975); chemotaktický test sa u týchto buniek robil podľa metódy, ktorú popísali Nelson a i. (1975), Hermanowicz (1981) a Roth a Kaerberle (1981) s vyjadrením rozdielu medzi spontánnou migráciou a chemotaktickým testom; adhérenca buniek PMN bola skúšaná podľa metódy

		Nešpecifická humorálna imunita		Imunoglobulíny [g.l ⁻¹]			
v stimulo- vanom teste	test vnútro- bunkového zabíjania	lyzo- zýmy [mg.l ⁻¹]	aktivita myeloper- oxidázy	G ₁	G ₂	M	A
12 ^b	2,7	0,71	0,42 ^b	10,1	5,9	2,4	0,38
6-17	2,3-3,1	0,52-0,91	0,35-0,71	9,5-12,2	5,2-6,0	2,0-3,1	0,23-0,49
4	2,3	0,35	0,13	8,2	5,5	1,7	0,42
2-5	2,1-2,8	0,25-0,38	0,05-0,33	7,5-9,8	5,0-6,5	1,1-2,9	0,35-0,68
8 ^a	2,2	0,63 ^a	0,29	12,2 ^a	6,6	3,8 ^a	0,45
6-13	1,9-2,9	0,55-0,83	0,15-0,51	11,5-13,5	6,0-7,2	3,3-4,5	0,38-0,71

popísanej autormi Lorente a i. (1973), fagocytóza podľa metódy autora Ladosz (1968); test vnútrobunkového zabíjania bol urobený podľa metódy autorov Quie a i. (1967).

Obsah lyzozýmu (LMZ) v krvnom sére ako aj aktivitu myeloperoxidázy v PMN bunkách sme zisťovali metódou podľa Grahama; túto metódu opísal Zawistowski (1975). Ďalej boli sledované množstvá sérových imunoglobulínov podtried IgG₁, IgG₂ ako aj tried IgM a IgA (podľa štandardov f. Milles, USA). Výsledky vyšetrení krvi sú vyjadrené v stredných aritmetických priemeroch (tab. I) a zhodnotené štatisticky Studentovým testom pri $P = 0,05$.

VÝSLEDKY

Získané výsledky (tab. I) potvrdzujú, že bezsymptómové infekcie mikroorganizmami z rodu *Chlamydia* spôsobujú u býkov veľké zmeny v aktivite nešpecifických, ale aj špecifických faktorov imunity. V prípade nakazenia býkov mikroorganizmami *Ch. trachomatis* (skupina č. 1) sú zmeny charakterizované zvýšením hodnôt ukazovateľov polymorfonukleárnych buniek v niektorých etapách procesu fagocytózy, nárastom hodnôt testu nešpecifickej bunkovej imunity (NBT) a aktivity myeloperoxidázy (MPO) v závislosti od schopnosti fagocytovať a miernym znížením hladín sérových IgG₁ a IgM (nie však štatisticky významne). Aktivita leukocytov v periférnej krvi v súvislosti s migráciou, adherenciou, testom vnútrobunkového zabíjania a hladín sérového lyzozýmu sa u tejto skupiny nezmenila.

U skupiny č. 2 sa zistilo štatisticky významné zníženie hodnôt migrácie, adherencie, redukcie testu NBT, zníženie hladiny sérového lyzozýmu a hladiny IgM. U ostatných ukazovateľov nebolo zníženie štatisticky významné.

Znížené ukazovatele u skupiny č. 1 boli pri porovnaní s tými istými ukazovateľmi u skupiny č. 2 o 20 až 40 % vyššie. Zmenená reaktivnosť

buniek imunitného systému u vyšetrovaných zvierat (skupina č. 1 a 2) potvrdzuje vysokú premenlivosť v oblasti imunologickej špecificity *Ch. trachomatis* a *Ch. psittaci*.

DISKUSIA

Podľa autorov Storz a Krauss (1985), Schmeer a i. (1987), Schachter a Caldwell (1980), ako aj mnohých ďalších, ktorých cituje Rodokalis (1987), možno prijať názor, že vďaka premenlivosti *Ch. trachomatis* narastá aktivita hlavne u tzv. buniek prvej obrannej línie zvierat, čo je najpravdepodobnejšie príčinou, že nedochádza ku klinickým prejavom. U ľudí je dokázané, že *Ch. trachomatis* zvyšuje aktivitu cytotoxických enzýmov závislých od obsahu kyslíku v polymorfonukleárnych a mononukleárnych bunkách a zvyšuje cytotoxickosť lymfocytov T (Pearce, 1983). Taktiež je potrebné uviesť, že v prípade bezpríznakových infekcií mikroorganizmami z rodu *Chlamydia* sa pozoruje hlavne nárast aktivity buniek polymorfonukleárnych a mononukleárnych (Idtse, 1984; Pearce, 1983; Rodokalis, 1987). Okrem toho, ako to dokázalo veľa autorov (cit. Pearce, (1983), z chlamýdií vykazuje *Ch. psittaci* zvlášť u laboratórnych zvierat supresívne pôsobenie na bunky imunitného systému silnejšie než *Ch. trachomatis*. U býkov infikovaných *Ch. trachomatis* (skupina 1) sme pozorovali nárast hodnôt testu NBT a aktivity MPO v závislosti od fagocytózy, čo potvrdzujú výsledky o stimulujúcom vplyve *Ch. trachomatis* na imunitný systém. U zvierat skupiny 1 sme pozorovali malé zníženie (nie však štatisticky významné) hladín sérových IgG₁ a IgM, čo súhlasí s výsledkami, ktoré zverejnil Pearce (1983). Uvádza sa, že infekcia ľudí mikroorganizmom *Ch. trachomatis* môže spôsobovať u sérových Ig zníženie hlavne u imunoglobulínov tried G a M, čiastočne aj tried A a G.

Nezmenila sa aktivita leukocytov v periférnej krvi u zvierat skupiny 1 v súvislosti s migráciou, adhérenciou, testom vnútrobunkového zabíjania a koncentrácie sérového lyzozýmu. Vzhľadom na to, že chýbajú analogické výskumy u zvierat a ľudí, je ťažké jednoznačne interpretovať dosiahnuté výsledky.

Naopak u býkov skupiny 2 sa zistilo zníženie hodnôt migrácie, adhérencie, redukcia testu NBT, zníženie koncentrácie sérového lyzozýmu, čo potvrdzuje supresívny vplyv *Ch. psittaci* na bunky imunitného systému hovädzieho dobytká (Schachter a Caldwell, 1980; Idtse, 1984; Deptula a i., 1985; Storz a Krauss, 1985; Deptula a Szenfeld, 1987; Schmeer a i., 1987; Deptula, 1988). Predpokladá sa, že znížená aktivita PMN buniek spôsobuje oslabenie imunologického signálu, ktorý je vysielaný do lymfocytov T a B. Výsledkom je pravdepodobne zníženie objemov sérových imunoglobulínov podtriedy G₁, resp. triedy M u zvierat skupiny 2 (tab. I). Výsledky sú zhodné s výsledkami autorov Schmeer a i. (1985, 1987), ktorí pozorovali zníženie sérového IgG₁ tiež u hovädzieho dobytká infikovaného prirodzene a experimentálne *Ch. psittaci*. Borowik a i. (1978) ako aj Suri a i. (1987) u hovädzieho dobytká infikovaného experimentálne a prirodzenou cestou potvrdili vzostup sérových Ig tried G, M, A a v druhom prípade IgG. Obecne sa prijíma názor, že hlavnými protilátkami proti chlamýdiám u hovädzieho dobytká sú sérové Ig podtriedy IgG₂ a IgG₁

(Deptula a Szenfeld, 1987; Schmeer a i., 1985a, b, 1987).

Potvrdením hypotézy týkajúcej sa hlavne úlohy IgG₂ a IgG₁ pri chlamydiózach u prežúvavcov sú výskumy autorov Krauss a i. (1985), Schmeer a i. (1986, 1987) a Semler (1987), ktorí tiež u oviec a kôz nakazených prirodzene a experimentálne pozorovali podobnú dynamiku v rámci týchto tried Ig. Dokázali, že kvalita a veľkosť zmien u podtried IgG₂ a IgG₁ je rozdielna v závislosti od rodu prežúvavca, spôsobu nakazenia a dĺžke trvania chorobného procesu. Je tiež dokázané (Schmeer a i., 1987), že u hovädzieho dobytká tak experimentálna, ako aj prirodzená infekcia *Ch. psittaci* spôsobuje, že pomer IgG₁ a IgG₂ sa mení z 1:2 na 1:4, čo je zhodné s tendenciou dynamiky IgG₁ a IgG₂ u býkov skupiny 2 a tiež skupiny 1. U vlastných vyšetrení je podiel IgG₁ a IgG₂ u zvierat v kontrolnej skupine (3) 2:1, u zvierat infikovaných (skupiny 1 a 2) okolo 1,3 — 1,5:1. Nami pozorované zníženie objemu IgM u hovädzieho dobytká infikovaného *Ch. psittaci* (skupina 2) nepotvrďuje výsledky výskumov iných autorov (Krauss a i., 1985; Semler, 1987), ktorí u oviec a kôz infikovaných experimentálne a prirodzene *Ch. psittaci* nepotvrdili zníženie sérových Ig triedy M. resp. pokiaľ sa toto zníženie zaregistrovalo, týkalo sa len niektorých kusov.

V závere možno konštatovať, že subklinická forma infekcie hovädzieho dobytká *Ch. trachomatis* a *Ch. psittaci* spôsobuje zmeny v reakciách buniek imunitného systému. Hlavné zmeny sa týkajú aktivity PMN buniek v periférnej krvi. Bolo tiež dokázané, že *Ch. trachomatis*, spôsobujúci infekciu u býkov, vyvoláva zvýšenú aktivitu PMN buniek v niektorých etapách fagocytózy. Naopak, u analogickej infekcie vyvolanej *Ch. psittaci* je potvrdené supresívne pôsobenie tohto mikróbu na proces fagocytózy. Okrem toho naše sledovania potvrdili brzdiaci vplyv *Ch. psittaci*, čiastočne aj *Ch. trachomatis* na sekrečnú činnosť lymfocytov B.

Literatúra

- BOROVÍK, R. V. — KURTANOV, I. A. — TERSKICH, I. I.: Specifičeskaja aktivnost' immunoglobulinov krupnogo rogatogo skota pri experimentalnoj chlamidijnoj infekcii. Vopr. Virusol., 4, 1978, č. 4, s. 485-488.
- DEPTULA, W.: Wskázquezniki odporności u bydła zakazonego wirusem IBR (IPV Bovid herpesvirus 1-BHV 1) oraz ich wykorzystanie w profilaktyce otru wywołanego buhajów. [Praca habil.] Lublin, AR 1988.
- DEPTULA, W. — SZENFELD, J.: Chlamydie i chlamydiszy — wybrane zaganienia. Med. wet., 43, 1987, č. 2, s. 88-93.
- DEPTULA, W. — CZYMBOR, M. — SZENFELD, J.: Odpowiedź immunologiczna u buhajów zakażonych chlamydiami. In: Mater. 24 Zjazdu PTNW Sek. Fizjologii a Patologii Rozrodu oraz Sztucznego Unasienienia Zw. i Chorób Wymion, Olsztyn 1985, s. 61-62.
- DEPTULA, W. — SZENFELD, J. — TRYBALA, E.: Immune parameters in bulls naturally infected with Chlamydia. Proc. 15th Wld buiatr. Congr., 1, 1988, s. 201-206.
- HERMANOWICZ, A.: Sposoby badania oraz mechanizmy chemotaksji i migracji spon-tanicznej fagocytów *in vitro*. Acta haem. pol., 12, 1981, s. 197-205.
- IDTSE, F. S.: Chlamydia and chlamydial diseases of cattle: a review of the literature. Veter. med. small Anim. Pract., 4, 1984, s. 543-550.
- KRAUSS, H. — SEMLER, B. — SCHMEER, N. — SOMMER, M.: Chlamydial disease of ruminants. In: Semin. CEC programme of coordin. agric. res., Brussel 1985, s. 85-96.
- LADOSZ, J.: The influence of the automatic nervous system on phagocytosis. Arch. immunol. Ther., 16, 1968, s. 573-585.

- LORENTE, F. — FONTAN, G. — GARCIA, M. C. R. — OJEDA, J. A.: A simple and reproducible method to evaluate granulocyte adherence. *J. immunol. Meth.*, 19, 1973, s. 47-51.
- NAYLOR, P. F. — LITTLE, T. W. A.: A simple method for isolating leukocytes from bovine blood and their separation into lymphocyte and granulocyte fractions. *Res. veter. Sci.*, 18, 1975, s. 336-337.
- NELSON, R. D. — QUITE, P. G. — SIMMONS, R. L.: Chemotaxis under agarose: A new and simple method for measuring chemotaxis and spontaneous migration of human polymorphonuclear leukocytes and monocytes. *J. Immunol.*, 115, 1975, s. 1650-1656.
- NOWACKI, J.: Populacja limfocytów, migracja granulocytów oraz ich zdolność we-wnătrzkomórkowego zabijania u krowy i nowo narodzonego cielęcia. *Med. weter.*, 36, 1980, s. 643-647.
- PEARCE, J. H.: Immune responses and chlamydial infections. *Brit. med. Bull.*, 39, 1983, s. 187-193.
- RIPA, K. T. — MARDH, P. A.: Cultivation of *Chlamydia trachomatis* in cycloheximide-treated McCoy cells. *J. clin. Microbiol.*, 6, 1977, č. 5, s. 328-335.
- RODOKALIS, A.: Propriétés biologiques des chlamydia. *Ann. Rech. vétér.* 18, 1987, č. 1, s. 19-27.
- ROSLANOWSKI, K. — DEPTULA, W. — SZENFELD, J.: Materiały z ogólnokrajowej sesji PTNW pt. *Chlamydia* i chlamydiozy u ludzi i zwierząt — znaczenie i rozpoznanie. Gorzów Wlkp., Wyd. PTNW WZWet. 1986, s. 1-72.
- ROTH, I. A. — KAEBERLE, M. L.: Evaluation of bovine polymorphonuclear leucocyte function. *Veter. Immunol. Immunopathol.*, 2, 1981, s. 157-174.
- RUCZKOWSKA, J. — CHOROSZY-KRÓL, I.: Zapobieganie bakteryjnej kontaminacji hodowli *Chlamydia trachomatis* na komórkach McCoya. *Przegl. Derm.*, 75, 1982, č. 2, s. 67-72.
- QUIE, P. G. — WHITE, J. G. — HOLMES, R. A.: *In vitro* bactericidal capacity of human polymorphonuclear leucocytes: Diminished activity in chronic granulomatous disease of childhood. *J. clin. Invest.*, 46, 1967, s. 668-679.
- SCHACHTER, J. — CALDWER, H. D.: Chlamydie. *Ann. Rev. Microb.*, 34, 1980, č. 5, s. 385-391.
- SCHMEER, N. — MÜLLER, P. — KRAUSS, H.: Differences in IgG₁ and IgG₂ responses of goats of chlamydial abortions and to clinically inaparent infection detection detected by the western blot technique. *J. veter. Med., R. B.*, 33, 1986, č. 9, s. 751-760.
- SCHMEER, N. — SCHNORR, K. — PEREZ-MARTINEZ, J. A. — STORZ, J.: IgG₁ dominance of *Chlamydia psittaci* specific IgG₂ subclasses in the humoral immune responses. *Proc. 66th Anim. Meet. Cont. Res. Work. Anim. Dis.*, Chicago 1985a, s. 33-41.
- SCHMEER, N. — SCHNORR, J. — PEREZ-MARTINEZ, J. — KRAUSS, H.: Dominance of *Chlamydia psittaci* specific IgG₂ subclass in the humoral immune responses of naturally and experimentally infected cattle. *Veter. Immun. Immunopath.*, 15, 1987, č. 3, s. 311-322.
- SCHMEER, N. — PEREZ-MARTINEZ, J. A. — SCHNORR, K. — STORZ, J. — KRAUSS, H.: Analysis of the IgG response of cattle to natural and experimental chlamydial infections. *Proc. IV. Int. Symp. veter. Lab. Diagn.*, Amsterdam 1985b, s. 472-475.
- SCHMEER, N. — SCHNORR, K. — STORZ, J. — PEREZ-MARTINEZ, J. A. — KRAUSS, H.: Specific interaction of bovine IgG₁ and IgG₂ subclasses with different chlamydial antigens. *Zbl. Bakt. Hyg.*, R. A, 266, 1987, č. 3, s. 305-315.
- SCHMEER, N. — KRAUSS, H. — APEL, J. — ADAMI, M. — MÜLLER, H. P. — SCHNEIDER, W. — PEREZ-MARTINEZ, J. A. — RESER, H.: Analysis of caprine IgG₁ and IgG₂ subclass responses to *Chlamydia psittaci* infection and vaccination. *Veter. Microbiol.*, 14, 1987, č. 2, s. 125-135.
- SEMLER, B.: Bestimmung von Immunoglobulin-Klassen und Subklassen (IgG₁, IgG₂, IgM) gegen *Coxiella burnetii* und *Chlamydia psittaci* bei natürlich infizierten und mit Abortstop FQ vakzinieren Schafen. [Doktorská habilitace.] Giessen 1987.
- STORZ, J. — KRAUSS, H.: Chlamydia. In: BLOBEL, H. — SCHLIESSER, T. (Eds): *Handbuch der bakteriellen Infektion bei Tieren*. Jena, VEB Gustav Fischer Verlag 1985. 447 s.
- SURI, A. K. — GUERIN, B. — HUMBOLT, P. — THIBIER, H.: Effect of infection

of the genital tract on the concentration of IgG and albumin in bull serum and semen. *Veter. Immun. Immunopath.*, 13, 1987, č. 2, s. 273-278.

TAM, M. R. — STAMM, W. E. — HANDSFIELD, H. H. — STEPHENS, R. — KNO, C. C. — HOLMES, K. L. — DITZENBERGER, K. — KIEGER, M. — NOWIANSKI, R. C.: Culture-independent diagnosis of *Chlamydia trachomatis* using monoclonal antibodies. *New Engl. J. Med.*, 310, 1984, č. 11, s. 1146-1168.

ZAWISTOWSKI, S.: Technika histologiczna, podstawy histologii oraz histologia. Warszawa, PZW 1975.

Došlo dňa 1. 2. 1989

ДЕПУЛА, В. — РУЧОВСКА, Я. — СЕНФЕЛД, Й. — ХОРОШИ-КРОЛ, И. — ТРАВНИЧЕК, М. (Институт микробиологии, Штетинский Университет, Штетин; Институт микробиологии АМ, Вроцлав, ПНР; Государственный ветеринарный институт, Прешов): Статус иммунологии у говяжьего крупного рогатого скота естественно инфицированного микроорганизмами *Chlamydia trachomatis* и *Chlamydia psittaci*. *Veter. Med. (Praha)*, 35, 1990 (2) : 73-80.

В работе описывается иммунологический ответ у 12—14 месячных бычков естественно инфицированных микроорганизмами *Chlamydia (Ch.) psittaci* и *Chlamydia trachomatis*. В ходе инфекции приведенными микроорганизмами (хламидии изолированные из спермы) без клинических признаков меняется активность лейкоцитов и полиморфных клеток (PMN) в периферической крови и понижается концентрация серумных иммуноглобулинов (IG). Доказали, что инфекция бычков *Ch. trachomatis* повышает способность клеток PMN поглощать бактерии (из 14,2 на 20,1), процент фагоцитирующих клеток в периферической крови (из 13,0 на 20,5 %), активность редукции NBT в спонтанном тесте (из 3 на 6), как и в стимулированном (из 8 на 12), как и активность миелопероксидазы (из 0,29 на 0,42). У этих животных также наблюдали понижение (хотя и статистически незначимое) концентраций серумных IgG₁, IgG₂, IgA приблизительно на 10 % и у IgM приблизительно 30 %. У бычков инфицированных *Ch. psittaci* понизилась миграция лейкоцитов в периферической крови (из 4,5 на 2,7 мм), адгеренция клеток PMN (из 50 на 32), количество лизозима (из 0,63 на 0,35 мг. л⁻¹). У этих бычков также подтвердилось понижение концентрации серумных Ig из 12,2 на 8,2 г. л⁻¹ у IgG₁ и из 3,8 на 1,7 г. л⁻¹ у IgM.

Chlamydia psittaci; *Chlamydia trachomatis*; быки; клеточный и гуморальный иммунитет

DEPTULA, W. — RUSZKOWSKA, J. — SZENFELD, J. — CHOROSZY-KRÓL, I. — TRÁVNÍČEK, M. (Zaklad Mikrobiologii Uniwersytetu Szczecińskiego, Szczecin; Zaklad Mikrobiologii AM, Wroslaw, Poland State Veterinary Institute, Prešov): Immunological status in cattle naturally infected by the microorganisms *Chlamydia trachomatis* and *Chlamydia psittaci*. *Veter. Med. (Praha)*, 35, 1990 (2) : 73-80.

In the present paper there is a description of immunological reactions in 12 to 14 months old bullocks, naturally infected by the microorganisms *Chlamydia (Ch.) psittaci* and *Chlamydia trachomatis*. In the course of infection by the above-mentioned microorganisms (chlamydia isolated from semen) without any clinical symptoms the activity of leucocytes and polymorphonuclear cells (PMN) in the peripheral blood is variable and the concentrations of serum immunoglobulins (IG) decrease. It has been demonstrated that the infection of bullocks by *Ch. trachomatis* increases the bacteria absorbing capacity of PMN cells (from 14.2 to 20.1), percent of phagocytic cells in the peripheral blood (from 13.0 to 26.5 %). NBT reduction activity both in a spontaneous test (from 3 to 6) and in a stimulated test (from 8 to 12), and also myeloperoxidase activity (from 0.29 to 0.42). In these animals there were also recorded decreases (although not statistically significant) in the concentrations of serum IgG₁, IgG₂, IgA by about 10 % and by about 30 % in IgM. In *Ch. psittaci*-infected bulls leucocyte migration in the peripheral blood decreased (from 4.5 to 2.7 mm), PMN cell adherence (from 50 to 32), lysosome amount (from 0.63 to 0.35 mg per l) also decreased. In these bullocks decreases in the concentrations of serum Ig from 12.2 to 8.2 g per l in IgG₁ and from 3.8 to 1.7 g per l in IgM were also proved.

Chlamydia psittaci; *Chlamydia trachomatis*; bulls; cell and humoral immunity

DEPTULA, W. — RUCZKOWSKA, J. — SZENFELD, J. — CHOROSZY-KRÓL, L. — TRÁVNÍČEK, M. (Zakład Mikrobiologii Uniwersytetu Szczecińskiego, Szczecin; Zakład Mikrobiologii AM, Wrocław, VRP; Staatliches Veterinärinstitut, Prešov): *Immunologisches Status von auf natürliche Weise mit Mikroorganismen Chlamydia trachomatis und Chlamydia psittaci infizierten Rindern*. Veter. Med. (Praha), 35, 1990 (2) : 73-80.

In der vorliegenden Arbeit wird die immunologische Reaktion der 12 bis 14 Monate alten mit Mikroorganismen *Chlamydia (Ch.) psittaci* und *Chlamydia trachomatis* auf natürlichem Wege infizierten Bullen beschrieben. Im Verlauf der Infektion mit den angeführten Mikroorganismen (Chlamydien wurden aus dem Sperma isoliert) ohne klinische Symptome ändert sich die Aktivität der Leukozyten als auch der polymorphonuklearen Zellen (PMN) im peripheren Blut und die Konzentrationen der Serumimmunoglobuline (IG) nehmen ab. Es konnte nachgewiesen werden, dass die Infektion der Bullen mit *Ch. trachomatis* das Vermögen der PMN-Zellen Bakterien zu absorbieren steigert (von 14,2 auf 20,1), den Prozentsatz der fagozytierenden Zellen im peripheren Blut ebenfalls steigert (von 13,0 auf 26,5 %), die Aktivität der NBT-Reduktion sowohl im spontanen Test (von 3 auf 6) als auch im stimulierten Test (von 8 auf 12) und die Aktivität der Myeloperoxidase (von 0,29 auf 0,42) erhöht. Bei diesen Tieren beobachteten wir auch eine (statistisch unsignifikante) Senkung der Konzentrationen der Seren IgG₁ IgG₂, IgA um 10 % und bei IgH um 30 %. Bei den mit *Ch. psittaci* infizierten Bullen nahm die Migration von Leukozyten im peripheren Blut (von 4,5 auf 2,7 mm), die Adhäsion der PMN-Zellen (von 50 auf 32), die Menge von Lysosym (von 0,63 auf 0,35 mg.l⁻¹) ab. Bei diesen Bullen wurde auch die Senkung der Konzentration der Seren Ig von 12,2 auf 8,2 g.l⁻¹ bei IgG₁ und von 3,8 auf 1,7 g.l⁻¹ bei IgM bestätigt.

Chlamydia psittaci; *Chlamydia trachomatis*; Bullen; humorale und Zellenimmunität

Adresy autorov:

MVDr. Wiesław Deptuła, DrSc., MVDr. Jerzy Szenfeld, Zakład Mikrobiologii Uniwersytetu Szczecińskiego, ul. Felczaka 3a, 71-417 Szczecin, Polska

Doc. MUDr. Jana Ruczkowska, DrSc., RNDr. Irena Choroszy-Krół, CSc., Zakład Mikrobiologii AM, ul. Chalubińskiego 4, 50-368 Wrocław, Polska

MVDr. Milan Trávníček, CSc., Štátny veterinárny ústav, Bajkalská 28, 080 91 Prešov

J. Lukášová, P. Radová, M. Sojková, J. Kryštofová

LUKÁŠOVÁ, J. — RADOVÁ, P. — SOJKOVÁ, M. — KRYŠTOFOVÁ J. (Vysoká škola veterinární, Brno): *Vliv mléčných kultur na přežívání salmonel v mléce*. Veter. Med. (Praha), 35, 1990 (2) : 81-86.

Studovaly jsme vliv jogurtové a smetanové kultury na přežívání salmonel v mléce. Mléko kontaminované salmonelami bylo smícháno s jogurtovou kulturou a inkubováno tři hodiny při teplotě 43 °C; ve směsi se smetanovou kulturou bylo inkubováno 20 hodin při teplotě 22 °C. Vzorčky pak byly skladovány 24 hodiny při pokojové teplotě a při teplotě 4 °C. Byl prokázán inhibiční účinek obou mléčných kultur na salmonely v rozsahu 92,5 až 99,8 %. Inhibiční účinek byl závislý na aktivitě kultury (vyjádřené titrační kyselostí), době a teplotě skladování a na počáteční koncentraci salmonel.

jogurtová kultura; smetanová kultura; salmonely; inhibice

Přítomnost patogenních mikroorganismů v kysaných mléčných výrobcích je určena různými faktory, především kontaminací mléka, růstem během první fáze fermentace, inhibicí v průběhu zrání a skladování a rekontaminací výrobků. Čisté mlékařské kultury i provozní zákysy produkují účinné antibakteriální látky, které jsou předmětem odborného zájmu. Dosud není znám jednotný princip účinnosti těchto látek a jednotliví autoři je spojují s produkcí specifických antibiotik [Hejzlar aj., 1980], jiní s produkcí peroxidu vodíku, kyseliny mléčné nebo jiných organických kyselin [Gilliande a Speck, 1972].

Vliv antimikrobiálních látek produkovaných mlékařskými kulturami na patogeny, zvláště na stafylokoky, salmonely, *E. coli*, *B. cereus*, shigely, studovalo mnoho autorů [např. Hargrove aj., 1969; Prekoppová a Jamrichová, 1985; Konečný, 1986].

Ve své práci jsme sledovaly účinek jogurtové a smetanové kultury na salmonely.

MATERIÁL A METODA

K pokusům jsme použily:

- jogurtovou kulturu RX a J 22 (ON 57 1702, 1976),
- smetanovou kulturu Fd (ON 57 1701, 1975),
- bakteriální kmeny *Salmonella enteritidis*,
Salmonella derby,
Salmonella bareilly,
- sušené mléko odtučněné (ČSN 57 0803, 1973).

Z 10% roztoku odtučněného mléka jsme připravili tři skupiny vzorků:

1. 50 ml mléka + 0,1 ml suspenze salmonel (hustota suspenze $2 \cdot 10^{10} \cdot \text{ml}^{-1}$) + 1 % jogurtové kultury;
2. 50 ml mléka + 0,1 ml suspenze salmonel;
3. 50 ml mléka + 1 % jogurtové kultury.

U všech vzorků byl stanoven výchozí počet salmonel. Vzorky byly inkubovány při teplotě 43°C tři hodiny. Potom jsme stanovily počet přežívajících salmonel i titrační kyselost v ml NaOH ($c = 0,25 \text{ mol} \cdot \text{l}^{-1}$). Vzorky se smetanovou kulturou byly připraveny stejně, jen inkubační doba byla 20 hodin při teplotě 22°C .

Po inkubaci byly všechny vzorky skladovány 24 hodiny při pokojové teplotě a při teplotě 4°C , znovu byly vyšetřeny na počty salmonel a byla stanovena titrační kyselost. Salmonely jsme stanovily kvantitativní plotnovou metodou na agaru s brilantovou zelení a fenolovou červení.

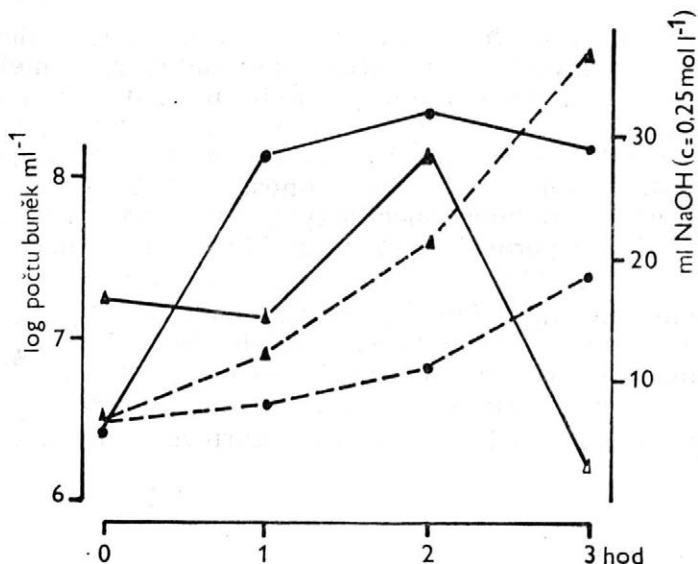
Dále jsme sledovaly vliv různě aktivní jogurtové kultury na salmonely v průběhu zrání. Vzorky jsme odebíraly po jedné, dvou a třech hodinách inkubace při teplotě 43°C a zjišťovaly jsme počet salmonel a titrační kyselost.

Při sledování záchytnosti salmonel ve vzorcích v závislosti na počáteční koncentraci jsme zředovací metodou připravily suspenze salmonel s klesající koncentrací a ty jsme vpravily do mléka. Vzorky byly zpracovány a vyšetřeny stejně, jako je již uvedeno.

VÝSLEDKY

Aktivitu mléčných kultur jsme posuzovaly na základě schopnosti vytvořit pevné koagulum v čase uvedeném v příslušné ČSN a podle kysací mohutnosti.

Jogurtové kultury, vykazující rozdílnou aktivitu, se významně lišily



1. Vliv různé aktivity jogurtové kultury na salmonely — The influence of different activity of yoghurt culture on salmonellas

- salmonely — salmonellas
- - - titrační kyselost — titration acidity
- ▲ — aktivní kultura — active culture
- — oslabená kultura — weakened culture

v působení na salmonely v průběhu zrání. Rozdíl mezi aktivní a oslabenou kulturou je znázorněn na obr. 1. Málo aktivní kultura umožnila rozmnožení salmonel z původní hodnoty $4,6 \cdot 10^6 \cdot \text{ml}^{-1}$ na $4,4 \cdot 10^8 \cdot \text{ml}^{-1}$ za dvě hodiny. Generační doba (G) byla 18,23 minuty. Počítaly jsme ji podle vzorce (K o c k o v á — K r a t o c h v í l o v á, 1954):

$$G = \frac{t \cdot \log 2}{\log b - \log a}$$

Mírný pokles počtu salmonel nastal ke konci zrací doby. Kysací schopnost byla nízká, 19 ml NaOH ($c = 0,25 \text{ mol} \cdot \text{l}^{-1}$).

Při použití aktivní kultury se salmonely během dvou hodin zrání pomnožily o jeden řád ($G = 43,4 \text{ min}$). Když měrná titrační kyselost dosáhla hodnoty 20 ml NaOH ($c = 0,25 \text{ mol} \cdot \text{l}^{-1}$), začal se počet salmonel snižovat a na konci zrání, tj. po třech hodinách, byl o řád nižší než výchozí hodnota.

Skládováním vzorků při pokojové teplotě, kdy kysací aktivita kultur byla zachována (52,3 ml NaOH; $c = 0,25 \text{ mol} \cdot \text{l}^{-1}$), došlo k redukci salmonel až na hodnotu $1,9 \cdot 10^2 \cdot \text{ml}^{-1}$. Skladovací teplota 4°C omezila činnost jogurtové kultury, což se projevilo sníženou redukcí salmonel a pomalejším zvyšováním kyselosti jogurtu (tab. I).

Aktivita smetanové kultury se projevila po 20 hodinách inkubace redukcí salmonel o jeden řád, i když titrační kyselost dosáhla hodnot 48,2 ml NaOH ($c = 0,25 \text{ mol} \cdot \text{l}^{-1}$). Skládováním 24 hodiny při pokojové teplotě i při teplotě 4°C poklesl počet salmonel ještě o jeden řád, i když se kyselost již nezvýšila (tab. II).

Možnosti přežívání salmonel v kysaných mléčných výrobcích v závislosti na výši kontaminace jsou uvedeny v tab. III. Rozdíly v citlivosti použitých kmenů salmonel k mléčným kulturám nebyly zjištěny.

DISKUSE

Mléčné bakterie se používají k výrobě širokého sortimentu mléčných výrobků a jejich dietetický a zdravotní účinek, zvláště u kysaných mléčných výrobků, je dnes již nesporný.

Mléčné bakterie značně mění vlastnosti mléka. Laktóza je částečně nebo úplně převedena na kyselinu mléčnou. Snižuje se pH a vytvářejí se anaerobní podmínky v mléce. V závislosti na typu kultury jsou produkovány kyselina octová, propionová, etanol, oxid uhličitý, diacetyl a antimikrobiální látky jako nisin, diplococciny a bakteriociny. Tyto látky působí inhibičně na patogenní mikroorganismy.

Výsledky, kterých jsme dosáhly, potvrzují inhibiční účinek jogurtové a smetanové kultury na salmonely. Výraznější efekt se projevila u jogurtové kultury. Redukce byla pozorována již ke konci doby zrání, tj. po dvou hodinách inkubace při teplotě 43°C , a prohloubila se ještě po 24 hodinách skladování při pokojové teplotě a při teplotě 4°C . Tímto způsobem byly imitovány skutečné poměry možného skladování kontaminovaného výrobku.

U smetanové kultury nebyla inhibice salmonel tak výrazná, přestože dosažená kyselost byla ke konci zrání vyšší než u jogurtů.

Kyselost tedy není rozhodujícím faktorem inhibičního účinku mléčných kultur na salmonely, jak rovněž vyplývá ze studií autorů P a r k

I. Inhibiční účinek jogurtové kultury na salmonely v mléce (výchozí koncentrace salmonel $2,3 \cdot 10^7 \cdot \text{ml}^{-1}$) — Inhibitory effects of yoghurt culture on salmonellae in milk (starting salmonella concentrations of $2,3 \cdot 10^7 \cdot \text{ml}^{-1}$)

	Počet salmonel $\cdot \text{ml}^{-1}$		Titrační kyselost ml NaOH ($c = 0,25 \text{ mol} \cdot \text{l}^{-1}$)	
	mléko bez kultury	mléko s jogurtovou kulturou	mléko bez kultury	mléko s jogurtovou kulturou
Inkubace 3 hodiny teplota 43 °C	$1,1 \cdot 10^{11}$	$1,3 \cdot 10^6$	7,3	33,2
Skladování 24 hodiny				
a — teplota 4 °C	$4,8 \cdot 10^{10}$	$3,4 \cdot 10^4$	7,6	39,3
b — pokojová teplota	$3,3 \cdot 10^{15}$	$1,9 \cdot 10^2$	8,5	52,3

I. Inhibiční účinek smetanové kultury na salmonely v mléce (výchozí počet salmonel $8,3 \cdot 10^7 \cdot \text{ml}^{-1}$) — Inhibitory effects of cream culture on salmonellae in milk (starting salmonella counts of $8,3 \cdot 10^7 \cdot \text{ml}^{-1}$)

	Počet salmonel $\cdot \text{ml}^{-1}$		Titrační kyselost ml NaOH ($c = 0,25 \text{ mol} \cdot \text{l}^{-1}$)	
	mléko bez kultury	mléko se smetanovou kulturou	mléko bez kultury	mléko se smetanovou kulturou
Inkubace 20 hodin teplota 22 °C	$4,5 \cdot 10^{15}$	$5,6 \cdot 10^6$	7,8	48,2
Skladování 24 hodiny				
a — teplota 4 °C	$6,9 \cdot 10^{15}$	$7,8 \cdot 10^5$	7,9	48,4
b — pokojová teplota	$1,2 \cdot 10^{17}$	$7,3 \cdot 10^5$	8,9	49,1

III. Záchytnost salmonel v mléce s jogurtovou a smetanovou kulturou vzhledem k jejich výchozí koncentraci v jednom mililitru — The capture of salmonellae in milk with yoghurt and cream culture with respect to their starting concentrations in 1 ml

Soubor	Jogurtová kultura			Smetanová kultura		
	doba zrání v hodinách		uskladnění 24 hodiny, teplota 4 °C	doba zrání v hodinách		uskladnění 24 hodiny, teplota 4 °C
	0	3		0	20	
$N_1 \dots \dots 6 \bar{x}$	4 200 000	370 000	9200	4 200 000	620 000	28 000
$N_1^{-1} \dots \dots 6 \bar{x}$	360 000	81 000	850	310 000	25 000	9 100
$N_1^{-2} \dots \dots 6 \bar{x}$	23 000	6 700	320	37 000	2 300	1 200
$N_1^{-3} \dots \dots 6 \bar{x}$	3 900	970	5	4 300	350	160
$N_1^{-4} \dots \dots 6 \bar{x}$	260	0	0	200	52	0

a Marth (1972), Northolt (1984) a Konečný (1986), ale organické kyseliny nahromaděné rozkladem laktózy mají významný podíl na inhibici salmonel především v poslední fázi zrání a při skladování výrobků.

Na vyšší citlivosti salmonel k jogurtové kultuře než ke kultuře smetanové se podílí také vyšší inkubační teplota ve spojení s antimikrobiálními látkami. Dalším faktorem je i druhové složení obou mléčných kultur. Jak uvádějí Park a Marth (1972), největší inhibiční účinek na salmonely mají *S. thermophilus* a *S. cremoris*, méně účinný je *S. lactis*, *S. citrovorum* a *S. lactis* subsp. *diacetylactis*. Z ostatních mléčných bakterií působí inhibičně na salmonely *Leuconostoc* a částečně *L. bulgaricus* (Northolt, 1984).

Vyšetření vzorků s různými koncentracemi salmonel prokázala, že v předpokládané době simulované expedice výrobků by pozitivní záchyt přicházel v úvahu u kontaminací řádově 10^3 ml⁻¹ a vyšších. Pro úplné potlačení salmonel je u jogurtové kultury rozhodující fáze dozrávání výrobků při jejich chladírenském uskladnění, u smetanové kultury doba zrání.

Tyto výsledky jsou platné pro aktivní kultury s předpokládanou dynamikou produkce inhibičních látek. U oslabených nebo málo aktivních kultur je třeba předpokládat nižší ovlivnění hygienicky významných kontaminantů, a tím i zvýšení zdravotního rizika.

Má-li být zabezpečena nezávadnost kysaných mléčných výrobků, je nezbytná kontrola zákysů, vyloučení kultur oslabených a zabránění výrobní a povýrobní kontaminaci.

Literatura

ČSN 57 0803. Sušené mléko konzumní. 1973.

GILLIANDE, E. — SPECK, M. L.: Interaction of food starter cultures and foodborne pathogens: *Streptococcus lactis* versus *Staphylococcus* and *Salmonella*. Milk Fd Technol., 35, 1972, s. 307-310.

HARGROVE, R. E. — McDONOUGH, F. E. — MATTINGLY, W. A.: Factors affecting survival of salmonella in Cheddar and Colby Cheese. J. Milk Fd Technol., 32, 1969, č. 12, s. 480-484.

HEJZLAR, M. — HYLAR, B. — TEPLÝ, M.: Antibiotika a jejich použití v potravinářství a zemědělství. Praha, SNTL 1980.

KOCKOVÁ-KRATOCHVÍLOVÁ, A.: Praktikum technické mikrobiologie. Praha, SNTL 1954.

KONEČNÝ, S.: Inhibice růstu některých patogenních a podmíněně patogenních bakterií ve fermentovaných mléčných výrobcích. Prům. Potrav., 37, 1986, č. 8, s. 427.91-429.93 (příloha).

NORTHOLT, M. D.: Growth and inactivation of pathogenic microorganisms during manufacture and storage of fermented dairy products. Nether. Milk Dairy J., 38, 1984, s. 135-150.

ON 57 1701. Smetanová kultura. 1975.

ON 57 1702. Jogurtová kultura. 1976.

PARK, H. S. — MARTH, E. H.: Behavior of *Salmonella typhimurium* in skim milk during fermentation by lactic bacteria. J. Milk Fd Technol., 35, 1972, č. 8, s. 482-488.

PREKOPPOVÁ, J. — JAMRICHOVÁ, S.: Vplyv aktivity smotanovej kultúry na prežívanie koliformných zárodkov v mlieku. Mlék. Listy, 11, 1985, č. 3. — Prům. Potrav., 36, 1985, č. 6, s. 310.62-312.64 (příloha).

Došlo dne 15. 9. 1988

ЛУКАШОВА, Й. — РАДОВА, П. — СОЙКОВА, М. — КРЫШТОФОВА, Я. (Ветеринарный институт, Брно): Действие молочных культур на выживаемость сальмонелл в молоке. Veter. Med. (Praha), 35, 1990 (2) : 81-86.

Изучали действие йогуртовой и сметанной культур на выживание сальмонелл в молоке. Молоко, зараженное сальмонеллами замешали с йогуртовой культурой и выдерживали три часа при температуре 43 °C; в смеси со сметанной культурой выдерживали 20 часов при температуре 22 °C. Образцы затем хранили 24 часа при комнатной температуре и при температуре 4 °C. Подтвердили ингибирующий эффект обеих молочных культур на сальмонеллы в объеме 92,5—99,8 %. Ингибирующий эффект зависел от активности культуры (выраженной титром кислотности), срока и температуры хранения и от начальной концентрации сальмонелл.

Йогуртовая культура; сметанная культура; сальмонеллы; ингибирование

LUKÁŠOVÁ, J. — RADOVÁ, P. — SOJKOVÁ, M. — KRYŠTOFOVÁ, J. — (University of Agriculture, Brno): The influence of milk cultures on salmonella survival in milk. Veter. Med. (Praha), 35, 1990 (2) : 81-86.

The influence was investigated of yoghurt and cream cultures on salmonella survival in milk. Salmonella-contaminated milk was blended with yoghurt culture and kept for three hours at the temperature of 43 °C; the mixture with cream culture was kept for 20 hours at the temperature of 22 °C. The samples were then stored at a room temperature and at the temperature of 4 °C. The two milk cultures exerted inhibitory effects on salmonellae within the range of 92.5 to 99.8 %. The inhibitory effects depended on the activity of the culture (expressed by titration acidity), storage time and temperature and on the starting concentration of salmonellae.

yoghurt culture; cream culture; salmonellae; inhibition

LUKÁŠOVÁ, J. — RADOVÁ, P. — SOJKOVÁ, M. — KRYŠTOFOVÁ, J. (Veterinärmedizinische Hochschule, Brno): Einfluss der Milchkulturen auf das Überleben der Salmonellen in der Milch. Veter. Med. (Praha), 35, 1990 (2) : 81-86.

Wir untersuchten den Einfluss der Joghurt- und Sahnenkultur auf das Überleben der Salmonellen in der Milch. Die mit Salmonellen kontaminierte Milch wurde mit der Joghurtkultur vermischt und drei Stunden lang bei 43 °C aufbewahrt; vermischt mit der Sahnenkultur wurde die Milch 20 Stunden lang bei 22 °C aufbewahrt. Die Proben wurden anschliessend 24 Stunden lang bei Zimmertemperatur und bei 4 °C aufbewahrt. Es konnte eine inhibierende Wirkung der beiden Milchkulturen auf die Salmonellen von 92,5 bis 99,8 % nachgewiesen werden. Die Inhibitionswirkung war von der Aktivität der Kultur (ausgedrückt durch Titrationsazidität), von der Lagerungsdauer und -temperatur und von der Anfangskonzentration der Salmonellen abhängig.

Joghurtkultur; Sahnenkultur; Salmonellen; Inhibierung

Adresa autorů:

MVDr. Jindra Lukášová, MVC. Pavlína Radová, MVC. Martina Sojková, MVC. Jana Kryštofová, Vysoká škola veterinární, Palackého 1-3, 612 42 Brno

OVĚŘOVÁNÍ IMUNOGENNÍCH A PROTEKČNÍCH SCHOPNOSTÍ VAKCÍNY PROTI VZTEKLINĚ TKÁŇOVĚ INAKTIVOVANÉ

V. Vrzal, Z. Čupera, J. Chumela, L. Zatloukal

VRZAL, V. — ČUPERA, Z. — CHUMELA, J. — ZATLOUKAL, L. (Bioveta, s. p., Ivanovice na Hané; Ústav pro státní kontrolu veterinárních biopreparátů a léčiv, Brno): *Ověřování imunogenních a protekčních schopností vakcíny proti vzteklině tkáňově inaktivované*. Veter. Med. (Praha), 35, 1990 (2) : 87-95.

Ověřovali jsme imunogenní a protekční potenci vyvíjené vakcíny proti vzteklině tkáňově inaktivované z kmene Vnukovo-32, vyrobené ve s. p. Bioveta Ivanovice na Hané. Za 21 dní po aplikaci 3 cm³ vakcíny *i. m.* byl zjištěn průměrný titr virusneutralizačních protilátek 1 : 47. V tomto období byla zvířata stejným způsobem revakcinována. Průměrný titr virusneutralizačních protilátek byl za tři měsíce po revakcinaci 1 : 99, za šest měsíců 1 : 57 a za devět měsíců 1 : 24. V tomto období byl proveden u psa čelenžní test dávkou 10⁵ MICLD₅₀ uličního viru vztekliny. Tato dávka byla aplikována *i. m.* do žvýkacích svalů. Další pes byl pokusně infikován za 18 měsíců po imunizaci. Experiment prokázal dobrou imunogenní potenci vakcíny proti vzteklině tkáňově inaktivované a její schopnost vyvolat chráněnost vůči zatěživé infekci uličním virem vztekliny u vakcinovaných psů. Kontrolní antirabická vakcína zahraniční výroby RABISIN byla ověřována shodným způsobem.

pes; virusneutralizační protilátky; čelenžní test; chráněnost

Výrazný pokrok v imunoprofylaxi vztekliny u hospodářských a domácích zvířat znamenal zavedení výroby vakcíny proti vzteklině tkáňové, obsahující živý oslabený kmen viru vztekliny Vnukovo-32 (Švrček aj., 1975). Tato očkovací látka bez nežádoucí encefalitogenní aktivity se používá k preexpoziční profylaxi vztekliny u zvířat v ČSSR od roku 1979.

V současné době se ve veterinární medicíně projevuje snaha nahradit živé antirabické vakcíny vakcínami inaktivovanými (WHO, 1973, 1984). Inaktivované vakcíny proti vzteklině se mají přednostně používat, jakmile je v dané oblasti zvládnuta epizootologická situace.

V návaznosti na uvedená doporučení Světové zdravotnické organizace je ve s. p. Bioveta, Ivanovice na Hané, vyvíjena inaktivovaná antirabická vakcína. Při jejím testování byla použita doporučená kontrolní kritéria pro ověřování inaktivovaných antirabických vakcín (Precaust aj., 1983). Jsou to tyto testovní zkoušky: stanovení antigenní hodnoty vakcíny podle metody NIH (Seligmann, 1973), ověření imunogenní potence vakcíny stanovením antirabických protilátek u pokusných zvířat a stanovení protekční schopnosti vakcíny po umělé infekci vakcinovaných zvířat virem vztekliny.

Výsledky ověřování vyvíjené antirabické vakcíny metodou NIH testu byly vyhovující (V r z a l a j., 1986).

Naše práce referuje o výsledcích získaných při ověřování imuno-
genní a protekční potence vyvíjené antirabické vakcíny na pokusných
psech.

K porovnání účinnosti byla do ověřování zařazena obdobná inakti-
vovaná antirabická vakcína zahraniční výroby RABISIN, která pro své
mezinárodně uznávané kvalitativní parametry sloužila jako kontrolní
vakcína.

MATERIÁL A METODY

POKUSNÁ ZVÍŘATA

V experimentu byli použiti čtyři psi (malé plemeno, kříženci) ve věku 12 až 16 týdnů. Psi nebyli před tím vakcinováni proti vzteklině a v sérech odebraných před zahájením pokusu nebyly prokázány antirabické protilátky.

Pro titraci viru a stanovení titru protilátek bylo použito laboratorních myší
kmen Swiss albino z produkce Velaz Praha, o hmotnosti 10 až 12 g, obojího pohlaví.

POUŽITÉ VAKCÍNY

a) Vakcína proti vzteklině tkáňová inaktivovaná — vyvíjená ve s. p. Bioveta
Ivanovice na Hané, op. č. V 02 02 85

Vakcína byla připravena z vakcinačního viru vztekliny kmene Vnukovo-32,
ve 110. pasáži pomnoženého na tkáňových kulturách buněčné linie křeččího původu
BHK-21, klon 13 S. Sklizený virus byl inaktivován betapropiolaktonem (v koncentraci
0,025—0,050% po dobu 24 hodin při teplotě 4 °C). K ředění této lyofilizované vakcíny
bylo použito olejové solvens, které zároveň slouží jako imunitní adjuvans vakcíny.

b) Vakcína proti vzteklině tkáňová inaktivovaná zahraniční výroby, expedovaná
pod komerčním označením RABISIN

Tento biopreparát vyrábí firma RHÔNE MERIEUX ve Francii. Pro účely ově-
řování byl použit přípravek RABISIN op. č. 4 OW 562. Vyhovující kvalita uvedeného
operačního čísla je deklarována kvalitativním atestem výrobce (CERTIFICATE of
ANALYSIS ze dne 19. 3. 1985). Vakcína se vyrábí pomnožením fixního viru vztekliny
kmene Pasteur na tkáňových kulturách NIL (křeččího původu). Sklizený virus se
inaktivuje betapropiolaktonem. Vakcína se expeduje tekutá, jako adjuvans obsahuje
hydroxid hlinitý.

IMUNIZACE

a) Vakcína proti vzteklině tkáňová inaktivovaná byla ověřována na dvou psech.
Pokusným psům byly aplikovány 3 cm³ rozpuštěné vakcíny *i. m.* Za tři týdny po
vakcinaci byla stejným způsobem provedena revakcinace.

b) Vakcína proti vzteklině tkáňová inaktivovaná zahraniční výroby RABISIN
byla ověřována na dvou psech. V souladu s návodem k použití tohoto přípravku
byla vakcinační dávka 1 cm³ vakcíny aplikované *i. m.*, bez revakcinace.

ODBĚRY KRVE

Krev byla od všech psů zařazených do ověřování odebírána ve stejných časo-
vých intervalech, a to před vakcinací (0— iničiální odběr), za 21 dní po vakcinaci,
za tři, šest a devět měsíců po imunizaci. V tomto období byl z obou skupin jeden
pes experimentálně infikován uličním virem vztekliny. U zbývajících psů pokračo-
valy odběry krve za 12, 15 a 18 měsíců po imunizaci. Naposledy se každému psu
odebírala krev dva měsíce po infekci, před ukončením čelenžního testu.

Krev byla odebírána z *vena saphena* a získané sérum bylo skladováno v mra-
zicím pultě při teplotě —20 °C až do doby vyšetření.

SÉROLOGICKÉ VYŠETŘENÍ

Titř protilátek v sérech byl stanoven virusneutralizačním testem shodným s metodou, kterou popsal A t a n a s i u (1973). Séra byla ředěna v poměru 1 : 5, 25, 125, 625 a do reakce bylo použito 20 až 40 MICLD₅₀ viru vztekliny kmene CVS. Titř protilátek byl vypočten metodou, kterou uvedli R e e d a M u e n c h (1938).

ČELENŽNÍ TEST

Zátěžová infekce byla provedena u jednoho psa za devět měsíců po vakcinaci a revakcinaci vakcínou proti vzteklině tkáňovou inaktivovanou (s. p. Bioveta) a u jednoho psa za devět měsíců po jednorázové aplikaci antirabické vakcíny RABISIN (Francie). Dva nevakcinovaní psi ve věku jednoho roku byli použiti jako kontroly.

Čelenžní virus vztekliny byl připraven jako 20% suspenze slinné žlázy přirozeně infikované lišky z území ČSSR. Virus byl dvěma vakcinovaným psům a dvěma psům kontrolním aplikován v narkóze hluboko *i. m.* do obou žvýkacích svalů (*musculus masseter*) v dávce 0,5 cm³ suspenze. Celková čelenžní dávka pro psa byla 100 000 MICLD₅₀. Pokusná zvířata byla sledována 60 dní. U zbývajících dvou vakcinovaných psů zařazených do ověřování byla obdobným způsobem provedena zátěžová infekce za 18 měsíců po aplikaci antirabických vakcín.

PRŮKAZ VIRU

Mozky všech psů zařazených do čelenžního testu (vakcinovaných i kontrolních) byly po jejich úhynu či utracení po uplynutí sledovací doby vyšetřovány na přítomnost vzteklinového antigenu imunofluorescenčním vyšetřením (D e a n a A b e l s e t h, 1973) a biologickým pokusem na myškách (K o p r o w s k i, 1973).

VÝSLEDKY

Titry antirabických protilátek po imunizaci (vakcinaci a následně revakcinaci za 21 dní) vyvíjenou vakcínou proti vzteklině tkáňovou inaktivovanou (s. p. Bioveta, Ivanovice na Hané) jsou u obou psů uvedeny v tab. I. U psů vakcinovaných tkáňovou antirabickou vakcínou zahraniční výroby RABISIN (RHÔNE MERIEUX, Francie) jsou titry virusneutralizačních protilátek uvedeny v tab. II. Z přehledu výsledků je patrné, že po aplikaci obou typů antirabických vakcín se u vakcinovaných psů tvoří specifické virusneutralizační protilátky. Nejvyšší titry těchto protilátek byly u obou přípravků prokázány za tři měsíce po základní imunizaci. Průměr antirabických protilátek v tomto období byl

I. Titry antirabických protilátek u psů po vakcinaci vakcínou proti vzteklině tkáňovou inaktivovanou (s. p. Bioveta, Ivanovice na Hané) — The titres of rabies antibodies in dogs after vaccination with a vaccine against inactivated tissue rabies (Bioveta state corp., Ivanovice in Haná)

Pes číslo	Titř PD ₅₀ v jednotlivých odběrech								
	před vakcinací	21 dní	3 měsíce	6 měsíců	9 měsíců	12 měsíců	15 měsíců	18 měsíců	2 měsíce po infekci
1	0	1 : 26	1 : 60	1 : 48	1 : 23	—	—	—	1 : 75
2	0	1 : 68	1 : 138	1 : 66	1 : 25	1 : 30	1 : 20	1 : 12	1 : 98
Průměrný titř	0	1 : 47	1 : 99	1 : 57	1 : 24				

Pes číslo	Titr PD ₅₀ v jednotlivých odběrech								
	před vakcinací	21 dní	3 měsíce	6 měsíců	9 měsíců	12 měsíců	15 měsíců	18 měsíců	2 měsíce po infekci
1	0	1 : 81	1 : 150	1 : 73	1 : 42	—	—	—	1 : 83
2	0	1 : 45	1 : 77	1 : 60	1 : 38	1 : 45	1 : 35	1 : 27	1 : 125
Průměrný titr	0	1 : 63	1 : 113,5	1 : 66,5	1 : 40				

u psů po aplikaci tuzemské vakcíny 1 : 99, u psů vakcinovaných anti-rabickou vakcínou zahraniční výroby 1 : 113,5. V dalších odběrech byly u psů obou skupin detekovány klesající titry antirabických protilátek.

Čelenžní test za devět měsíců po imunizaci prokázal chráněnost psů vakcinovaných oběma typy antirabických přípravků. Oba kontrolní psi uhynuli po inkubační době 15 dnů. Klinická fáze trvala dva dny a byla charakterizována úzkostí, sliněním, neklidem, rabickým štekotem, anorexií a parézami. Celkový obraz klinického onemocnění odpovídal tiché formě bez projevené agresivity. U uhynulých kontrol byla vzteklna prokázána i laboratorním vyšetřením.

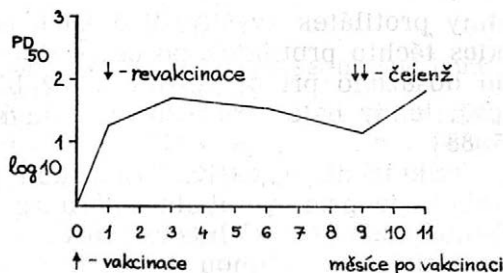
Při čelenžním testu provedeném u psů za 18 měsíců po imunizaci nedošlo v průběhu pozorovací doby 60 dnů k onemocnění kontrolních nevakcinovaných psů, i když k infekci byl použit shodný čelenžní virus vztekliny jako u předchozí čelenžní zkoušky ve stejném infekčním ředění. Reakce na tuto zátěžovou infekci virem vztekliny u vakcinovaných psů i nevakcinovaných kontrol byly zaznamenány pouze v sérologické imunologické odpovědi detekcí virusneutralizačních protilátek. U vakcinovaných psů se zvýšil titr těchto protilátek, u nevakcinovaných kontrol se protilátky vyskytly (průměrný titr u nevakcinovaných psů po ukončení pozorovací doby 1 : 47). Celkový průběh a výsledky experimentů jsou znázorněny u jednotlivých psů na obr. 1 až 4.

DISKUSE

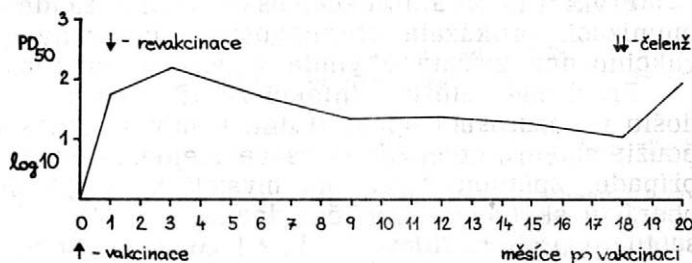
Možnost postvakcinačních komplikací (tzv. laboratorní vzteklna) u živých antirabických vakcín (Biljeng a Joubert, 1974; Sikes a Esh, 1979) vedla Světovou zdravotnickou organizaci k doporučení nahrazovat živé antirabické vakcíny inaktivovanými. Při vhodném způsobu inaktivace a použití imunitního adjuvans je možné vyrobit účinné a neškodné antirabické vakcíny pro imunizaci domácích zvířat. Vlivem adjuvantních látek na antigenní aktivitu antirabických vakcín se zabývali Augustinský aj. (1983). Technologie výroby inaktivované antirabické vakcíny byla řešena i na pracovišti ÚEVM v Košicích (Švrček, 1984; Zavadová aj., 1984).

V pokusech na psech jsme sledovali imunogenní a protekční hodnotu inaktivované antirabické vakcíny vyrobené ve s. p. Bioveta, Ivano-

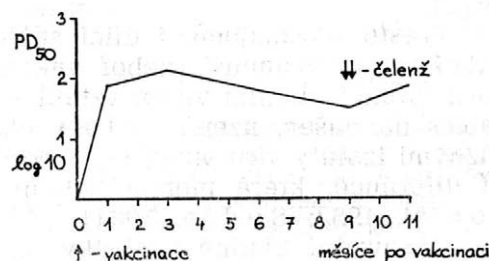
1. Dynamika tvorby virusneutralizačních protilátek devět měsíců po vakcinaci vakcínou proti vzteklině tkáňovou inaktivovanou (s.p. Bioveta, Ivanovice na Hané) a po čelenžním testu — Dynamics of the production of virus-neutralizing antibodies nine months after vaccination with a vaccine against inactivated tissue rabies (Bioveta, state corp., Ivanovice in Haná) and after a challenge test



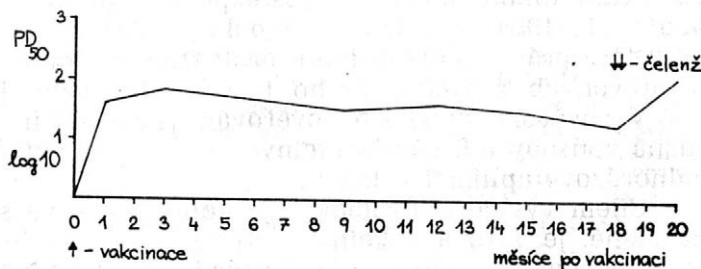
2. Dynamika tvorby virusneutralizačních protilátek 18 měsíců po vakcinaci vakcínou proti vzteklině tkáňovou inaktivovanou (s.p. Bioveta, Ivanovice na Hané) a po čelenžním testu — Dynamics of the production of virus-neutralizing antibodies 18 months after vaccination with a vaccine against inactivated tissue rabies (Bioveta state corp., Ivanovice in Haná) and after a challenge test



3. Dynamika tvorby virusneutralizačních protilátek devět měsíců po vakcinaci vakcínou RABISIN (RHÔNE MERIEUX, Francie) a po čelenžním testu — Dynamics of the production of virus-neutralizing antibodies nine months after vaccination with RABISIN vaccine (RHÔNE MERIEUX, France) and after a challenge test



4. Dynamika tvorby virusneutralizačních protilátek 18 měsíců po vakcinaci vakcínou RABISIN (RHÔNE MERIEUX, Francie) a po čelenžním testu — Dynamics of the production of virus-neutralizing antibodies 18 months after vaccination with RABISIN vaccine (RHÔNE MERIEUX, France) and after a challenge test



vice na Hané. Vzhledem k malému počtu pokusných zvířat předkládáme tuto práci jako dílčí sdělení o imunogenních a protekčních schopnostech tohoto přípravku.

Výsledky dosažené při sledování protilátkové odpovědi svědčí o dobré imunogenní potenci vyvíjené antirabické vakcíny. Již po primovakcinaci bylo dosaženo 100% sérokonverze, revakcinací se u psů hla-

diny protilátek zvýšily. V dalších odběrech byl detekován pozvolný pokles těchto protilátek po celou dobu sledování. Obdobných výsledků bylo dosaženo při ověřování téhož biopreparátu na rozsáhlejším souboru psů; tehdy bylo ověřováno i optimální imunizační schéma (V r z a l aj., 1988).

Skutečně objektivní zkouškou pro ověření účinnosti antirabických vakcín je přímá inokulace viru vztekliny vakcinovaným zvířatům. Tato jediná metoda dovoluje pravdivě ověřit, zda zkoušená vakcína vyvolává specifickou a účinnou ochranu. Tyto čelenžní pokusy je nutné namátkově vykonávat u vybraných druhů zvířat (zejména u psů a koček), aby se získaly objektivní údaje o skutečné aktivitě antirabických i jiných vakcín (D a v i d s o n, 1975).

První zátěžová infekce, uskutečněná za devět měsíců po základní imunizaci, prokázala chráněnost vakcinovaných zvířat. Kontrolní nevakcinovaná zvířata uhynula v pozorovací době na vzteklinu.

Při druhé zátěžové infekci za 18 měsíců po základní imunizaci nedošlo v pozorovací době 60 dnů k úhynu nevakcinovaných kontrol. Byl použit shodný čelenžní virus ve stejném ředění jako v předcházejícím případě. Zpětnou titrací na myších bylo zjištěno, že pokusná zvířata obdržela skutečnou infekční dávku $10^{4.8}$ MICLD₅₀ viru. Práce zabývající se touto problematikou (B l a c k a L a w s o n, 1980; B l a n c o u aj., 1985) uvádějí, že citlivost psa vůči viru vztekliny liščího původu je malá. Proto většina zahraničních prací uvádí při čelenžních testech na psech použití standardního psího kmene vztekliny NYC (S o u l e b o t aj., 1982).

Přesto považujeme i dílčí sdělení o protekční schopnosti vyvíjené vakcíny za významné, neboť vakcinovaní psi byli chráněni proti zátěžové infekci uličním virem vztekliny vyskytujícím se u hlavního vektora rabies na našem území — lišky obecné. Bylo totiž prokázáno, že mezi různými izoláty viru vztekliny z rozdílného prostředí mohou být antigenní difference, které mohou ovlivnit účinnost imunoprophylaxe (B l a n c o u aj., 1982; S o d j a, 1984).

Dosavadní kladné výsledky při používání živé tkáňové antirabické vakcíny z kmene Vnukovo-32 při imunizaci různých druhů zvířat (Š v r č e k aj., 1975; M a t o u c h a D o u s e k, 1986), dobré výsledky při používání tohoto kmene k postexpoziční profylaxi lyssy u lidí (S e l i m o v aj., 1984; S o d j a a R ö d l, 1986) a naše poznatky předkládané v této práci svědčí o dobré protektivní účinnosti antirabických vakcín připravených z vakcinačního kmene viru vztekliny Vnukovo-32.

V současné době jsou ověřovány nové druhy imunitních adjuvancí, různé způsoby aplikace vakcíny a schopnost vytvořit solidní imunitu po jednorázové aplikaci vakcíny.

Cílem vývoje antirabické imunoprophylaxe ve s. p. Bioveta, Ivanovice na Hané, je výroba vakcíny proti vzteklině tkáňové inaktivované, která by vyhovovala kvalitativním kritériím Světové zdravotnické organizace pro výrobu vakcín proti vzteklině a splňovala praktické požadavky pracovníků veterinární služby.

- ATANASIU, P.: Quantitative assay and potency test of antirabies serum and immunoglobulin. In: Lab. Techn. Rabies. Geneva, WHO 1973, s. 314-318.
- AUGUSTINSKÝ, V. — ŠVRČEK, S. — VRTIAK, O. J. — ZÁVADOVÁ, J. — BENÍŠEK, Z. — ONDREJKA, R. — BENINGHAUS, T.: Vplyv adjuvantných látok na antigénnu aktivitu bunkovej antirabieckej vakcíny v pokusoch na hovädzom dobytku. Veter. Med. (Praha), 28, 1983, č. 12, s. 717-726.
- BILJENG, G. — JOUBERT, L.: High pathogenicity for mice by mouth of viral component of the ERA/BHK modified live-virus rabies vaccine. Vaccinal prophylaxis of rabies in France. Acad. vétér. France, 47, 1974, s. 423-435.
- BLACK, J. G. — LAWSON, K. F.: The safety and efficacy of immunizing foxes (*Vulpes vulpes*) using baits containing attenuated rabies virus vaccine. Can. J. Comp. Med., 1980, 44, s. 169-176.
- BLANCOU, J. — ANDRAL, L. — MANNEN, K.: Variants antigéniques du virus rabique en France. Étude par anticorps monoclonaux. Comp. Immun. Microbiol. Infect. Dis., 1982, č. 5, s. 95-99.
- BLANCOU, J. — AUBERT, M. F. A. — PERRIN, G.: Rage expérimentale du chien sensibilité-symptômes-excrétion du virus réactions immunitaires résistance trois ans après vaccination. Rev. Méd. vétér., 136, 1985, s. 147-152.
- DAVIDSON, I.: Testing veterinary vaccines. Veter. Rec., 97, 1975, s. 389-392.
- DEAN, D. J. — ABELSETH, M. K.: The fluorescent antibody test. In: Lab. Tech. Rabies. Geneva, WHO 1973, s. 73-84.
- KOPROWSKI, H.: The mouse inoculation test. In: Lab. Techn. Rabies. Geneva, WHO 1973, s. 85-93.
- MATOUCH, O. — DOUSEK, J.: Vakcinace fretek (*Putorius furo*) proti vzteklině tkáňovou vakcínou. Veter. Med. (Praha), 31, 1986, č. 2, s. 123-128.
- PRECAUSTA, P. — SOULEBOT, J. P. — CHAPPUIS, G. — BRUN, A. — BURGAND, M. — PETERMANN, H. G.: Vaccin inactive de la rage prepare a partir de virus multiplie sur culture cellulaire. Immunization des carnivores. Joint WHO (IMV/ESSEN) Institut Pasteur TUNIS Meeting. Tunis 1983.
- REED, L. J. — MUENCH, H.: A simple method of estimating fifty percent endpoints. Amer. J. Hyg., 27, 1938, s. 493-497.
- SELIGMANN, E. B. J.: The NIH test for potency. Lab. Techn. Rabies. Geneva, WHO 1973, s. 279-286.
- SELIMOV, M. A. — AKSENOVA, T. — GRIBENČA, L. — KENJEVA, E. — KULIKOVA, L.: Epidemiologická efektívnosť bunkovej antirabieckej vakcíny z kmeňa Vnukovo-32 pripravovanej veľkovýrobnou technológiou. In: Zbor. ved. Konf. Veterinárne vedy a prax, 5. sympóziom o besnote — RABIES. Košice 1984, s. 30-31.
- SIKES, R. K. — ESH, J.: Suspected vaccine induced feline rabies. Georgia, Morbidity and mortality weekly Report, 28, 1979, s. 274.
- SODJA, I.: Antigénny vzťahy viru vztekliny. In: Zbor. ved. Konf. Veterinárne vedy a prax, 5. sympóziom o besnote — RABIES. Košice 1984, s. 16-17.
- SODJA, I. — RÖDL, P.: Současná situace vztekliny v ČSR. Českoslov. Epidem. Mikrobiol. Imunobiol., 35, 1986, č. 3, s. 182-190.
- SOULEBOT, J. P. — BRUN, A. — CHAPPUIS, G. — GUILLEMIN, F. — PETERMANN, H. G. — PRECAUSTA, P. — TERRÉ, J.: Medical prophylaxis of animal rabies: choice of an inactivated vaccine. Ann. Virol., 133, 1982, s. 163-169.
- ŠVRČEK, S.: Technologický postup výroby inaktivovanej bunkovej adjuvantnej antirabieckej vakcíny z kmeňa Vnukovo-32 pre profylaktickú imunizáciu domácich zvierat. [Dielčí realizačný výstup.] Košice, Ústav exper. veter. medicíny PMVŽ SSR 1984.
- ŠVRČEK, S. — VRTIAK, O. J. — ZÁVADOVÁ, J. — ALEXANDER, R. — MITTERMAYER, T. — SELIMOV, M. A. — AKSENOVA, T. A. — ŽUFFOVÁ, K. — ONDREJKA, R. — BENÍŠEK, Z. — AUGUSTINSKÝ, V. — KUŠNÍR, J. — ĐURAN, G. — MLYNÁRČIKOVÁ, K. — PETRUŠOVÁ, J. — MISKOLCZYOVÁ, Z. — EPERJESIOVÁ, A. — LEŠKOVÁ, M. — MESÁROŠOVÁ, A.: Štúdium imunogénnej a antigénnej aktivity bunkovej antirabieckej vakcíny kmeňa Vnukovo-32. [Záverčná správa.] Košice, Ústav exper. veter. medicíny PMVŽ SSR 1975, 95 s.
- VRZAL, V. — ČUPERA, Z. — CHUMELA, J. — ZATLOUKAL, L.: Porovnání účinnosti vyvíjené vakcíny proti vzteklině tkáňové inaktivované s obdobným přípravkem zahraniční výroby metodou NIH testu. Imunoprofylaxia, 2, 1986, s. 90-97.
- VRZAL, V. — ČUPERA, Z. — CHUMELA, J. — ZATLOUKAL, L.: Protilátková odpověď psů na aplikaci vakcíny proti vzteklině tkáňové inaktivované a živé. Veter. Med. (Praha), 33, 1988, č. 8, s. 485-494.

- ZÁVADOVÁ, J. — ŠVRČEK, Š. — VRTIAK, O. J. — BENÍŠEK, Z. — SELIMOV, M. A. — ONDREJKA, R.: Příprava inaktivované bunkovej adjuvantnej antirabickéj vakcíny z kmeňa Vnukovo-32. In: Zber. ved. Konf. Veterinárne vedy a prax, 5. symposium o besnote — RABIES. Košice 1984, s. 49-50.
- International symposium on rabies (II). Symp. Ser. Immun. Stand. Basel, S. Karger 1974, 391 s.
- WHO Expert Committee on Rabies. Sixth Report. Geneva 1973.
- WHO Expert Committee on Rabies. Seventh Report. Geneva 1984.

Došlo dne 14. 9. 1988

VRZAL, V. — ČUPERA, Z. — CHUMELA, J. — ZATLOUKAL, L. (Биовета, г. п. Ивановице на Гане; Институт государственного контроля ветеринарных биопрепаратов и лекарств, Брно): Аттестация иммуногенных и протекционных способностей инаktivированной тканевой вакцины против бешенства. *Veter. Med. (Praha)*, 35, 1990 (2) : 87-95.

Аттестировали иммуногенную и протекционную способность вакцины разработанной против инаktivированного тканевого бешенства из штамма Внукovo-32, произведенной г. п. Биовета Ивановице на Гане. За 21 день, после внутримышечного применения 3 см³ вакцины, определили средний титр вируснейтрализующих антивеществ 1:47. В этом периоде животных одинаковым способом ревакцинировали. Средний титр вируснейтрализующих антивеществ три месяца после ревакцинации составлял 1:99, за шесть месяцев 1:57 и за девять месяцев 1:24. В этом периоде у собаки произвели челенджный тест дозой 10⁵ MICLD₅₀ уличного вируса бешенства. Эту дозу применяли внутримышечно в жевательные мышцы. Следующая собака была опытно инфицирована спустя 18 месяцев после иммунизации. Эксперимент подтвердил хорошую иммуногенную потенцию против инаktivированного тканевого бешенства и ее способность вызвать защищенность против загрузочной инфекции уличным вирусом бешенства у вакцинированных собак. Контрольная вакцина против бешенства зарубежного производства RABISIN аттестировалась таким же способом.

собака; вируснейтрализующие антивещества; челенджный тест; защищенность

VRZAL, V. — ČUPERA, Z. — CHUMELA, J. — ZATLOUKAL, L. (Biovet, state corp., Ivanovice na Hané; Institute for the State Central of Veterinary Microbial Preparations and Drugs, Brno): Tests of the immunogenic and protective potency of vaccine against inactivated tissue rabies. *Veter. Med. (Praha)*, 35, 1990 (2) : 0-0.

The immunogenic and protective potency was tested of vaccine against inactivated tissue rabies developed from the Vnukovo-32 strain, and produced in the Biovet state corporation at Ivanovice in Haná. In 21 days after an *i. m.* application of 3 cm³ of vaccine, the average titre of virus-neutralizing antibodies was found to be 1:47. In this period the animals were revaccinated in the same way. The average titre of virus-neutralizing antibodies was 1:99 three months after revaccination, 1:57 in six months and 1:24 in nine months. In this period a challenge test was performed in a dog using the dose of 10⁵ MICLD₅₀ of street rabies virus. This dose was implanted *i. m.* into masticatory muscles. Another dog was infected experimentally 18 months after immunization. The experiment has proved the good immunogenic potency of vaccine against inactivated tissue rabies and its ability to induce the protection of vaccinated dogs from the streets infection with street rabies virus. The control rabies vaccine of foreign make RABISIN was tested in a similar way.

dog; virus-neutralizing antibodies; challenge test; protection

VRZAL, V. — ČUPERA, E. — CHUMELA, J. — ZATLOUKAL, L. (BIOVETA, VEB, Ivanovice na Hané; Institut für staatliche Kontrolle der Veterinärbiopreparate und Arzneimittel, Brno): Überprüfung der immunogenen und Schutzhähigkeiten der Vakzine gegen die inaktivierte Gewebetollwut. *Veter. Med. (Praha)*, 35, 1990 (2) : 87-95.

Wir überprüften die immunogene und Schutzhähigkeit der gegen die aus dem Stamm Vnukovo-32 inaktivierten und gegen die Gewebetollwut im VEB Biovet Ivanovice

na Hané entwickelte Vakzine. 21 Tage nach Applikation von 3 cm³ Vakzine *i. m.* stellten wir einen durchschnittlichen Titer der virusneutralisierenden Antikörper 1 : 47 fest. Zu dieser Zeit wurden die Tiere auf die gleiche Art und Weise revakzinert. Der durchschnittliche Titer der virusneutralisierenden Antikörper war 3 Monate nach der Revakzination 1 : 99, 6 Monate nach der Revakzination 1 : 24. In dieser Zeitperiode wurde bei einem Hund der sog. Challenge-Test mit einer Gabe von 10⁵ MICLD₅₀ Strassentollwutvirus durchgeführt. Die Gabe wurde in die Kaumuskeln *i. m.* appliziert. Ein weiterer Hund wurde experimentell 18 Monate nach Immunisierung infiziert. Der Versuch wies eine gute immunogene Potenz der Vakzine gegen die inaktivierte Gewebetollwut und ihre Fähigkeit, einen genügenden Schutz gegen die Belastungsinfektion mit dem Strassentollwutvirus bei vakzinieren Hunden hervorzurufen, auf. Die antirabische Kontrollvakzine ausländischer Herkunft RABISIN wurde auf die gleiche Art und Weise überprüft.

Hund; virusneutralisierende Antikörper; Challenge-Test; Schutz

Adresy autorů:

MVDr. Vladimír Vrzal, MVDr. Josef Chumela, MVDr. Libor Zatloukal,
Bioveta, s. p., Komenského 212, 683 23 Ivanovice na Hané

MVDr. Zdeněk Čupera, Ústav pro státní kontrolu veterinárních biopreparátů
a léčiv, Hudcova 56a, 621 00 Brno

Upozorňujeme čtenáře, že časopis

ZEMĚDĚLSKÉ AKTUALITY

vydávaný Ústavem vědeckotechnických informací
pro zemědělství (Slezská 7, 120 56 Praha 2)

je zaměřen na progresivní informace pro zemědělskou praxi při zavádění a uplatňování vědeckotechnického rozvoje, na nejnovější zahraniční trendy vývoje zemědělství a zkušenosti předních čs. podniků s uplatňováním nových technologií, vlastních inovačních prvků a metodických postupů při realizaci vědeckotechnického rozvoje.

Vychází měsíčně, od 1. 10. 1989 má formát A/4, barevnou obálku s tematicky zaměřenými fotografiemi na 1. a 4. straně a čtyřstránkovou barevnou přílohu vystihující současný trend při uplatňování VTR ve světě i u nás.

Cena časopisu je 15,— Kčs, celoroční předplatné 180,— Kčs. Objednávky přijímá odd. odbytu a propagace ÚVTIZ, Slezská 7, 120 56 Praha 2.

Obracíme se na všechny autory a čtenáře se žádostí o spolupráci při dotváření nové vnitřní struktury časopisu. Nabízíme Vám možnost publikování článků, které by informovaly o aplikaci nových poznatků vědy v praxi a seznamovaly širokou zemědělskou veřejnost s novými metodami, technologiemi, přípravky, stroji apod., které již byly použity přímo v zemědělských podnicích. Podrobnější informace si vyžádejte v redakci časopisu (ing. Pokorná, ÚVTIZ, tel. 25 55 73).

ÚČINEK POLYCHLOROVANÝCH BIFENYLŮ (PCB) NA ORGANISMUS KUŘAT: VLIV DLOUHODOBÉHO PŘÍJMU STŘEDNÍCH DÁVEK DELORU 103 NA KONCENTRACI THYROXINU, TRIJÓDTHYRONINU A CELKOVÉHO VÁPŇÍKU V KREVŇÍM SÉRU

J. Ruprich, A. Piskač

RUPRICH, J. — PISKAČ, A. (Institut hygieny a epidemiologie, Brno; Vysoká škola veterinární, Brno): *Účinek polychlorovaných bifenyľů (PCB) na organismus kuřat: vliv dlouhodobého příjmu středních dávek Deloru 103 na koncentraci thyroxinu, trijódthyroninu a celkového vápníku v krevním séru*. Veter. Med. (Praha), 35, 1990 (2) : 97-103.

Byl proveden pokus s kontinuálním podáváním krmiva kontaminovaného přípravkem Delor 103 (polychlorované bifenyly — PCB) dávkami $75 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ kuřatům po dobu čtyř týdnů. Bylo zjištěno snížení koncentrací sérového thyroxinu i trijódthyroninu, zvýšení koncentrace celkového vápníku a při dávkách Deloru 103 $150 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ i snížení koncentrace fosforu a aktivity alkalické fosfatázy v séru kuřat. Přídavek jodidu draselného do krmiva ($250 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$) neovlivnil klinický obraz intoxikace Delorem 103. Výsledky potvrzují poznatek, že při intoxikaci PCB je vážně postižena štítná žláza a je narušen metabolismus vápníku. Zjištění je významné pro posuzování intoxikace mladých, rostoucích jedinců.

drůbež; polychlorované bifenyly; thyroxin; trijódthyronin; vápník; fosfor; alkalická fosfatáza

Polychlorované bifenyly (PCB) jsou vysoce persistentní chemické sloučeniny. Vyskytují se v podobě směsí řady izomerů a homologů. Dnes je nacházíme téměř ve všech komponentách našeho ekosystému. Teoreticky může existovat až 209 homologů PCB. Za toxikologicky významné jsou považovány především izomery s vyšším počtem atomů chlóru, zejména penta- a hexachlorbifenyly (Parkinson a Safe, 1987). Příznaky intoxikace PCB byly studovány na různých živočišných druzích mnoha autory (Alvares aj., 1973; Brandt, 1977; Guoth, 1985; Dvořák a Neumannová, 1987 a další).

Mezi popisované příznaky intoxikace PCB patří i disfunkce endokrinního systému. U nás např. Košutzký (1987) studoval vliv PCB na biologickou účinnost steroidních hormonů u drůbeže. Vliv PCB na činnost štítné žlázy drůbeže nebyl dosud dostatečně studován. Není tedy přesně znám vztah poruch v činnosti štítné žlázy ke klinickému obrazu intoxikace. Herzig aj. (1985) prokázali u kuřat, která dostávala krmnou směs kontaminovanou látkami vyvolávajícími edémovou chorobu (chlorované aryllderiváty), negativní ovlivnění výměny základních minerálních látek a thyroxinu v krevním séru. Edematózní charakter příznaků intoxikace PCB u kuřat vyvolává podezření, že jde o vážnou

poruchu metabolismu vápníku se značným významem pro stabilitu buněčných membrán a propustnost kapilár [Wenke aj., 1977; Herzig aj., 1985].

Smyslem naší práce bylo v dané studii ověřit vliv čtyřtýdenního podávání dávek PCB v podobě technického přípravku Delor 103 (převaha izomerů s nižším počtem atomů chlóru) na činnost štítné žlázy a metabolismu vápníku (orientačně, ve vztahu k osteogenezi) u kuřat. Pro naši volbu byl rozhodující zejména možný vztah k funkci kardiovaskulárního systému, který je při intoxikaci PCB výrazně postižen (edémy). V rámci ověřování vlivu PCB na štítnou žlázu kuřat byl studován i vliv přídatku jodidu draselného do krmiva na průběh intoxikace.

MATERIÁL A METODY

Pokusná zvířata: Použili jsme kohoutky nosného plemene Hisex bílý dva týdny staré. Kuřata byla rozdělena do pěti skupin po deseti kusech, aby byla srovnatelná jejich průměrná živá hmotnost.

Uspořádání pokusu: Kontaminované krmivo bylo připravováno každý týden pokusu. Příslušné množství Deloru 103 bylo rozpouštěno v 50 ml acetonu, vmícháno do jednoho kilogramu krmiva (kompletní krmná směs K 1) a tento premix byl vmíchán do devíti kilogramů krmiva. Jodid draselný byl předem rozmíchán ve 100 g pšeničné mouky a pak postupně vmíchán do krmiva. Kuřata byla držena v chovných klecích a krmena *ad libitum* při kontinuálním osvětlení (ve snaze omezit kolísání denní činnosti štítné žlázy). Jednotlivé pokusné skupiny byly čtyři týdny krmeny krmivem s těmito přídatky látek na kilogram krmiva:

1. skupina — kontrola, nekontaminované krmivo
2. skupina — (KI) přírdek 250 mg jodidu draselného
3. skupina — (PCB 75) přírdek 75 mg Deloru 103
4. skupina — (PCB 150) přírdek 150 mg Deloru 103
5. skupina — (PCB 75 + KI) přírdek 75 mg Deloru 103 a 250 mg jodidu draselného

Na konci pokusu byla kuřata zvážena a vykrvena. Vzorky krevního séra byly použity pro stanovení koncentrace hormonů thyroxinu (T_4) a trijodthyroninu (T_3), celkového vápníku, fosforu a alkalické fosfatázy. Hormony T_4 a T_3 byly stanoveny metodou RIA (souprava ÚRVJT Košice), určenou pro lidské sérum. Výsledky jsou tedy vztaženy na hodnoty standardů T_4 a T_3 v lidském séru. Celkový vápník byl stanoven na přístroji Calcium titrator (Marius), fosfor a alkalická fosfatáza pomocí souprav Bio-La-test (Lachema). Hmotnost celé skupiny kuřat byla zjištěna na začátku a na konci pokusu. Ze zjištěného údaje byla vypočtena průměrná hmotnost kusu.

Výsledky jsme statisticky testovali Studentovým *t*-testem.

Zdroj PCB: Delor 103, Chemko, n. p., Strážské, s obsahem 42 % chlóru.

VÝSLEDKY

HODNOCENÍ KLINICKÉHO STAVU

U všech skupin přijímajících Delor 103 (č. 3–5) jsme pozorovali zhoršující se klinický stav přibližně týden po zahájení pokusu. Stav byl charakterizován zpomalením tělesného růstu a vývoje kožních útvarů, letargií, somnolencí, sníženým pohybem, nižším příjmem krmiva, svěšením křídel a hlavy. Ve skupině přijímající Delor 103 a jodid draselný (č. 5) uhynulo po dvou týdnech pokusu jedno kuře. Pitvou na konci pokusu byly prokázány rozsáhlé změny na kardiovaskulárním systému u skupin přijímajících Delor 103 (č. 3–5). Výrazný byl především hydro-

I. Porovnání průměrné hmotnosti kuřat ($n = 10$) na začátku a na jeho konci — Comparison of the average weight of chicks ($n = 10$) at the beginning and at the end of the trial

Skupina	Počáteční hmotnost kuřat v gramech	Konečná hmotnost kuřat v gramech
1. kontrola	100	473
2. KI (250 mg)	101	450
3. 75 mg Deloru 103	99	357
4. 150 mg Deloru 103	104	356
5. 75 mg Deloru 103 + KI (250 mg)	102	374*

perikard. Změny byly patrné i na jaterním parenchymu. U skupiny s přidavkem jodidu draselného odchylky od kontroly zjištěny nebyly.

Výsledky hodnocení hmotnosti kuřat na začátku a na konci pokusu jsou uvedeny v tab. I.

Koncentrace hormonů T_4 a T_3 , celkového vápníku, fosforu, alkalické fosfatázy v krevním séru kuřat na konci pokusu uvádí tab. II.

II. Koncentrace hormonů T_4 (thyroxin) a T_3 (triiodothyronin), celkového vápníku, fosforu a alkalické fosfatázy v krevním séru kuřat ($n = 10$) po čtyřech týdnech zkrmování krmiva kontaminovaného přípravkem Delor 103 — The concentrations of the hormones T_4 (thyroxine) and T_3 (triiodothyronine), total calcium, phosphorus and alkaline phosphatase in the blood serum of chicks ($n = 10$) after four-week administration of feed contaminated with the Delor 103 preparation

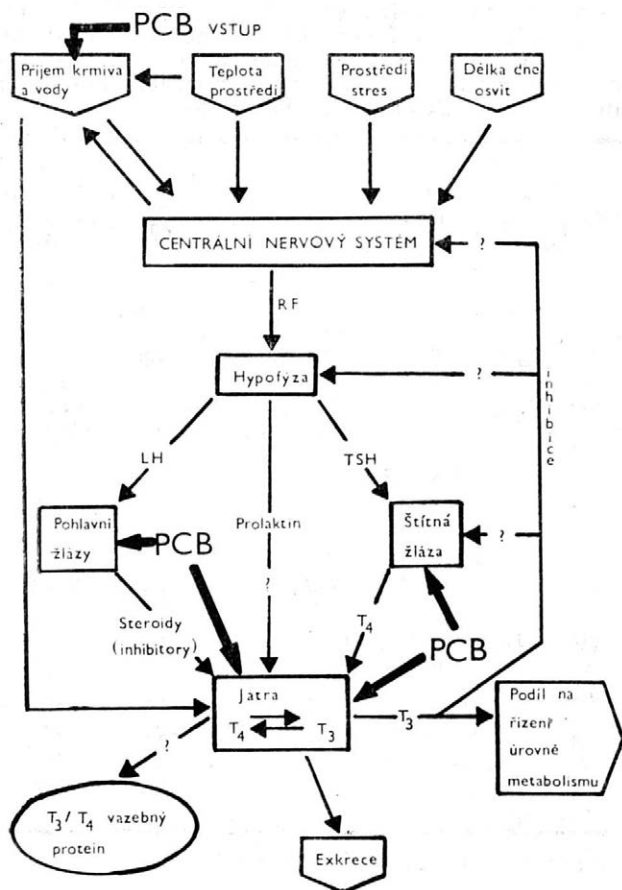
Skupina	T_4 $\bar{x} \pm S$ mmol.l ⁻¹	T_3 $\bar{x} \pm S$ mmol.l ⁻¹	Poměr T_4/T_3	Ca $\bar{x} \pm S$ mmol.l ⁻¹	P $\bar{x} \pm S$ mmol.l ⁻¹	A-fosfa- táza $\bar{x} \pm S$ μkat.l ⁻¹
1. kontrola	39,3 ± 7,5	5,0 ± 0,9	8,9 : 1,1	2,1 ± 0,2	2,8 ± 0,3	18,3 ± 3,8
2. 250 mg KI	32,5 ± 14,9	4,4 ± 1,2	8,8 : 1,2	2,4 ± 0,2	2,7 ± 0,3	17,3 ± 5,7
3. 75 mg Deloru 103	19,4 ± 7,4	2,0 ± 0,3	9,1 : 0,9	2,5 ± 0,2	3,0 ± 1,1	23,2 ± 6,2
4. 150 mg Deloru 103	13,4 ± 6,1	1,5 ± 0,7	9 : 1	2,5 ± 0,2	2,4 ± 0,2	11,5 ± 3,4
5.* 75 mg Deloru 103 + + 250 mg KI	18,4 ± 5,7	2,3 ± 0,6	8,9 : 1,1	2,6 ± 0,2	2,8 ± 0,4	23,0 ± 6,3

* $n = 9$

] — rozdíl na hladině pravděpodobnosti

$P < 0,01$

Hormony štítné žlázy hrají důležitou roli v regulaci růstu a reprodukce u hrabavé drůbeže. Činnost štítné žlázy byla poměrně podrobně studována (např. Sharp a Klandorf, 1985). Je ovlivňována mnoha vnějšími i vnitřními faktory. Z hlediska účinků hormonů štítné žlázy je potřebné zdůraznit zejména vliv na ontogenetický vývoj jedince a na tkáňovou diferenciaci (Šantavý aj., 1975). Fyziologické hladiny hormonů štítné žlázy podporují anabolické procesy, zvýšené hladiny vedou k převaze katabolických procesů. Snížená hladina hormonů štítné žlázy se u savců v období růstu projevuje tzv. juvenilním myxedémem. Obdobné příznaky je možné pozorovat i při intoxikaci kuřat PCB. Zároveň je také možné předpokládat určitý vztah mezi vlivem PCB na organismus a onemocněním zvaném edémová choroba drůbeže (Herzig aj., 1985). Jak bylo zjištěno při pokusech na kryších, ovlivňují PCB uvolňování hormonů ze štítné žlázy s následnou hypertrofií a hyperplazií folikulárních buněk žlázy. Příčinou je omezená interakce mezi koloidními kapénkami (obsahujícími thyreoglobulin) a lysosomy, které umožňují uvolňování hormonů z vazby na bílkovinný nosič (Harper, 1977; Stevens, 1985). Současně bylo zjištěno, že PCB indukují tvorbu jaterních enzymů, které mohou ovlivnit jejich metabolizaci jaterním parenchymem,



1. Některé vzájemné vztahy ovlivňující regulaci koncentrace hormonů štítné žlázy u hrabavé drůbeže (upraveno podle autorů Sharp aj., 1985) a místa předpokládaného narušení systému působení PCB — Certain mutual relations influencing the control of thyroid hormone concentrations in domestic fowl (adapted after the authors Sharp et al., 1985) and the loci of assumed disorders in the system due to the PCB effects

popřípadě zvýšit exkreci thyroxinu ve formě konjugátu žlučí (např. enzym uridin 5'-difosfát-glukuronil transferáza). Některé vzájemné vztahy a místa předpokládaného narušení systému funkce hormonů štítné žlázy působením PCB jsou názorně shrnuty na obr. 1.

Výsledky pokusu dokazují, že přípravek PCB (v podobě Deloru 103) průkazně snížil hladinu sérového thyroxinu u všech skupin (tj. č. 3—5). Přídavek jodidu draselného v dané dávce neovlivnil průkazně hladinu thyroxinu ani trijodthyroninu. Nepůsobil tedy strumigenně (skupina č. 2), ani neměl protektivní vliv při působení PCB na štítnou žlázu. Jak ukazuje tab. II, pohybuje se poměr koncentrací hormonů T₄/T₃ poměrně úzce kolem 9 : 1. Zjištěný poměr je v rozporu s údajem autorů Mehner a Hartfield (1985), kteří hovoří o poměru 6 : 4. Poměr 9 : 1 připisují tito autoři savcům. Sharp a Klandorf (1985) dokládají možnost značného kolísání koncentrací hormonů T₄ a T₃ v závislosti na mnoha faktorech. O změnách poměrů však nereferují. Zvolené dávky Deloru 103 a jodidu draselného významně neovlivnily vzájemný poměr hormonů T₄ : T₃ v krevním séru kuřat, což svědčí o udržení „poměrové funkce“ regulačních mechanismů. Předpokládáme, že postižení štítné žlázy u kuřat funkčně odpovídá poškození popsanému u krys. Definitivní průkaz by však vyžadoval detailní histologické hodnocení. Disbalance v koncentracích hormonů štítné žlázy přispívá i u kuřat k rozvoji příznaků intoxikace PCB.

Dalším sledovaným ukazatelem v pokuse byla hladina celkového vápníku, doplněná o stanovení fosforu a aktivity alkalické fosfatázy. U drůbeže má metabolismus vápníku velký význam. Jeho obrát je např. podstatně vyšší než u savců, což může zvýrazňovat důsledky poruch a projevovat se v podobě různých příznaků intoxikace PCB.

Obsah celkového vápníku není zcela přesným hlediskem pro hodnocení dopadů, zejména na kardiovaskulární systém. Zde by bylo vhodnější stanovit především ionizovanou formu vápníku (Ca²⁺). Zvolili jsme však pouze stanovení celkového vápníku, abychom získali všeobecnou představu o alteraci hospodaření s vápníkem v jeho nejmohutnější podobě — osteogenezi. K té se rovněž vztahuje účinek některých dalších hormonů, které jsou dávány do souvislosti s funkcí štítné žlázy (ultimobranchiální žlázy a parathyreoidea). Vyšetřením hladiny celkového vápníku v krevním séru kuřat bylo zjištěno průkazné zvýšení koncentrací u všech skupin přijímajících Delor 103 (č. 3—5), ale i jodid draselný (č. 2). Souběžné testování koncentrace fosforu ukázalo průkazné snížení pouze u skupiny s nejvyšším přídávkem Deloru 103 (150 mg · kg⁻¹, skupina č. 4). U těže skupiny se rovněž průkazně snížila aktivita alkalické fosfatázy (u ostatních skupin nebyla průkazně změněná). Popisované výsledky dokládají vliv PCB na osteogenezi u kuřat. Na tento fakt upozornil ve své práci již Lopuchovský (1986). Po použití Deloru 103 ve srovnatelných dávkách se hladiny vápníku v krevním séru nejprve zvýšily, později se snížily. Hladina fosforu a aktivita alkalické fosfatázy byla zvýšená. Výsledky se tedy částečně liší, což může být způsobeno mimo jiné i použitím jiného plemene kura domácího (geneticky podmíněná citlivost — Ah receptory). Lopuchovský (1986) soudí, že alterace metabolismu vápníku jsou důsledkem narušení systému přeměny vitamínu D. Předpokládá degradaci cholekalciferolu v játrech, což vede k útlumu tvorby účinných metabolitů (25-hydroxycholekalciferolu a 1,25-dihydroxycholekalciferolu).

Soudíme však, že poruchy jsou daleko hlubší a souvisí i s alterací endokrinních funkcí organismu. Bezesporu se uplatňuje alterace steroidních hormonů, o které hovoří Košutzký (1987). Snížená funkce štítné žlázy se zpětnovazebně odráží ve změně produkce thyrotrópního hormonu (TSH). Pokoušeli jsme se stanovit i tento hormon, ale protilátky proti lidskému TSH nereagovaly s TSH kuřat. Stanovení tedy nebylo technicky proveditelné (metoda RIA). Předpokládáme souvislost mezi změnami hladin TSH a thyroxinu a ovlivněním funkce C-buněk produkujících kalcitonin. U drůbeže mají C-buňky odlišnou lokalizaci — v ultimobranchiálních žlázách a v thymu. Souvislost mezi produkcí TSH, thyroxinu, některými dalšími hormony a regulací sekrece kalcitoninu prokázal např. Schwartz (1982). Souběžně jsou pak ovlivňována i příštítná tělíska produkující parathormon.

Potvrzení alterace metabolismu vápníku dokládá možnost negativního vlivu na kardiovaskulární systém. Přesnější interpretace by však vyžadovala i stanovení podílu ionizované formy (Ca^{2+}).

Literatura

- ALVARES, A. P. — BICKERS, D. R. — KAPPAS, A.: Polychlorinated biphenyls: a new type of induced cytochrome P-448 in the liver. *Proc. nat. Acad. Sci., U.S.A.* 70, 1973, s. 1321.
- BRANDT, I.: Tissue localisation of polychlorinated biphenyls, chemical structure to pattern distribution. *Acta pharmacol. toxicol.*, 40, 1977, s. 108.
- DVOŘÁK, M. — NEUMANNOVÁ, M.: Účinky polychlorovaných bifenylov (Deloru 103, 105 a 106) v krmivu na zdraví mladých prasat. *Veter. Med. (Praha)*, 32, 1987, s. 417-428.
- GUOTH, J.: Štúdium vplyvu niektorých polychlóvaných bifenylov (PCB) na prasatá. [Písomná atestačná práca.] Brno, Vysoká škola veterinárni 1985. 72 s.
- HARPER, H. A.: Přehled fyziologické chemie. Praha, Avicenum 1977. 639 s.
- HERZIG, I. — TOULOVÁ, M. — PÍSAŘÍKOVÁ, B. et al.: Etiologie a prevence edémové nemoci drůbeže. [Výzkumná zpráva.] Brno, Výzkumný ústav veterinárního lékařství 1985. 48 s.
- KOŠUTZKÝ, J.: Biologické a ekotoxikologické faktory v reprodukci hydiny. *Veterinárstvo*, 2/87 C. Bratislava, VEDA 1987. 139 s.
- LOPUCHOVSKÝ, J.: Interakcia cholekalciferolu s polychromovaným bifenylov (Delor 103) u hydiny. *Biol. Chem. Vet.*, 38, 1986, s. 433-438.
- MEHNER, A. — HARTFIELD, W.: Handbuch der Geflügelphysiologie (Teil 2). Jena, VEB Gustav Fischer Verlag 1983. 1156 s.
- PARKINSON, A. — SAFE, S.: Mammalian biology and toxic effects of PCBs. In: SAFE, S.: Polychlorinated biphenyls (PCBs): Mammalian and environmental toxicology. Berlin, Springer-Verlag 1987, s. 50-61.
- SHARP, P. S. — KLANDORF, H.: Environmental and physiological factors controlling thyroid function in galliforms. In: FOLLET, B. K. et al.: The endocrine system and environment. Tokyo, Jap. Sci. Soc. Press 1985, s. 175-188.
- SCHWARTZ, F. L.: Parathyroid hormone, calcitonin and vitamin D. In: CRAIG, C. R. et al.: Modern pharmacology. Boston, Little, Brown and Co. 1982, s. 873-886.
- STEVENNS, J. T.: Effect of chemicals on the thyroid gland. In: THOMAS, J. A. et al.: Endocrine toxicology. New York, Raven Press 1985, s. 135-147.
- ŠANTAVÝ, F. et al.: Biochemie. Praha, Avicenum 1975. 670 s.
- WENKE, M. — HYNIE, S. — MRÁZ, O.: Farmakologie. Praha, Avicenum 1977. 499 s.

Došlo dne 17. 2. 1989

РУПРИХ, Й. — ПИСКАЧ, А. (Институт гигиены и эпидемиологии, Брно; Ветеринарный институт, Брно): Эффект полихлорированных бифенилов (ПХБ) на организм цыплят: действие долгосрочного приема средних доз делора 103 на концентрацию тироксина, трийодтрионина и общего кальция в кровяном сыворотке. *Veter. Med. (Praha)*, 35, 1990 (2) : 97-103.

Провели опыт с континуальной подачей кормов загрязненного препаратом делор 103 (полихлорированных бифенилы — ПХБ) дозами 75 мг. кг⁻¹ цыплятам в течение 4 недель. Установили понижение концентраций сывороточного тироксина и трийодтрионина, повышение концентрации общего кальция и при дозах делора 103 150 мг. кг⁻¹ и понижение фосфора и активности щелочной фосфатазы в сыворотке цыплят. Добавление йодида калия в корм (250 мг. кг⁻¹) не повлияло на клиническую картину интоксикации делором 103. Результаты подтверждают познание, что при интоксикации ПХБ важно повреждена щитовидная железа и нарушен метаболизм кальция. Установленные результаты имеют значение для оценки интоксикации молодых, растущих особей.

птица; полихлорированные бифенилы; тироксин; трийодтрионин; кальций; фосфор; щелочная фосфатаза

RUPRICH, J. — PISKAČ, A. (Institute of Hygiene and Epidemiology, Brno; University of Veterinary Medicine, Brno): *The effects of polychlorinated biphenyls (PCB) on chick organisms: the influence of long-term intake of medium-high doses of Delor 103 on the concentrations of thyroxine, triiodothyronine and total calcium in the blood serum.* *Veter. Med. (Praha)*, 35, 1990 (2) : 97-103.

A trial with the continual administration of feed contaminated with the Delor 103 preparation (polychlorinated biphenyls — PCB) at a rate of 75 mg per kg for chicks lasted four weeks. The concentrations of serum thyroxine and triiodothyronine were found to decrease, the concentrations of total calcium increased and at the Delor 103 doses of 150 mg per kg even the phosphorus concentration and the activity of alkaline phosphatase in the serum of chicks decreased. The addition of potassium iodide to feed (250 mg per kg) did not influence the clinical picture of Delor 103 intoxication. The results confirm a finding that in the course of PCB intoxication severe disorders of the thyroid gland take place and calcium metabolism is disturbed. This finding is important in view of evaluation of the intoxication of young, growing chicks.

fowl; polychlorinated biphenyls; thyroxine; triiodothyronine; calcium; phosphorus; alkaline phosphatase

RUPRICH, J. — PISKAČ, A. (Institut für Hygiene und Epidemiologie, Brno; Veterinärmedizinische Hochschule, Brno): *Wirkung von polychlorierten Biphenylen (PCB) auf den Organismus der Küken: Einfluss einer langfristigen Aufnahme der mittleren Gaben von Delor 103 auf die Konzentration von Thyroxin, Trijodthyronin und Gesamtkalzium im Blutserum.* *Veter. Med. (Praha)*, 35, 1990 (2) : 97-103.

Vier Wochen lang wurde ein Versuch durchgeführt mit kontinuierlicher Verabreichung des mit Delor 103 (polychlorierte Biphenylgruppen — PCB) kontaminierten Futters den Küken in einer Gabe von 75 mg. kg⁻¹. Es konnte eine Senkung der Konzentration von Serumthyroxin und Trijodthyronin, eine Steigerung der Konzentration von Gesamtkalzium und bei Gaben von Delor 103 von 150 mg. kg⁻¹ auch eine Senkung der Konzentration von Phosphor und der Aktivität der alkalischen Phosphatase im Kükenserum beobachtet werden. Der Zusatz von Kaliumjodid zum Futter (250 mg. kg⁻¹) übte keinen Einfluss aus auf das klinische Bild der Intoxikation mit Delor 103. Die Ergebnisse bestätigen die Erkenntnis, dass bei der Intoxikation durch PCB vor allem die Schilddrüse betroffen und der Ca-Metabolismus gestört wird. Dies ist für die Beurteilung der Intoxikation der jungen, wachsenden Individuen wichtig.

Geflügel; polychlorierte Biphenylgruppen; Thyroxin; Trijodthyronin; Kalzium; Phosphor; alkalische Phosphatase

Adresy autorů:

MVDr. Jiří Ruprich, CSc., Institut hygieny a epidemiologie, Palackého 1-3, 612 42 Brno

Prof. MVDr. Alois Piskač, DrSc., Vysoká škola veterinární, Palackého 1-3, 612 42 Brno

INFORMACE Z ÚSTŘEDNÍ ZEMĚDĚLSKÉ A LESNICKÉ KNIHOVNY ÚVTIZ

Ústřední zemědělská a lesnická knihovna (ÚZLK) v Praze je významnou součástí československé informační soustavy. Byla založena v roce 1926 a v roce 1927 zpřístupněna veřejnosti.

Velikostí knihovního fondu patří mezi největší zemědělské knihovny na světě. Knihovna má více než 1 milión svazků, ročně přibývá do jejích fondů asi 13 000 až 15 000 publikací. ÚZLK průběžně odebírá 1300 až 1500 titulů odborných časopisů.

Významným zdrojem literatury je mezinárodní výměna publikací. Knihovna si vyměňuje literaturu s 1200 partnery ze 60 zemí světa a získává firemní literaturu od 1600 firem.

K informacím o knihách a časopisech, které jsou ve fondech ÚZKL, je návštěvníkům knihovny k dispozici rozsáhlý systém čtenářských katalogů a kartoték.

Vedle výpůjčních služeb ÚZLK ještě zajišťuje individuální reprografickou službu, tj. poskytování xerokopií článků zveřejněných v bibliografické a referátové službě Agroindex a kopií jakýchkoliv článků z knih a časopisů, které jsou ve fondu ÚZLK.

Požadavky na tyto kopie článků můžete předkládat v průběhu celého roku na formulářích Objednávka reprografické práce, které si můžete objednat v Technickém ústředí knihoven ve Slavkově u Brna pod číslem TUK 138-0.

Cena jedné xerokopie (včetně knihovnické práce) je 2 Kčs.

Objednávky na tuto službu přijímá:

ÚZLK — ÚVTIZ
OVRMS
Slezská 7
120 56 Praha 2

SLEDOVANIE ÚČINKU CYADOXU A VIRGINIAMYCINU NA PRIEBEH MARKOVEJ CHOROBY U KURČIAT

M. Tokošová

TOKOŠOVÁ, M. (Vojenský veterinárny doškoľovací výskumný ústav, Košice): *Sledovanie účinku cyadoxu a virginiamycinu na priebeh Markovej choroby u kurčiat*. Veter. Med. (Praha), 35, 1990 (2) : 105-112.

Kurčatám infikovaným vysoko virulentným vírusom Markovej choroby sme v priebehu 56-dňového výkrmu podávali cyadox v dávke 20 mg.kg⁻¹ krmnej zmesi (skupina MC) a virginiamycin v dávke 10 mg.kg⁻¹ krmnej zmesi (skupina MV). Hmotnostné prírastky v 56. dni a jatočná výťažnosť boli v porovnaní s kontrolnou skupinou (711,11 g a 60,62 %) najvyššie u skupiny, ktorej sme pridávali virginiamycin. Pri sledovaní základného chemického zloženia mäsa sme zistili znížený obsah sušiny a bielkovín u skupiny s prídavkom virginiamycinu (26,9 % a 22,76 %) oproti kontrolnej skupine kurčiat tiež infikovaných vírusom Markovej choroby. Biometrickým vyšetrením orgánov sme zistili štatisticky významné zníženie hmotnosti srdca u skupiny s prídavkom cyadoxu, zvýšenie hmotnosti pečene, srdca a skrátenie dĺžky čriev u skupiny s prídavkom virginiamycinu oproti skupine kontrolnej. Patologicko-anatomické zmeny svedčiace pre Markovu chorobu sme zistili z náhodne vybratého počtu kurčiat u skupiny kontrolnej v 33,3 %, u skupiny s prídavkom cyadoxu v 28,5 % a u skupiny s prídavkom virginiamycinu v 50,0 %.

kurčatá; cyadox; virginiamycin; Markova choroba; jatočná výťažnosť; kvalita mäsa; biometria orgánov

Jedným z významných faktorov zvyšovania efektívnosti živočíšnej výroby je použitie krmných antibiotík a stimulátorov rastu neantibiotického charakteru vo výžive hospodárskych zvierat. V posledných rokoch je v popredí záujmu otázka, či používanie antibiotík u zvierat nemá nepriaznivý vplyv na zdravotnú neškodnosť živočíšnych produktov z hľadiska výživy ľudí [Schurch a Bickel, 1980]. Preto bola pozornosť zameraná na vývoj, výrobu a využitie nových látok chemického pôvodu, ktoré svojím preventívno-liečebným pôsobením a zlepšením bilančnej stráviteľnosti dusíkatých látok pôsobia na zvýšenie retencie dusíka, účinnejšie využitie vstrebávaných živín a zlepšenie využiteľnosti energie [Brož a i., 1979].

Sledovaním mutagénnych a kancerogénnych účinkov týchto látok [Sýkora a Vortel, 1984; Gandalovičová a Sýkora, 1986], účinkom na reprodukčnú schopnosť [Sýkora a i., 1981], ako aj cyto-genetickým účinkom rastových stimulátorov sa venuje veľká pozornosť. Doteraz bolo vyvinuté množstvo látok s vlastnosťami stimulujúcimi rast, ale väčšina z nich sa nedostala do praxe, pretože sa zistil možný kancerogénny vplyv.

Naším zámerom bolo zistiť vplyv originálneho stimulatéra rastu čs. proveniencie — cyadoxu a kŕmneho antibiotika virginiamycinu na hmotnostné prírastky, kvalitu mäsa, niektoré biometrické ukazovatele a výskyt patologicko-anatomických zmien po infikovaní kurčiat vysoko virulentným vírusom Markovej choroby.

MATERIÁL A METÓDY

Do pokusu sme zaradili 90 kurčiat mäsového hybridu Slovgal (dodávateľ JRD Leles), ktoré sme rozdelili do jednej kontrolnej a dvoch pokusných skupín po 30 kurčiatách. Kurčatá boli chované za laboratórnych podmienok, tepelný režim sme im upravovali podľa veku. V priebehu pokusu boli kŕmené kompletnými zmesami BR₁ a BR₂ spolu s doplnkami biofaktorov DB BR₁, DB BR₂, ktorých zloženie zodpovedalo štátnej receptúre a do ktorých boli pridávané testované látky v týchto množstvách: prvej skupine — kontrolnej (MK) nebola podávaná látka stimulujúca rast, druhej skupine (MC) bolo pridávané 20 mg cyadoxu na kilogram kŕmnej zmesi a tretej skupine (MV) 10 mg virginiamycinu na kilogram kŕmnej zmesi. Kŕmne zmesi boli podávané *ad libitum*, vodu mali kurčatá trvale k dispozícii.

Dvojďňové kurčatá kontrolnej, cyadoxovej a virginiamycinovej skupiny sme infikovali intraabdominálne suspenziou „buffy coat“ buniek v množstve približne 5×10^6 pochádzajúcich z kurčiat infikovaných vysoko virulentným vírusom Markovej choroby, kmeň HPRS-16 (Stock-49, infekčný titer $10^{4.45}$ PFU na ml) (Purchase a Biggs, 1967).

V pokusnom období sme v pravidelných intervaloch 1., 14., 28. a 56. deň sledovali individuálnu hmotnosť kurčiat.

Imunoprecipitačné protilátky vo vzorkách krvi z podkrídlovej žily sme stanovili podľa autorov Lešník a Ross (1975) v 16., 28. a 43. dni. Imunoprecipitačné antigény v nezrelých koreňových častiach peria z pectorálnej oblasti sme stanovili podľa autorov Haider a i. (1970) a Hebert (1974).

Denne bol kontrolovaný zdravotný stav a u uhynutých kusov bola vykonaná patologicko-anatomická pitva. Jatočne opracované a vykostené prsia kurčiat (bez kože) sme pomleli a v takto pripravených vzorkách sme stanovili pH vo vodnom výluhu mäsa prístrojom Radelkis OP 207 45 minút a 24 hodín *post mortem*. Obsah sušiny a tuku sme stanovili podľa ČSN 57 0185 (1962), obsah bielkovín zariadením Kjeltec II firmy Tecator AB.

U náhodne vybratých a zabitých kurčiat sme odoberali vzorky pečene, sleziny, sedacieho nervu, pohlavných žliaz a pri viditeľných zmenách aj vzorky srdca, svalového alebo väzivového tkaniva. Tieto vzorky sme spracovali bežnou histologickou technikou zaliatím do parafínu a farbením hematoxylin-eozínom. Histologickým vyšetrením sme zisťovali nádorové infiltráty z lymfatických buniek. Na základe počtu kurčiat, u ktorých boli zistené histopatologické zmeny poukazujúce na Markovu chorobu k celkovému počtu kurčiat v skupine, uvádzame intenzitu výskytu Markovej choroby v percentách.

Pečeň, srdce a slezinu sme vážili s presnosťou na 0,01 g; hmotnosť vyjadrujeme v percentách zo živej hmotnosti kurčiat. Črevá oddelené tesne za svalnatým žalúdkom a pred kloakou sme vyprázdňovali a dĺžku uvádzame v centimetroch.

Dosiahnuté výsledky sme hodnotili Studentovým *t*-testom.

VÝSLEDKY

Z výsledkov imunodifúzných štúdií (tab. I) vyplýva, že imunoprecipitačné protilátky proti vírusu Markovej choroby sú v krvných sérach kurčiat u skupiny MC a MV už od 16. dňa. Výnimku tvorí skupina kontrolná. Titer protilátok pretrváva v priebehu celého pokusu. Imunoprecipitačné antigény v epitelových bunkách perových folikulov sú detekovateľné tiež od 16. dňa po infekcii, s výnimkou kontrolnej skupiny. Výsledky týchto imunodifúzných testov potvrdili pomnoženie vírusu Markovej choroby u kontrolných a pokusných kurčiat.

I. Prítomnosť imunoprecipitačných protilátok proti vírusu Markovej choroby v krvných sérach kurčiat a imunoprecipitačných antigénov vírusu Markovej choroby v epiteliálnych bunkách perových folikulov [%] — The presence of immunoprecipitating antibodies to Marek's disease virus in the blood sera of chickens and immunoprecipitating antigens of Marek's disease virus in the epithelial cells of feather follicles [%]

Skupina	Prítomnosť imunoprecipitačných protilátok proti vírusu Markovej choroby v krvných sérach			Prítomnosť imunoprecipitač- ných antigénov vírusu Marko- vej choroby v epiteliálnych bunkách perových folikulov v percentách		
	dni po infekcii					
	16.	28.	43.	16.	28.	43.
Kontrola MK	negat.	(titer ⁺ 1 : 4)	(1 ⁺ : 4)	0	86,66	86,36
Cyadox MC	(1 ⁺ : 4)	(1 ⁺ : 4)	(1 ⁺ : 4)	86,20	80,64	54,16
Virginiamycin MV	(1 ⁺ : 4)	(1 ⁺ : 4)	(1 ⁺ : 4)	72,22	93,75	100,00

II. Hmotnosť a jatočná výťažnosť u kurčiat experimentálne infikovaných vírusom Markovej choroby (priemerné hodnoty) — The weight and dressing percentage of chickens experimentally infected with Marek's disease virus (average values)

Skupina	n	Deň pokusu								Jatočná výťažnosť [%]
		1.		14.		42.		56.		
		priemerná hmotnosť [g]				index [%]				
		g	%	g	%	g	%	g	%	
Kontrola MK	9	35,00	100,00	143,75	100,00	646,81	100,00	711,11	100,00	60,62
Cyadox MC	14	35,00	100,00	109,65	76,27	425,43	65,77	710,71	99,94	58,31
Virginiamycin MV	8	35,00	100,00	115,62	80,43	550,00	85,03	758,87	106,71	63,25

III. Základné chemické zloženie prsného mäsa kurčiat experimentálne infikovaných vírusom Markovej choroby (priemerné hodnoty, $n = 6$) — Basic chemical composition of breast meat in chickens experimentally infected with Marek's disease virus (average values, $n = 6$)

Skupina	pH prsného mäsa post mortem		Sušina	Tuk	Bielkoviny
	45 minút	24 hodín			
Kontrola MK	6,53	5,60	28,23	2,46	24,29
Cyadox MC	6,50	5,55	27,50	2,44	23,18
Virginiamycin MV	6,48	5,68	26,94	2,35	22,76

IV. Výskyt a intenzita histopatologických zmien v orgánoch kurčiat experimentálne infikovaných vírusom Markovej choroby (A — kontrola — MK; B — cyadox — MC; C — virginiamycin — MV) — The incidence and intensity of histopathological changes in the organs of chickens experimentally infected with Marek's disease virus (A — control — MK; B — cyadox — MC; C — virginiamycin — MV)

A Orgány	Označenie kurčiat								
	1	2	3	4	5	6	7	8	9
Pečeň	+					±			+++
Slezina									
Gonády									++
<i>Nervus ischiadicus</i>						±			
Percento pozitívnych z celkového počtu kurčiat					33,3				

B Orgány	Označenie kurčiat													
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14
Pečeň										+				+
Slezina														
Gonády														
<i>Nervus ischiadicus</i>							±					+++		
Srdce												+++		
Svalstvo							+++					+++		
Percento pozitívnych z celkového počtu kurčiat							28,5							

C Orgány	Označenie kurčiat							
	1	2	3	4	5	6	7	8
Pečeň	+++	++						
Slezina						±		
Gonády	+++							
<i>Nervus ischiadicus</i>			±					
Percento pozitívnych z celkového počtu kurčiat					50,0			

Intenzitu nádorových infiltrátov v jednotlivých orgánoch označujeme:

- + začínajúce zmeny
- ++ rozsiahlejšie zmeny
- +++ veľmi rozsiahle zmeny
- ± dubiózny výsledok

V. Biometria vnútorných orgánov kurčiat experimentálne infikovaných vírusom Markovej choroby (priemerné hodnoty; percento z celkovej živej hmotnosti) — The biometry of internal organs of chickens experimentally infected with Marek's disease virus (average values; percent of total liveweight)

Skupina	n	Hmotnosť pečene		Hmotnosť srdca		Hmotnosť sleziny		Dĺžka čriev [cm]
		g	%	g	%	g	%	
Kontrola MK	9	17,703	2,48	3,707	0,52	1,272	0,17	112,17
Cyadox MC	14	17,370	2,44	2,960 ⁺	0,41	1,715	0,24	111,35
Virginiamycin MV	8	19,723 ⁺	2,59	4,739 ⁺	0,62	1,895 ⁺⁺	0,24	105,62 ⁺

Hodnoty priemernej hmotnosti a jatočnej výťažnosti kurčiat uvádzame v tab. II. Najvyššiu hmotnosť a jatočnú výťažnosť sme zistili u skupiny s prídavkom virginiamycinu (758,87 g, $P < 0,01$ a 63,25 %) a najnižšiu u skupiny s prídavkom cyadoxu (710,71 g a 58,31 %).

Základné chemické zloženie mäsa kurčiat uvádza tab. III. Najvyššie hodnoty pH prsného mäsa 45 minút *post mortem* sme zistili u skupiny kontrolnej (6,53) a po 24 hodinách u skupiny s prídavkom virginiamycinu (5,68). Znížený obsah sušiny (26,94 %) a obsah bielkovín (22,76 %) sme zaznamenali u kurčiat, ktorým sme podávali virginiamycin (kontrolná skupina 28,23 % sušiny a 24,29 % bielkovín). Obsah tuku v prsnom mäse všetkých sledovaných skupín kurčiat bol vyrovnaný a pohyboval sa od 2,35 do 2,46 %.

Sledovaním výskytu a intenzity histopatologických zmien kontrolnej skupiny sme zistili, že najčastejšie bola postihnutá pečeň, gonády a *nervus ischiadicus*. Patologické zmeny boli zistené u 33,3 % kurčiat (tab. IV A).

U skupiny s prídavkom cyadoxu predstavoval výskyt histopatologických zmien svedčiacich pre Markovu chorobu 28,5 %. Pečeň, *n. ischiadicus* a svalstvo bolo postihnuté vždy u dvoch kurčiat a v jednom prípade bolo postihnuté srdce (tab. IV B). U skupiny kurčiat, ktorej sme do kŕmnej zmesi pridávali virginiamycin, sme zaznamenali 50% výskyt histopatologických zmien; u pečene v dvoch prípadoch, u sleziny, gonád a *n. ischiadicus* v jednom prípade (tab. IV C).

Biometrické hodnoty vnútorných orgánov uvádza tab. V. Najvyššiu hmotnosť pečene, srdca a sleziny sme zistili u skupiny kurčiat kŕmených virginiamycinom (19,723 g, $P < 0,05$; 4,739 g, $P < 0,05$; 1,895 g, $P < 0,01$). U tejto skupiny kurčiat sme tiež zistili skrátenie čriev oproti skupine kontrolnej (105,62 cm, $P < 0,05$ oproti 112,17 cm).

DISKUSIA

Markova choroba je z národohospodárskeho hľadiska významné ochorenie spôsobujúce škody nielen priamo, vo veľkochovoch vo forme úhynu, ale aj pri veterinárnej prehliadke po zabíjaní hydiny. Je to lymfoproliferatívne neoplastické ochorenie hydiny charakterizované tvorbou lymfoidných nádorov a infiltráciou periférnych nervov lymfoidnými bunkami. Ak ide o hydinu chorú alebo podozrivú na Markovu chorobu, po-

sudzuje sa podľa platných predpisov (Vyhláška FMZVŽ z 10. 12. 1987) mäso a orgány ako nepoužívateľné alebo podmienenčne požívateľné.

Straková a i. (1975) pri sledovaní subakútnej toxicity nitrovinu u kurčiat okrem toxických zmien zistili leukózu v jednom prípade pri dávke $75 \mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$ krmiva a v jednom prípade pri dávke $1500 \mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$ krmiva; pri tejto dávke bol v jednom prípade zistený lymfoblastický sarkóm s náznakom polymorfizmu nádorových buniek. Ostatné boli bez patologického nálezu. Tieto nálezy boli označené ako interkurentné ochorenie. Quindoxin — preparát zo skupiny chimoxalínových derivátov — spôsobil nádorové bujnenie väzivového tkaniva potkanov po 18-mesačnom sledovaní chronickej toxicity (Tucker, 1975). Polášek a i. (1983) zistili po skrmovaní cyadoxu u nosníc hydropickú vakuolárnu degeneráciu hepatocytov s prechodom v difúznú steatózu pečene. Zmeny boli sprevádzané lymfocytárnou infiltráciou pečeneového parenchýmu. Títo autori zistili výrazné ireverzibilné poškodenie obličiek vo forme degenerácie epitelu obličkových tubulov, sprevádzané lymfocytárnou infiltráciou. Nastuneak a i. (1986) pri sledovaní toxicity cyadoxu a olachindoxu zistili miliárne nekrózy pečeneového parenchýmu s mononukleárnymi infiltrátmi lymfocytárneho charakteru, ktoré nedávajú do súvislosti s podávanými látkami. Podobný názor zastávajú Rehman a i. (1980). Němec a i. (1984) pri toxikologických štúdiách na krysách popisujú preneoplastické nodulárne ložiská v pečeni ako následok skrmovania carbadoxu. Po dávke 300 ppm sa carbadox prejavil ako hepatocancerogén.

Pokusy s Markovou chorobou boli poznačené značným úhynom, ktorý predstavoval až 41,67 % z celkového počtu kurčiat. Najvyšší úhyn sme zaznamenali v treťom až piatom dni po intraperitoneálnom infikovaní kurčiat vysoko virulentným vírusom. Tento úhyn však nie je ojedinelý, pretože Černík (1980) po vakcinácii zaznamenal 40% úhyn kurčiat, čo pripisuje postvakcinačnému stresu.

Polášek a i. (1983) po dlhodobej odstupňovanej aplikácii cyadoxu u sliepok nezistili biometrickými meraniami zmeny hmotnosti pečene, sleziny a obličiek.

Chinoxalínové deriváty vykazujú výrazné antibakteriálne účinky, teda ich skrmovanie potláča subklinické alebo nešpecifické ochorenia (Wallace, 1970; Vervaeke a i., 1986). Špecifické účinky virginiamycínu pri treponemovej dyzentérii u ošipaných popisujú Williams a Shively (1978). Gordon a i. (1958) po dávke 50 mg penicilínu popisujú zníženie hmotnosti tenkého čreva kurčiat. Rozdiely zistené v našej práci sú malé, ale naznačujú, že virginiamycin sa v tomto smere uplatňuje.

Vplyv Markovej choroby na kvalitu hydínového mäsa sledovali Dobes a i. (1977). Zistili, že Markova choroba spôsobuje nielen úhyn a konfiškáciu kurčiat, ale pôsobí negatívne na jatočnú výťažnosť, biologickú plnohodnotnosť, má za následok zníženie obsahu bielkovín, mastných kyselín, biogénnych a stopových prvkov. Tieto zistenia boli čiastočne potvrdené i v našej práci.

Sledovaním hmotnostných prírastkov, jatočnej výťažnosti, základného chemického zloženia mäsa sme zistili najvyššie hmotnostné prírastky a jatočnú výťažnosť u skupiny kurčiat, ktorým sme podávali virginiamycin, ale súčasne sme konštatovali najnižší percentuálny obsah bielkovín, sušiny a tuku v prsnom mäse. Z náhodne vybraných a pitva-

ných kurčiat sme na základe patologicko-anatómickej pitvy zistili u 33,3 % kurčiat kontrolnej skupiny výskyt nádorovitých zmien potvrdzujúcich Markovu chorobu, 28,5 % zmien u skupiny cyadoxovej a 50,0 % zmien u skupiny virgininiamycinovej.

Literatúra

- BROŽ, J. — ŠEVČÍK, B. — STRAKOVÁ, J. — SVOBODA, T. — NASTUNEAK, J. — HEBKÝ, J.: Cyadox — nový syntetický stimulátor rústu čs. pôvodu — základní vlastnosti a účinnost. *Biol. chem. Vet. (Praha)*, 15, 1979, s. 115-124.
- ČERNÍK, K.: Aktuální otázky pseudomoru drůbeže a problém intervence infekční bursitidy. *Imunoprofylaxia*, 3, 1980, s. 6-27.
- ČSN 57 0185. Zkoušení masa, masných výrobků a masných konzerv. Chemické a fyzikální metody. 1962.
- DOBES, M. — NÁPRAVNÍK, A. — VÁVROVÁ, M. — JURAJDA, V.: Vliv Markovy nemoci na kvalitu masa drůbeže. *Veter. Péče potr. Prům.*, 1, 1977, s. 213-219.
- GANDALOVICOVÁ, D. — SÝKORA, I.: Cyadox a olachindox — test fertility na krysách. *Biol. chem. Vet. (Praha)*, 22, 1986, s. 63-72.
- GORDON, H. A. — WAGNER, M. — WOSTMANN, B. S.: Studies on conventional and germ-free chickens treated orally with antibiotics. *Antibiot. A.*, 1957-1958, s. 248-255.
- HAIDER, S. A. — LAPEN, R. F. — KENZU, S. G.: Use of feathers in a gel precipitation test for Marek's disease. *Poult. Sci.*, 49, 1970, s. 1654-1657.
- HEBERT, G. A.: Ammonium sulfate fractionation of sera: mouse, hamster, guinea pig, monkey, chimpanzee, swine, chicken and cattle. *Appl. Microbiol.*, 27, 1974, s. 389-393.
- LEŠNÍK, F. — ROSS, J. N.: Immunization against Marek's disease using virus specific antigens free from infectious virus. *Brit. J. Canc.* 31, 1975, s. 260-261.
- NASTUNEAK, J. — KOLOUCH, F. — VÁŇOVÁ, L. — DVOŘÁK, M. — ŠEVČÍK, B.: Sledování tříměsíční toxicity cyadoxu v porovnání s olachindoxem u laboratorního potkana. *Biol. chem. Vet. (Praha)*, 28, 1986, s. 367-380.
- NĚMEC, J. — VORTEL, V. — SEDLMAYER, P. — BERGER, J. — DLBAČ, A.: Šestiměsíční toxikologická studie cyadoxu na krysách v porovnání s carbadoxem. *Biol. chem. Vet. (Praha)*, 26, 1984, s. 13-18.
- POLÁŠEK, L. — POKORNÝ, M. — TEJNORA, J. — ŠEVČÍK, B. — STRAKOVÁ, J. — DVOŘÁK, M. — NASTUNEAK, J. — KOLOUCH, F.: Sledování dlouhodobé aplikace odstupňovaných dávek cyadoxu u slepic. *Biol. chem. Vet. (Praha)*, 25, 1983, s. 555-556.
- PURCHASE, H. G. — BIGGS, P. M.: Characterization of live isolated of Marek's disease. *Res. veter. Sci.*, 8, 1976, s. 440-449.
- REHM, S. — DEERBER, F. — RAPP, K.: Life span and characteristic disease in nulated rats and retired breeders of the hen: Wistar stock. *Zwierz. lab.*, 17, 1980, s. 91-96.
- SCHURCH, A. — BICKEL, H.: Zur Wirkungsweise wachstumsfördernder Futterzusätze. *Schweiz. landw. Mschr.*, 58, 1980, s. 139-141.
- STRAKOVÁ, J. — ŠEVČÍK, B. — DVOŘÁK, M.: Subakutní toxicita československého nitrovinu u krůt. *Biol. chem. Vet. (Praha)*, 11, 1975, s. 55-65.
- SÝKORA, I. — VORTEL, V.: Orientační kanterogenní studie cyadoxu a carbadoxu na krysách. *Biol. chem. Vet. (Praha)*, 20, 1984, s. 21-26.
- SÝKORA, I. — MARHAN, O. — GANDALOVICOVÁ, G.: Účinky neantibiotických stimulatorů rústu Karbadox a Cyadox na reprodukci laboratorních zvířat. *Veter. Med. (Praha)*, 26, 1981, s. 367-377.
- ŠEVČÍK, B. — STRAKOVÁ, J. — BROŽ, J. — DVOŘÁK, M. — NASTUNEAK, J. — SVOBODA, T.: Ověření snášenlivosti stimulatoru cyadoxu při dlouhodobém podávání u prasat. *Biol. chem. Vet. (Praha)*, 16, 1980, s. 390-402.
- TUCKER, M. J.: Carcinogenic action of quinoxaline — 1,4-dioxide in rats. *J. Nat. Cancer Inst.* 55, 1975, s. 137-140.
- VERVAEKE, I. J. — DECUYPERE, J. A. — HENDERICKX, H. K. — DIERICK, N. A.: Mode of action of some feed additives. *Proc. 4th Int. Pig veter. Congr.*, Ames, 1976, AA 4.
- WALLACE, H. D.: Biological response to antibacterial feed additives in diets of meat producing animals. *J. anim. Sci.*, 31, 1970, s. 1118-1126.

WILLIAMS, B. J. — SHIVELY, J. E.: *In vitro* antitreponemal activities of carbadox, virginiamycin, olanquinox and tylosin as indices of their effectiveness for preventing swine dysentery. *Veter. Med. small anim. Clin.*, 73, 1978, s. 349-351.

— Vyhláška federálneho ministerstva zemědělství a výživy ze dne 10. prosince 1987 o zabezpečování nezávadnosti živočišných produktů.

Došlo dňa 13. 4. 1988

ТОКОШОВА, М. (Военный ветеринарный научно-исследовательский и усовершенствования институт, Кошице): Наблюдение за эффектом циадокса и виргиниамицина на ход болезни Марка у цыплят. *Veter. Med. (Praha)*, 35, 1990 (2) : 105-112.

Цыплятам, инфицированным высоковирулентным вирусом болезни Марка в ходе 56-дневного откорма, подавали циадокс в дозе 20 мг. кг⁻¹ комбикорма (группа МС) и виргиниамицин в дозе 10 мг. кг⁻¹ комбикорма (группа МВ). Массовые привесы на 56-й день и убойный выход были в сравнении с контрольной группой (711,11 г и 60,62 %) самыми большими у группы, которой добавляли виргиниамицин. При изучении основного химического состава мяса установили пониженное содержание сухого вещества и белков в группе с добавкой виргиниамицина (26,9 и 22,76 %) в противоположность контрольной группе. Цыплята также инфицированы вирусом болезни Марка. Биометрическим обследованием органов установили статистически значимое понижение массы сердца у группы с добавкой циадокса, повышение массы печени, сердца и сокращение длины кишок у группы с добавкой виргиниамицина в противоположность контрольной группе. Патолого-анатомические изменения, свидетельствующие о болезни Марка установили из случайно выбранного числа цыплят у контрольной группы в 33,3 %, у группы с добавкой циадокса в 28,5 % и у группы с добавкой виргиниамицина в 50,0 %.

цыплята; циадокс; виргиниамицин; болезнь Марка; убойный выход; качество мяса; биометрия органов

TOKOŠOVÁ, M. (Military Veterinary Research and Extension Institute, Košice): *Investigation of the effects of cyadox and virginiamycin on Marek's disease in chickens.* *Veter. Med. (Praha)*, 35, 1990 (2) : 105-112.

Chickens infected with highly virulent Marek's disease virus were administered in the course of 56-day fattening cyadox at a dose of 20 mg per kg feed mixture (MC group) and virginiamycin at a dose of 10 mg per kg feed mixture (MV group). The weight gains on the 56th day and dressing percentage were highest, in comparison with the control group (711.11 g and 60.62 %), in the virginiamycin-treated group. An investigation into the basic chemical composition of meat revealed lower contents of dry matter and proteins in the virginiamycin-treated group (26.9 % and 22.76 %) if compared with the control group of chickens which were also infected with Marek's disease virus. A biometrical examination of the organs showed a statistically significant decrease in heart weight in the cyadox-treated group, increase in liver and heart weight and intestine shortening in the virginiamycin-treated group, in comparison with the control group. Pathologico-anatomical changes typical of Marek's disease were recorded in a randomly selected number of chickens in 33.3 % in the control group, in 28.5 % in the cyadox-treated group and in 50.0 % in the virginiamycin-treated group.

chickens; cyadox; virginiamycin; Marek's disease; dressing percentage; meat quality; organ biometry

Adresa autorky:

MVDr. Mária Tokošová, CSc., Vojenský veterinárny doškoľovací výskumný ústav, pošt. priečinok B-35, 041 15 Košice

RYCHLÝ A JEDNODUCHÝ POSTUP PRO RADIOIMUNOCHEMICKÉ STANOVENÍ AFLATOXINU B₁ V OBI LNINÁCH A KRMIVECH S KOMERČNÍ ANALYTICKOU SOUPRAVOU

L. Fukal

FUKAL, L. (Vysoká škola chemicko-technologická, Praha): *Rychlý a jednoduchý postup pro radioimunochemické stanovení aflatoxinu B₁ v obilninách a krmivech s komerční analytickou soupravou*. Veter. Med. (Praha), 35, 1990 (2) :113-117.

Pro umožnění praktické velkoplošné aplikace radioimunochemické kontroly hladiny kontaminace obilnin a krmiv aflatoxinem B₁ jsme prověřovali nový způsob přípravy extraktu vzorků. Ve srovnání s dosud používaným postupem, při kterém je třeba z chloroformového extraktu odpařit s vodou nemísitelný chloroform a odparek rozpustit v acetonu, se při prověřovaném způsobu extrahuje vzorek metanolem nebo acetonem a tento extrakt se před radioimunoanalýzou pouze ředí puřem. Nový způsob přípravy extraktu vzorku má s původním způsobem srovnatelnou návratnost aflatoxinu B₁ (83—90 % pro koncentrace 2—20 µg.kg⁻¹), horší teoretický detekční limit (1 µg.kg⁻¹ proti 0,2 µg.kg⁻¹), ale výrazněji zabráňuje zkreslování výsledků stanovení interferujícími látkami a značně urychluje a zjednodušuje celou analytickou proceduru. Radioimunochemicky byl aflatoxin kvantifikován pomocí komerčních souprav z ÚRVJT Košice.

aflatoxin B₁; krmivo; obilniny; radioimunoanalýza

V souvislosti s rostoucí pozorností věnovanou cizorodým látkám v krmivech a potravinách rostou i nároky na analytické metody, jimiž se hladiny toxických látek kontrolují. Vedle odpovídající specifiity a citlivosti stanovení je požadována i dostatečná jednoduchost laboratorního provedení metod, která by umožňovala rychlou analýzu velkých sérií vzorků. V případech mnoha analytů, včetně aflatoxinu B₁, sekundárního vysoce toxického a karcinogenního metabolitu plísní *Aspergillus flavus* a *Aspergillus parasiticus*, mohou tento požadavek splňovat imunochemické metody [Fukal a Káš, 1989]. V ČSSR byla pro imunochemické stanovení aflatoxinu B₁ (AFB₁) dostatečně rozpracována radioimunochemická metoda (RIA) s radioligandem ¹²⁵I [Píchová aj., 1981; Ruprich aj., 1986; Fukal aj., 1988 a další] a Ústav radioekologie a využití jaderné techniky v Košicích na tomto principu vyrábí analytickou soupravu pro stanovení AFB₁. Jelikož chloroform je nemísitelný s vodným prostředím v proceduře RIA, je nezbytné při zavedeném způsobu extrakce vzorků chloroformem převést extrahovaný AFB₁ do rozpouštědla mísitelného s vodou. To značně prodlužuje analýzu.

Jedním z kroků usnadňujících velkoplošnou kontrolu dodržování legislativně daných předpisů o nejvyšších přípustných koncentracích AFB₁ v krmivech a potravinách [Anon, 1986, 1987] je zjednodušení a zrych-

lení přípravy extraktu vzorků pro RIA. Proto jsme sledovali možnost přímého použití extraktu vzorku při RIA AFB₁.

MATERIÁL A METODY

Soupravy RIA-test-AFLA B₁ na radioimunologické stanovení aflatoxinu B₁ (AFB₁) byly dodány z Ústavu radioekologie a využití jaderné techniky v Košicích. AFB₁ pro sledování návratnosti ze vzorků při různých způsobech stanovení byl dodán firmou Calbiochem (San Diego, USA). Ostatní chemikálie jsme získali z Lachemy, n. p., Brno.

Vzorky pro sledování návratnosti jsme připravili takto: AFB₁ jsme rozpustili v chloroformu a příslušný objem roztoku jsme přidali ke 100 g vzorku, který AFB₁ neobsahoval. Po odpaření chloroformu jsme takto kontaminovaný vzorek ještě dostatečně promísili. Vzorky přirozeně kontaminované AFB₁ byly vybrány ze vzorků dodaných ze zemědělských podniků.

EXTRAKCE VZORKU

Z rozemletého homogenního vzorku (50 g) byly naváženy 2 g a extrahovány třemi různými způsoby:

— metoda A — extrakce třepáním s 10 ml směsi metanol — voda (7 : 3) po dobu 10 minut. Po filtraci suspenze bylo 0,1 ml filtrátu přidáno k 0,9 ml pufru (v celé práci byl používán veronalový pufr pH 8,6, obsažený v soupravě na RIA AFB₁) a v tomto roztoku byl AFB₁ stanoven metodou RIA;

— metoda B — k extrakci byla použita směs aceton — voda (85 : 15), jinak se vše shodovalo s metodou A;

— metoda C (Anon, 1989) — extrakce třepáním s 25 ml chloroformu po dobu 30 minut. Po filtraci suspenze byl chloroformový extrakt odpařen do sucha a odparek rozpuštěn ve 2 ml acetonu. 0,1 ml acetonového extraktu bylo přidáno k 0,9 ml pufru a v tomto roztoku byl stanoven AFB₁ metodou RIA.

K radioimunochemickému stanovení AFB₁ jsme použili komerční soupravy (Anon, 1989). Králičí antisérum i radioligand [3-(¹²⁵I)tyramid(0-karboxymethyl)oxim aflatoxinu B₁], lyofilizované v 5% hovězím gama-globulinu, jsme ředili pufrém. Do polystyrenových zkumavek bylo pipetováno 0,1 ml pufrového roztoku extraktu nebo standardu AFB₁, 0,1 ml radioligandu a 0,1 ml antiséra. Po protřepání se roztoky ve zkumavkách inkubují 60 minut při teplotě 45 °C a pět minut v ledové lázni. Přidá se 0,5 ml vychlazeného roztoku polyetylen glykolu a bílkovinný precipitát se odstředí (30 minut, 2000 x g). Po odsátí supernatantu se měří radioaktivita precipitátu. Pro každý způsob přípravy extraktů vzorků byly odpovídajícím způsobem upraveny koncentrace organického rozpouštědla v roztoku standardu AFB₁ při sestrojování kalibrační křivky. Kalibrační křivka byla sestrojována pro koncentraci AFB₁ v pufrovém roztoku 0 — 2,5 — 5 — 10 — 20 — 40 — 80 — 160 pg na 0,1 ml. Nespecifická vazba v nepřítomnosti antiséra se pohybovala v rozmezí 7 až 10 %, specifická vazba v nepřítomnosti AFB₁ 34 až 42 %. Formální práh detekce byl okolo 2 pg na 0,1 ml, 50% intercept byl okolo 35 pg na 0,1 ml.

Vliv interferujících látek z analyzovaných typů vzorků na RIA stanovení AFB₁ jsme testovali porovnáním kalibrační křivky bez přidavku extraktu vzorku a křivky sestrojené se standardy AFB₁ za přidavku různě ředěného extraktu vzorku (aliquot vzorku 1 — 2 — 5 — 20 mg na 0,1 ml), který neobsahoval AFB₁ (Ram aj., 1986).

VÝSLEDKY A DISKUSE

Byla ověřena jednoduchá a rychlá příprava extraktů vzorků krmiv a obilnin pro radioimunochemické stanovení (RIA) aflatoxinu B₁ (AFB₁) v obilninách a v krmných směsích. Extrakce metanolem (metoda A) a acetonem (metoda B) byla porovnávána s metodou extrakce chloroformem (metoda C). Návratnost AFB₁ přidaného ke vzorkům byla sledována při všech třech metodách extrakce a shodné kvantifikaci pro-

I. Návratnost aflatoxinu B₁ ze vzorků při radioimunochemickém stanovení (průměr ze tří stanovení) — The recovery of aflatoxin B₁ from samples in the course of a radioimmunochemical assay (the average values of three replications)

Typ vzorku	Přidaný AFB ₁ [μg.kg ⁻¹]	AFB ₁ (% přidaného) stanovený metodou		
		A	B	C
Pšenice	5,0	88	90	86
Krmná směs pro brojery	2,0	85	85	115
dojnice	10,0	83	88	81
prasata	20,0	87	89	78

střednictvím RIA (tab. I). Zjištěné hodnoty ukazují vysokou účinnost extrakce. Při nízké koncentraci AFB₁ se u metody C zřejmě projevuje falešně pozitivní vliv interferujících látek v důsledku vysoké koncentrace extraktu vnášeného do RIA [návratnost AFB₁ — 100 %]. Testováním účinku matrice vzorků na radioimunochemické stanovení AFB₁ bylo zjištěno, že v rozsahu kalibrační křivky dochází k signifikantním interferencím v oblasti nižších koncentrací AFB₁, jestliže množství extraktu vnášeného do RIA převyšuje alikvot 2 mg vzorku. A právě v metodě C je do RIA vnášen extrakt odpovídající 10 mg vzorku, zatímco u metod A a B to jsou 2 mg. Teoretický detekční limit pro metody A a B je 1 μg AFB₁. kg⁻¹, ale ředěním extraktu je téměř vyloučeno ovlivnění výsledků účinkem matrice vzorku. Metoda C má teoretický detekční limit 0,2 μg AFB₁. kg⁻¹, ale výsledky v oblasti nízkých koncentrací mohou být zatíženy falešně pozitivním zvýšením hodnot až o +1 μg.kg⁻¹.

Při stanovení AFB₁ v přirozeně kontaminovaných vzorcích (tab. II) se výsledky získané testovanými metodami velice dobře shodují především u vzorků s vyššími koncentracemi toxinu. U vzorků č. 4 a 5 si vyšší hodnoty koncentrací AFB₁ naměřených metodou C ve srovnání s meto-

II. Stanovení aflatoxinu B₁ [μg.kg⁻¹] v přirozeně kontaminovaných vzorcích radioimunochemickou metodou po různých způsobech přípravy extraktu — Detection of aflatoxin B₁ [μg per kg] in naturally contaminated samples by means of a radioimmunochemical assay following different methods of extract preparation

Vzorek	Vzorek		
	A (metanol)	B (acetón)	C (chloroform)
Pšenice	6,8 ± 0,8	6,5 ± 0,9	7,3 ± 1,2
Ječmen	10,6 ± 1,4	10,9 ± 1,7	9,6 ± 1,6
Krmná směs pro brojery I	18,3 ± 2,1	17,0 ± 1,6	15,8 ± 1,9
II	2,9 ± 0,3	2,8 ± 0,3	3,6 ± 0,4
III	ND	ND	0,8 ± 0,2
Krmná směs pro prasata	26,2 ± 3,0	24,0 ± 2,8	21,8 ± 3,4
Krmná směs pro dojnice	17,4 ± 2,1	18,1 ± 1,4	15,3 ± 2,3

(ND = aflatoxin nezjištěn)

dami A a B vysvětluje účinkem interferujících látek z matrice vzorku. Reálná existence těchto látek byla dokázána dříve [Fukal aj., 1987, 1988].

Hlavní předností metod A a B je ovšem jednoduchost a rychlost přípravy extraktů. Při extrakci vzorků s rozpouštědlem mísitelným s vodou (metanol, aceton) lze radioimunochemicky stanovit AFB₁ přímo v ředěném extraktu, zatímco po extrakci chloroformem (metoda C) je nutné extrakční rozpouštědlo odpařit a odparek rozpustit v rozpouštědle mísitelném s vodou. Odpařování chloroformu je při analýze série vzorků vážným technickým i časovým problémem, a kromě toho může způsobovat určité potíže i následné rozpouštění odparku. Kompletní stanovení AFB₁ ve 20 vzorcích krmiv metodou A nebo B od odběru vzorku až po změření radioaktivity a výpočet koncentrace netrvá jednomu pracovníkovi déle než čtyři hodiny. Tato skutečnost je důležitá především pro pracoviště, která rutinně kontrolují velké série vzorků, zda vyhovují veterinárním či hygienickým předpisům.

Literatura

ANON: Nejvyšší přípustné množství cizorodých látek znečišťujících v poživatinách. Část druhá — Mykotoxiny. Hygienické předpisy, svazek 61/1986, č. 69, ministerstvo zdravotnictví ČSR, příloha č. 2. Praha, Avicenum 1986. 21 s.

ANON: Nejvyšší přípustná množství cizorodých látek v krmivech. Příloha k vyhláše federálního ministerstva zemědělství a výživy ze dne 9. prosince 1987 o péči o zdraví zvířat. Sbírka zákonů ČSSR, 117/1987, částka 25, s. 618-622.

ANON: Návod na použití supravý RIA-test-AFLA B₁. Košice, ÚRVJT 1989. 10 s.

FUKAL, L. — KÁŠ, J.: The advantage of the immunoassay use in food analysis. Trends anal. Chem., 8, 1989, s. 71-75.

FUKAL, L. — REISNEROVÁ, H. — RAUCH, P.: Applications of radioimmunoassay with 125-iodine for determination of aflatoxin B₁ in foods. Sci. Aliments, 8, 1988, s. 397-403.

FUKAL, L. — SOVA, Z. — REISNEROVÁ, H. — RAUCH, P.: Problematika interferencí při radioimunochemickém stanovení aflatoxinu B₁ v biologickém materiálu. Biol. chem. Vet. (Praha), 23, 1987, s. 557-564.

PÍCHOVÁ, D. — PÍCHA, J. — VEREŠ, K. — DOLEŽALOVÁ, V.: Stanovení aflatoxinu B₁ v krmivech a biologickém materiálu RIA postupem pomocí vlastních specifických protilátek a ligandu ¹²⁵I pro potřeby živočišné výroby. [Výzkumná zpráva.] Praha, Výzkumný ústav živočišné výroby 1981. 26 s.

RAM, B. P. — HART, L. P. — SHOTWELL, O. L. — PESTKA, J. J.: Enzyme-linked immunosorbent assay of aflatoxin B₁ in naturally contaminated corn and cottonseed. J. Assoc. off. analyt. Chem., 69, 1986, s. 904-907.

RUPRICH, J. — PISKAČ, A. — VEREŠ, K.: Radioimunologické stanovení aflatoxinů: metodika stanovení, interferující látky. Českoslov. Hyg., 31, 1986, s. 288-295.

Došlo dne 8. 2. 1989

ФУКАЛ, Л. (Химико-технологический институт, Прага): Быстрый и простой ход для радиоиммунохимического определения афлатоксина B₁ в зерновых и кормах коммерческой аналитической единицей. Veter. Med. (Praha), 35, 1990 (2) : 113-117.

Для разрешения практического применения на больших площадях радиоиммунохимического контроля уровня загрязнения зерновых хлебов и кормов афлатоксином B₁ проверяли новый способ подготовки экстракта образцов. В сравнении с до сих пор используемым ходом, при котором необходимо из хлороформового экстракта водой упарить несмешиваемый хлороформ и сухой остаток растворить в ацетоне, при проверяемом способе экстрагируется образец метанолом или ацетоном и данный экстракт до радиоиммуноанализа только разбавляется буфером. Новый способ подготовки экстракта образца имеет с первичным ходом сравнительную возвратность афлатоксина

B₁ (83—90 % для концентрации 2—20 $\mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$), худший теоретический предел определения (1 $\mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$ в противоположность 0,2 $\mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$), но более отчетливо устраняет искажение результатов определения interfering веществами и значительно ускоряет и упрощает всю аналитическую процедуру. Радиоиммунохимически афлатоксин был количественно определен при помощи коммерческих единиц из ИРИИЯТ Кошице.

афлатоксин B₁; корм; зерновые хлеба; радиоиммуноанализ

FUKAL, L. (Institute of Chemical Technology, Praha): *An expeditious and simple method of radioimmunochemical assays of aflatoxin B₁ in cereals and feeds using a commercially produced analytical kit.* Veter. Med. (Praha), 35, (2): 113-117.

In order to facilitate a practical large-scale introduction of the radioimmunochemical control of aflatoxin B₁ contamination in cereals and feeds a new method of the preparation of sample extracts was verified. In comparison with the procedure used until now when water-nonmiscible chloroform must be evaporated from a chloroform extract and the solids must be dissolved in acetone, while using the tested method the sample is extracted by methyl alcohol or acetone and the extract is diluted by a buffer before the radioimmunoanalysis. This new method of sample extract preparation displays aflatoxin B₁ recovery comparable to that of the older method (83—90 % for concentrations of 2—20 μg per kg), the worse theoretical detection limit (1 μg per kg vs. 0.2 μg per kg) but it prevents the result distortion by interfering substances and it makes the whole analytical procedure simpler and expeditious. Radioimmunochemically aflatoxin was quantified by means of commercially produced analytical kits developed in one institute at Košice.

aflatoxin B₁; feed; cereals; radioimmunoanalysis

FUKAL, L. (Hochschule für Chemie und Technologie, Praha): *Ein schnelles und einfaches Verfahren zur radioimmunochemischen Bestimmung des B₁ Aflatoxins in Getreidearten und Futtermitteln mit Hilfe einer analytischen Handelsgarnitur.* Veter. Med. (Praha), 35, 1990 (2): 113-117.

Zwecks Ermöglichung einer praktischen Grossflächenapplikation der radioimmunochemischen Kontrolle des Niveaus der Kontamination der Getreidearten und Futtermittel durch Aflatoxin B₁ überprüfen wir ein neues Verfahren zur Vorbereitung der Probenextrakte. Im Vergleich zu dem bisher angewendeten Verfahren, bei dem aus dem Chloroformextrakt das mit Wasser unmischnbare Chloroform abgedampft und der Abdampfdruckstand im Azeton aufgelöst werden muss, wird bei dem getesteten Verfahren die Probe mit Methanol oder Azeton extrahiert und der Extrakt vor der Radioimmunoanalyse mit Puffer verdünnt. Die neue Methode zur Vorbereitung des Probenextraktes weist mit der ursprünglichen Methode eine vergleichbare Rückgewinnung von Aflatoxin B₁ (83—90 % für eine Konzentration von 2—20 $\mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$), ein schlechteres theoretisches Detektionslimit (1 $\mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$ im Vergleich zu 0,2 $\mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$) auf, aber sie verhindert hingegen bedeutender die Entstellung der Ergebnisse der Bestimmung mit interfering Stoffen und beschleunigt bedeutend und vereinfacht gleichzeitig die gesamte analytische Prozedur. Radioimmunochemisch wurde Aflatoxin mit Hilfe von analytischen Handelsgarnituren des Institutes ÚRVJT Košice quantifiziert.

Aflatoxin B₁; Futtermittel; Getreidearten; Radioimmunoanalyse

Adresa autora:

Ing. Ladislav Fukal, CSc., Vysoká škola chemicko-technologická, Suchbátarova 5, 166 28 Praha 6

Upozorňujeme čtenáře, že číslo 3/90 časopisu

VETERINÁRNÍ MEDICÍNA

je zaměřeno na zdravotní stav mléčné žlázy dojníc a kvalitu mléka a má obsahovat tyto příspěvky:

- M. Zitrický, M. Vasil, M. Skok: Využitie komplexných diagnostických signálov pri testácii dojacích zariadení s dopadom na kvalitu mlieka
- I. Beseda, B. Ďurišová, J. Sokol, P. Polahár, J. Válka, P. Stanko: Vzťahy medzi ukazovateľmi profilového testu dojnic pri syndróme zvýšenej alkality mlieka
- D. Ryšánek: Algoritmy vyhodnocování elektrické konduktivity mléka pro screening mastitid
- M. Vasil, F. Federič: Využitie semisyntetických penicilínov pri liečbe infekčných mastitíd dojnic v zasušení
- Holec: Vliv kysacích mlékárenských technologií na hygienicky významnou kontaminující mikroflóru
- C. Grieger, D. Badidová, E. Bednarčíková, O. Burdová: Detekcia stafylokokových enterotoxínov v mlieku a v mliečnych výrobkoch
- I. Breyl, R. Nádashay: Reziduá chlórovaných uhľovodíkov a polychlórovaných bifenylov (PCB) v mlieku a mliečnych výrobkoch
- J. Lukášová: Antibakteriální aktivita bakterií mléčného kysání

PROCHÁZKA, H. — BRUNCLÍK, T. — JANDL, J. — JIRÁSEK, V. — NOVOSAD, J. — HAMPL, J. (Výzkumný ústav veterinárního lékařství, Brno): *Přechody cesia v krátkých potravních řetězcích*. Veter. Med. (Praha), 35, 1990 (2) : 119-128.

Z vyšetření 25 000 vzorků potravin a krmiv v ČSSR kontaminovaných cesiem ze spadu po havárii jaderné elektrárny v Černobylu v období od 5. 5. 1986 do 31. 3. 1988 bylo zjištěno, že hodnoty transferfaktorů pro cesium v přechodech potrava — živočišná tkáň — mléko, stejně jako hodnoty biologického poločasu pro cesium, jsou funkcí vnitřních a vnějších podmínek kontaminace. Individualita organismu jako vnitřní podmínka podmiňuje rozptyl $\pm 50\%$ od střední hodnoty příslušného transferfaktoru. Vnějšími podmínkami — zejména úrovní kontaminace prostředí, typem přijímané potravy a dobou ingesce — jsou střední hodnoty transferfaktorů ovlivněny až o 500%, tj. až k hodnotě 0,5, přičemž s rostoucí kontaminací prostředí a potravy konvergují hodnoty transferfaktoru potrava — tkáň k limitě 0,3. První dva až tři biologické poločasy po ukončení ingesce kontaminované potravy jsou až desetkrát kratší než poločasy v ustáleném stavu.

transferfaktory; přechod potrava — živočišná tkáň; přechod potrava — mléko; biologický poločas cesia; ovlivnění přechodových dějů

Radionuklidy, které mohou pro svou chemickou příbuznost substituuovat biogenní a stopové prvky v metabolismu živých organismů, přecházejí z kontaminovaného životního prostředí do potravních řetězců a do organismu. Při ingesci představují nejvyšší riziko radionuklidy cesia, jódu a stroncia zastupující kalium, stabilní jód a vápník. Spolu s těmito stabilními prvky se vstřebávají z gastrointestinálního traktu, účastní se metabolismu a ukládají se v tkáních na určitou dobu, definovanou biologickým poločasem. Z organismu se vylučují tělními tekutinami — zejména močí a mlékem.

Významně nižší riziko představují ostatní radionuklidy nebiogenní povahy, protože míra jejich vstřebávání z trávicího traktu je nízká. Vylučují se spolu s tuhými exkrekty řádově v jednotkách dnů kvantitativně z organismu (Procházka aj., 1983). Problematicky rizikové jsou radionuklidy, které mohou zastoupit stopové prvky (např. řada aktivovaných korozních produktů), dále většina transuranů pro jejich toxicitu rutenium pro nestálost chemické formy. V této práci je hlavní pozornost věnována cesiu, protože četností výskytu, dlouhým fyzikálním poločasem, substitucí za biogenní kalium a emisí poměrně tvrdého záření gama představuje po haváriích jaderných reaktorů nejvyšší riziko pro živé organismy. Přechod radionuklidu mezi dvěma články potravního řetězce se vyjadřuje relativním přechodovým faktorem TF_{xy} , definovaným jako poměr měrných aktivit článku následujícího k článku předcházející-

címu. Podle posledních poznatků a zkušeností (Procházka aj., 1988) nelze přechodové faktory chápat jako konstanty. Jsou funkcí vnitřních i vnějších podmínek, za kterých k přechodu radionuklidu do organismu dochází. Významu těchto podmínek bylo dosud věnováno málo pozornosti, protože hodnoty transferfaktorů byly vesměs odvozeny z modelových pokusů při statisticky nevýznamných počtech sledovaných objektů. Příležitost k reálnému a statisticky hodnotitelnému sledování uvedených jevů poskytla až eliminace následků nadprojektové havárie jaderné elektrárny v Černobylu.

Dále uváděné poznatky byly odvozeny z výsledků více než 25 000 vyšetření obsažených spolu se základními anamnestickými údaji v databázi referenční laboratoře monitorovacího systému FMZVŽ ČSSR.

Hlavní pozornost při vyšetřování i při další práci byla věnována přechodům potrava — zvíře — živočišné produkty. Ostatní přechody byly z kapacitních důvodů vyšetřovány jen doplňkově.

MATERIÁL A METODY

Při vlastním vyšetřování byly vzorky o hmotnosti asi 250 g odebírány v terénu pracovníky Státní veterinární služby, odesílány přímo do laboratoří, homogenizovány krájením a za konstatních podmínek vyšetřeny v prvním vyšetřovacím stupni, při které byla měření ve velkoobjemovém studnovém detektoru NaI/Tl 160 X 120 mm s průměrem studny 60 mm získána základní informace o jejich kontaminaci. Kontaminované vzorky pak byly ve druhém stupni vyšetřovány gamaspektrometricky na čele detektoru HPGe, resp. Ge/Li, spojeného s 8000kanálovým analyzátozem Canberra 8063, resp. Canberra 35 plus.

Vhodný způsob kalibrace měřicích přístrojů zajišťoval kompaktnost měření v obou stupních. Pro další využití byly výsledky spolu s údaji o původu a vlastnostech vzorku podle příslušných klíčových slov ukládány do databáze. K tomu bylo vyvinuto příslušné programové vybavení (Procházka aj., 1987). 68 % všech vzorků bylo vyšetřeno přímo v referenční laboratoři resortu ve VÚVeL Brno, zbývající vzorky v laboratoři Státní veterinární služby v Přerově a v Praze.

VNITŘNÍ PODMÍNKY PŘECHODOVÝCH DĚJŮ

Vnitřní podmínky zahrnují všechny vlivy vyplývající z individuality vyšetřovaného organismu. Jde zejména o aktuální fyziologický, resp. zdravotní stav vyšetřovaného jedince a o individuální specifitu jeho metabolismu. Tyto podmínky významně ovlivňují jak vstřebávání radionuklidu z trávicího traktu, tak jeho depozici v tkáních a jeho postupné vylučování z organismu. Z hlediska kvantity jsme opakovaně zjišťovali při srovnatelných vnějších podmínkách hodnoty přechodového faktoru potrava — organismus s rozptylem až $\pm 50\%$ při zachování normálního rozdělení.

I. Relativní směrodatné odchylky transferfaktorů [%] — Relative standard deviations of transfer-factors [%]

Přechod	%
Potrava — hovězí maso (dojnice)	44
Potrava — hovězí maso (žirní býci)	38
Potrava — hovězí játra	58
Potrava — hovězí ledviny	49
Potrava — mléko kravské	32
Potrava — králíčí maso	31

Uvedený rozptyl dokumentují vysoké hodnoty směrodatných odchylek jednotlivých transferfaktorů pro přechody potrava — tkáň, resp. potrava — mléko, vyjádřené v procentech v tab. I. Výrazná nehomogenita kontaminace prostředí suchým spadem vytvořila reálné podmínky i pro sledování dynamiky přechodových dějů. Na rozdíl od uvedeného rozptylu transferfaktorů probíhají přechodové děje v čase srovnatelně a vnitřními podmínkami jsou ovlivňovány minimálně. První odezva na podání kontaminované potravy se projevuje u monogastrů i polygastrů depozicí cesia ve tkáních do 24 hodin. Při dlouhodobém podávání této potravy se rovnováha mezi vstřebáváním z trávicího traktu, depozicí ve tkáních a vylučováním cesia z organismu ledvinami ustaví do 20 dnů.

Po skončení podávání kontaminované potravy dochází k rychlému poklesu na 50 % deponovaných měrných aktivit v prvních 10 ± 2 dnech, pak se vylučování zpomaluje a ve třetím a dalších poločasech se již blíží udávané střední hodnotě 70 dnů. Z toho vyplývá, že pro biologický poločas je podstatné, o který poločas jde, a že ani jeho hodnota není konstantou. O rychlosti první fáze vylučování svědčí i odezva v mléce na změny aktivity v krmivu: střední měrná aktivita cesia v mléce sleduje změny aktivity cesia v krmivu s prodlevou 42 ± 6 hodin. Ve tkáních — s ohledem na pomalejší dynamiku — podobně rychlou odezvu prokázat nelze.

VNĚJŠÍ PODMÍNKY PŘECHODOVÝCH DĚJŮ

Vnější podmínky je vhodné posuzovat odděleně pro okrajové články potravních řetězců (zejména pro přechod půda — rostliny) a pro ostatní články, resp. přechody. Přechodem mezi půdou a rostlinou se v minulosti zabývalo více autorů. Jejich výsledky v poslední době přehledně shrnuli zejména Haunold aj. (1987) a Bunzl (1987) takto: existuje vzájemná interakce jednak mezi kořenovým systémem rostlin a půdou na jejím stanovišti, jednak mezi nadzemní částí rostliny, která je přímo kontaminovaná spadem, a jejími depotními orgány, kořeny a půdou. Tyto vztahy jsou dále ovlivňovány vazbou radionuklidů na půdní komponenty, hloubkou uložení kořenového systému a vývojovou fází rostliny v době spadu.

Uvedené souvislosti a vztahy se projevily i při kontaminaci rostlin po černobylské havárii:

- hluboce kořenicí vojtěška již téměř nebyla ve druhé generaci po spadu kontaminovaná ve srovnání s trávou, lesním bylinným patrem a letními plodinami, které vešměs koření v povrchové vrstvě půdy;

- u ozimů se v roce 1986 zjišťovala až o 100 % vyšší kontaminace slámy a zrna než u jařin;

- pozdní ovoce (jablka, hrušky) bylo kontaminováno jen nevýznamně proti letnímu ovoci, zejména rybíz;

- v jarním medu byla koncentrace radionuklidů v průměru dvakrát vyšší než v pozdním medu atd.

V podstatě se potvrdily i publikované hodnoty přenosových faktorů mezi půdou a rostlinou. Do určité míry bylo nutné jen doplnit představy o vertikálním průniku cesia půdou; na neobdělávaných půdách, zejména v horských oblastech, je průniková rychlost pomalejší, řádově v milimetrech za rok. Ještě na jaře roku 1988 byla většina cesia ze spadu v roce 1986 v půdní vrstvě 0 až 5 cm.

K tomu byly zjištěny i další doplňující informace:

- aktivita cesia v jehličí je řádově 10^2 až 10^5 Bq.kg⁻¹, je srovnatelná s aktivitou trávy na neobdělávaných horských loukách a přetrvává po dobu několika let;

- aktivita cesia v houbách a lišejnících je řádově 10^2 až 10^4 Bq.kg⁻¹, řádově je srovnatelná s aktivitou půdy a potvrzuje schopnost třídy *Fungi* koncentrovat některé prvky.

Tyto skutečnosti významně ovlivňují kontaminaci krmiva pro volně žijící zvěř.

VÝSLEDKY

Při kontrole potravin jsme věnovali hlavní pozornost přechodům krmivo — živočišná tkáň a krmivo — mléko. Hlavní kontaminovanou složkou krmiva v roce 1986 bylo zelené objemové krmivo, později pak seno, senáž a sekundárně mléko a mléčné produkty.

II. Průměrná kontaminace hovězího masa v ČSR cesiem (r. 1986) [Bq Cs . kg⁻¹] — Average cesium contamination of beef in the Czech Socialist Republic (1986) [Bq Cs . kg⁻¹]

Měsíce	5	6	7	8	9	10	11	12
Krávy	102	121	126	39	18	15	27	31
Býci	46	63	70	32	32	21	16	14

III. Časový rozvoj kontaminace hovězího a telecího masa [Bq Cs . kg⁻¹] — průměrné hodnoty v ČSR — Time development of beef and veal contamination [Bq Cs . kg⁻¹] — average values in the Czech Socialist Republic

Měsíce	5/86	7	9	11	12		6/87
Krávy	102	126	18	27	31		18
Telata	60	98	117	144	100		72

IV. Vliv podávání kontaminovaného zeleného krmení na kontaminaci hovězího masa v první fázi po havárii [Bq Cs . kg⁻¹] — The influence of administration of contaminated green feed on beef contamination in the first stage after the accident [Bq Cs . kg⁻¹]

Měsíce	5/86	7	9	11	1/87	3	5
Krávy JmK	30	34	14	35	43	24	26
Krávy SČK	122	55	39	41	47	29	23

V československém systému velkochovů byl tedy riziku vystaven pouze skot a v zanedbatelné míře vepři při krmování syrovátkou nebo odstředěným mlékem. Ostatní hospodářská zvířata, kterým se podávají krmné směsi, významně kontaminována nebyla.

Míra kontaminace u skotu byla zhruba úměrná podílu objemového krmiva v denní dávce: nejvíce byly postiženy pasené dojnice, nejméně žirní býci (tab. II v Bq Cs . kg⁻¹). Z toho je zřejmý i časový rozvoj kontaminace v roce 1986: zvýšení hladiny cesia ve tkáních v květnu až červenci odpovídá přímo spadem kontaminovanému zelenému krmivu — snížení (v srpnu — říjnu) při krmení zeleným krmivem z rostlin po první seči — další zvýšení po zkrmování sena v zimě. U telat s mléčnou výživou se hladina cesia v mase zvyšovala pomaleji, zvýšené hodnoty však vzhledem ke kontaminaci mléka dlouho přetrvávaly a byly v čase vyrovnané. Srovnání vyplývá z tab. III.

Kladný vliv na snížení kontaminace hovězího masa a mléka mělo doporučení omezit zelené krmení a využívat konzervovaná statková krmiva (seno, siláž, senáž z roku 1985), realizované zejména v Jihomoravském kraji (JmK) v květnu až červenci 1986. Vliv tohoto faktoru je porovnán u dojnic ze Severočeského kraje (SČK), ve kterém toto doporučení téměř nebylo realizováno (tab. IV).

Analogické poznatky vyplynuly i ze sledování kontaminace mléka. V prvních čtyřech až šesti týdnech po zamoření prostředí spadem se vý-

Datum kontroly	Kontaminace v procentech			
	0–20	20–40	40–60	60 a více (v Bq Cs.kg ⁻¹)
3. 6. 1986	28	43	16	13
16. 2. 1987	59	24	11	6
6. 5. 1987	67	26	4	3
20. 11. 1987	98	2	—	—
12. 4. 1988	99,3	0,7	—	—

razně — na rozdíl od masa — projevuje kontaminace mléka jódem. Mléčnou žlázou se vylučuje 20 až 50 % jódu přijímaného potravou, takže omezení zeleného krmení má na koncentraci jódu v mléce podstatný vliv. Koncentrace cesia v mléce se postupně zvyšuje v průběhu prvních dvou až tří týdnů po kontaminaci prostředí. Pak se přechodně ustavuje rovnováha mezi jeho příjmem potravou, depozicí ve tkáních a vylučováním mléčnou žlázou, resp. močí.

V ustáleném stavu je měrná aktivita cesia v mléce v průměru desetkrát nižší než v potravě a její změny se projevují s prodlevou zhruba 48 hodin. Vlivy uvedených faktorů lze demonstrovat na výsledcích systematického vyšetřování 148 bazénových vzorků mléka dodávaného k výrobě dětské a kojenecké výživy do mlékárny v Zábřehu na Moravě v okrese Šumperk. Severní, silně kontaminovaná část tohoto okresu zasahuje do pohoří Jeseníků, jižní část do úrodné nížiny. Maximální zjištěná hodnota měrné aktivity cesia v dodávaném mléce byla 240 Bq Cs.kg⁻¹ mléka, procentuální zastoupení bazénů podle měrné aktivity je v závislosti na čase vyjádřeno v tab. V. Podle kontaminace prostředí, krmiva a podle možnosti jeho využití lze rozlišit čtyři základní typy bazénových vzorků. Doba kontrol byla volena v souladu se změnami typu krmení léto — zima.

U typů I a II šlo o plošnou kontaminaci prostředí vyšší než 10 kBq Cs.m⁻², v typu I byly krávy paseny, v typu II byla naopak z počátku využívána konzervovaná statková krmiva. U typu III šlo o střední kontaminaci prostředí do 10 kBq Cs.m⁻² a běžný stájový provoz, u typu IV o nízkou kontaminaci prostředí zhruba do 2 až 3 kBq Cs.m⁻². Časový rozvoj je patrný z tab. VI, hodnoty jsou Bq (Cs) na litr syrového mléka.

Z výsledků v databázi bylo možné stanovit přechodové faktory krmivo — hovězí maso, resp. krmivo — mléko při nižší a vyšší kontaminaci prostředí (do 5, resp. 10 kBq Cs.m⁻²) pro hospodářská zvířata krmená směšnou, tj. kontaminovanou i nekontaminovanou potravou. V tab. VII je uvedena střední plošná aktivita cesia v prostředí (SPA), střední měrná aktivita cesia v objemovém krmivu (SMA), přechodový faktor krmivo — maso dojníc (TF_{PD}) při 40 až 70 % objemového krmiva v denní dávce, přechodový faktor krmivo — maso býků (TF_{PB}) při 20 až 40 % objemového krmiva v denní dávce a přechodový faktor krmivo — mléko (TF_{PM}) u těchto dojníc.

VI. Časový rozvoj kontaminace mléka [Bq.l^{-1}] v popsaných typech — Time development of milk contamination [Bq.l^{-1}] in described types

Typ	Kontrola				
	6/86	2/87	5/87	11/87	4/88
I.	240	153	60	21	36
II.	90	92	51	12	13
III.	80	33	33	6	4
IV.	20	14	4	5	4

VII. Přechodové faktory (TF) potrava — hovězí maso, resp. mléko — Transition factors (TF) food-beef, or milk

SPA (kBq Cs.m^{-2})	SMA (Bq Cs.kg^{-1})	TF_{PD}	TF_{PB}	TF_{PM}
$3,64 \pm 2,38$	291 ± 122	0,095	0,102	0,071
$7,41 \pm 4,54$	599 ± 248	0,184	0,088	0,151

VIII. Hodnoty transferfaktoru krmivo — zvěřina (TF_{PZ}) v roce 1986 — Values of feed-venison transfer-factor (TF_{PZ}) in 1986

SPA (kBq Cs.m^{-2})	Srnci 1986		Jeleni 1986	
	SMA _Z	TF_{PZ}	SMA _Z	TF_{PZ}
	(Bq Cs.kg ⁻¹)			
do 2,5	122 ± 38	$0,49 \pm 0,05$	170 ± 28	$0,68 \pm 0,04$
do 5,0	215 ± 30	$0,43 \pm 0,05$	300 ± 70	$0,60 \pm 0,14$
do 10,0	310 ± 100	$0,31 \pm 0,10$	420 ± 110	$0,42 \pm 0,11$
do 20,0	600 ± 100	$0,30 \pm 0,05$	660 ± 320	$0,34 \pm 0,12$

IX. Hodnoty transferfaktoru krmivo — zvěřina (TF_{PZ}) v roce 1987 — Values of feed-venison transfer-factor (TF_{PZ}) in 1987

SPA (kBq Cs.m^{-2})	Srnci 1987		Jeleni 1987	
	SMA _Z	TF_{PZ}	SMA _Z	TF_{PZ}
	(Bq Cs.kg ⁻¹)			
do 2,5	80 ± 20	$0,32 \pm 0,08$	90 ± 13	$0,40 \pm 0,05$
do 5,0	90 ± 15	$0,29 \pm 0,08$	185 ± 70	$0,34 \pm 0,14$
do 10,0	190 ± 40	$0,18 \pm 0,04$	320 ± 150	$0,31 \pm 0,15$
do 20,0	380 ± 20	$0,19 \pm 0,01$	640 ± 320	$0,32 \pm 0,16$

Rezidua cesia v tkáních volně žijící zvěře byla na rozdíl od hospodářských zvířat významně vyšší a přetrvávala po dlouhou dobu. Proto bylo zavedeno vyšetřování každého uloveného kusu. Pro kontaminaci jednotlivých druhů zvěře platila — úměrně ke kontaminaci dané lokality — nerovnost:

jeleni > srnci, daňci > mufloni > černá zvěř > zajíci

Uspokojivé vysvětlení těchto rozdílů dovolilo až zavedení obecných a druhově specifických kritérií (K r a t o c h v í l, 1966; L o c h m a n, 1985; F o r e j t e k, 1987 — osobní sdělení; K u b í č e k, 1987 — osobní sdělení):

- volně žijící zvěř je vesměs odkázána jen na potravu kontaminovanou přímo spadem, nebo rostoucí převážně na neobdělávaných kontaminovaných půdách;

- jeleni v horských oblastech v létě preferují pastvu (tráva a lesní bylinné patro), v zimě doplňují nedostatek objemových krmiv okusem jehličí;

- jeleni v nižších oblastech se živí převážně listím a plody stromů a keřů, jen doplňkově pastvou;

- srnci a daňci dávají přednost bylinné potravě, listí a polním kulturám;

- černá zvěř je všežravá a monogastrická, živí se podzemními i nadzemními částmi rostlin, různými plody a drobnými zvířaty;

- zajíci, býložraví monogastři, preferují šťavnaté plodiny a polní kultury;

- průnik cesia neobdělávanou půdou je velmi pomalý (řádově v mm za rok), kontaminace lučních rostlin a lesních bylin přetrvává déle než se očekávalo a kontaminace horských oblastí je vesměs vyšší než kontaminace území ve středních a nízkých polohách.

Při odhadu střední měrné aktivity cesia v průměrném krmivu volně žijící zvěře lze v prvním přiblížení vycházet z těchto předpokladů:

- po kontaminaci prostředí spadem je kontaminace nadzemních částí rostlin srovnatelná s kontaminací povrchové vrstvy půdy až do konce kritického vegetačního období,

- ve druhém a několika dalších vegetačních údobích je kontaminace listů a plodů keřů i stromů stejně jako kontaminace polních kultur až o dva řády nižší, zatímco kontaminace trávy, převážné části lesního bylinného patra a jehličí, zůstává na neobdělávaných půdách (zejména v horských oblastech) řádově srovnatelná s kontaminací povrchové vrstvy neobdělávané půdy.

Při splnění statistických předpokladů (řádově 10^2 — 10^3 zvířat v každé skupině) byla hodnocena lovná sezóna roku 1986, kdy zvířata měla k dispozici jen kontaminovanou potravu. U jelení i srncí zvěře byly pro přechod krmivo — zvěřina vesměs zjištěny vysoké hodnoty přechodových faktorů TF_{PZ} (střední měrná aktivita zvěřiny — SMA_z — v Bq (Cs) na kilogram) při všech úrovních plošného zamoření (SPA), jak svědčí tab. VIII.

Za týchž podmínek a kritérií byl hodnocen i rok 1987: u srnců a jelenů z nížin svědčí výsledky o zvýšeném podílu nezamořeného krmí-

va, zatímco kontaminované krmivo pro jeleny z hor zůstalo srovnatelné s rokem 1986.

Předběžné výsledky vyšetření v lovné sezóně 1988/1989 tyto poznatky dále potvrzují.

DISKUSE

Při dlouhodobém příjmu kontaminovaného krmiva se tedy několika násobně zvyšují hodnoty přechodových faktorů krmivo — organismus ve srovnání s hodnotami při příjmu smíšeného krmiva. Pod pojmem kontaminované krmivo rozumíme jeho podíl $90 \pm 10\%$ z celkové denní dávky. Jestliže se podíl v denní dávce sníží pod 60 až 70 %, je tento stav patrný jen u velkých souborů, u nichž lze statisticky vyloučit ovlivnění vnitřními podmínkami (tab. VII).

Jak z tabulek vyplývá, je hodnota přechodového faktoru za uvedení podmínek nelineární funkcí střední měrné aktivity cesia v kontaminovaném krmivu a je k ní nepřímo úměrná. Pro střední měrné aktivity krmiva (řádově 10^3 Bq Cs. kg⁻¹ a vyšší), odpovídající střednímu plošnému zamoření (20 kBq Cs. m⁻² a vyššímu), se blíží hodnota TF_{PZ} asymptoticky k hodnotě $0,3 \pm 0,05$. V praxi to znamená, že při vyšších úrovních zamoření prostředí cesiem se při dlouhodobé ingestci kontaminované potravy vstřebává do organismu průměrně jen 30 % cesia obsaženého v potravě.

Teorii nelineární odezvy při ingestci kontaminované potravy odpovídají i poznatky z kontaminace sobů, zjišťované v jižní a střední Skandinávii v letech 1986 a 1987 (Devell aj., 1986; Paakkola, 1987; Skjerve, 1987; zprávy v úředních bulletinech skandinávských států 1986 a 1987). Plošné zamoření mělo zhruba na 40 % území vysoké hodnoty v intervalu 20 až 100 kBq Cs. m⁻². Přitom však střední měrná aktivita cesia v sobím mase byla v 60 % do 1 kBq Cs. kg⁻¹, ve 36 % v intervalu 1 až 10 kBq Cs. kg⁻¹ a pouze 4 % přesahovala hodnoty 10 kBq Cs. kg⁻¹. Analogicky byla v nejpostiženějších moravských okresech Šumperk a Bruntál střední měrná aktivita zvěřiny do 1 kBq Cs. kg⁻¹ u 78 % zvířat a jen ve 22 % v intervalu 1 až 10 kBq Cs. kg⁻¹ při středním plošném zamoření prostředí 17, resp. 12 kBq Cs. m⁻². V souladu s normálním rozdělením jsou i extrémní hodnoty 50, resp. 70 kBq Cs. kg⁻¹ u neaktivnějších sobů a 6 kBq Cs. kg⁻¹ u neaktivnějšího moravského jelena z poleší Hanušovice (okres Šumperk).

Při dlouhodobé ingestci smíšeného krmiva, v němž je zastoupení kontaminované a nekontaminované složky vyrovnané nebo mírně převažuje kontaminovaná složka, jsme zjistili hodnoty přechodového faktoru v intervalu 0,15 až 0,30. Analogicky jako při ingestci vesměs kontaminovaného krmiva se s rostoucí úrovní kontaminace prostředí hodnota transferfaktoru blíží asymptoticky k $0,19 \pm 0,02$. V praxi se podobná situace vyskytla např. u dojnic, v jejichž krmené dávce je základní složkou zelené krmenné nebo seno, a u volně žijící zvěře ve druhé sezóně po kontaminaci prostředí (tab. II, VII, IX). Většinou buď nelze v praxi s dostatečnou přesností určit podíl kontaminované a nekontaminované složky nebo při nižších úrovních zamoření prostředí již dominuje vliv vnitřních podmínek, takže v těchto případech nejsou uvedené vztahy dostatečně průkazné. Pokud v potravě převažuje nekontaminovaná složka, vycházejí hod-

noty přechodového faktoru v intervalu 0,07 až 0,15, jak je běžně udáváno v literatuře.

Uvedené poznatky platí plně pro přežvýkavce, tedy polygastry a býložravce. U monogastrů, býložravců i všežravců lze podle příkladu zájímů a černé zvěře předpokládat, že platí analogické závislosti, ale že přechodové faktory budou nižší. O tom rozhodují zřejmě jak jiné vnitřní podmínky, zejména doba pasáže potravy gastrointestinálním traktem a odlišný trávicí proces, tak celkově menší přímý konzum kontaminované rostlinné potravy.

Literatura

- BUNZL, I.: Das Verhalten von Radionukliden im Boden. Dtsch. tierärztl. Wschr., 94, 1987, s. 357.
- DEVELL, L. — AARKOG, Q. — BLOMQUIST, L. — MAGNUSSON, S. — TVEN-TEN, U.: How the fall-out of Tchernobyl was detected and measured in the Nordic countries. Nucl. Europe, 11, 1986.
- HAUNOLD, E. — HORAK, O. — GERZABEK, M.: Umweltradioaktivität und ihre Auswirkung auf die Landwirtschaft. Bodenkultur, 38, 1987, č. 2, s. 95.
- KRATOCHVÍL, J.: Použitá zoologie — Obratlovci. Praha, Státní zemědělské nakladatelství 1966.
- LOCHMAN, J.: Jelení zvěř. Praha, Státní zemědělské nakladatelství 1985.
- PAAKOLA, O.: Radiation monitoring and actions in Finland after reactor accident in Chernobyl. Report FCRNS, 1987.
- PROCHÁZKA, H. — PAVELKA, S. — JIRÁSEK, V. — PROCHÁZKA, J. — KÁBELOVÁ, B.: Metody odběru, přípravy a měření vzorků biologických tkání pro stanovení stopových množství zářičů gama. [Výzkumná zpráva.] Výzkumný ústav veterinárního lékařství, Brno 1983, 54 s.
- PROCHÁZKA, H. — JANDL, J. — BRUNCLÍK, T. — JIRÁSEK, V. — KÁBELOVÁ, B. — NOVOSAD, J. — KEJDA, J.: Radioaktivní rezidua v potravinách živočišného původu. [Výzkumná zpráva.] Výzkumný ústav veterinárního lékařství, Brno 1987, 30 s.
- PROCHÁZKA, H. — JANDL, J. — JIRÁSEK, V. — BRUNCLÍK, T. — NOVOSAD, J. — KÁBELOVÁ, B. — HAMPL, J. — FRANCOVÁ, J. — POKOROVÁ, D. — BABINCOVÁ, J.: Vliv radioaktivní kontaminace životního prostředí na zemědělskou produkci. [Výzkumná zpráva.] Výzkumný ústav veterinárního lékařství, Brno 1988, 44 s.
- SKJERVE, R.: Radioactive fall-out in Norway after the Tsjernobyl accident. Rep. Norw. Coll. veter. Med., 1987.

Došlo dne 1. 3. 1989

ПРОХАЗКА, Г. — БРУНЦЛИК, Т. — ЯНДЛ, Я. — ИРАСЕК, В. — НОВОСАД, И. — ГАМПЛ, Я. (Научно-исследовательский институт ветеринарии, Брно): Переходы цезия в коротких цепочках пищевых продуктов. Veter. Med. (Praha), 35, 1980 (2): 119-128.

Путем исследования 25 000 проб пищевых продуктов и кормов, загрязненных в ЧССР цезием после аварии ядерной электростанции в Чернобыле в период с 5. 5. 1986 по 31. 3. 1988 г. было установлено, что величины трансферафакторов для цезия в переходах корм — ткань животных — молоко, одинаково как величины биологического периода полураспада для цезия являются функцией внутренних и внешних условий радиоактивного загрязнения. Индивидуальность организма как внутреннее условие обуславливает рассеяние $\pm 50\%$ средней величины соответствующего трансферфактора. Внешние условия, главным образом уровень загрязнения среды, тип принимаемой пищи и время приема пищи, влияют на средние величины трансферфакторов почти до 500% , т. е. вплоть до 0.5. С повышением загрязнения среды и пищевых продуктов приближаются эти данные трансферфактора пищевые продукты — ткань к пределу 0.3. Первые 2—3 биологических периода полураспада после завершения приема загрязненных пищевых продуктов являются почти 10 раз короче, чем периоды полураспада в установившемся состоянии.

трансфакторы; переход пища — ткань животных; переход пища — молоко; биологический период полураспада цезия; влияние на действия переходов

PROCHÁZKA, H. — BRUNCLÍK, T. — JANDL, J. — JIRÁSEK, V. — NOVOSAD, J. — HAMPL, J. (Veterinary Research Institute, Brno): *Transition of cesium in food-chains*. Veter. Med. (Praha), 35, 1990 (2) : 119-128).

An investigation of 25 000 samples of foodstuffs and feedstuffs in Czechoslovakia, contaminated by fall-out cesium after the accident in the Chernobyl nuclear power plant, performed from May 5, 1986 to March 31, 1988, revealed that both the values of cesium transfer-factors in food — animal tissues — milk transitions and the values of biological half-life of cesium are functions of internal and external conditions of contamination. Organism individuality as the main internal condition causes the variance of about $\pm 50\%$ of the mean value of the respective transfer-factor. Through the external conditions, mainly the environmental contamination level, type of ingested food and time of ingestion, the mean values of transfer-factors are influenced up to 500% , e.g. to the value of 0.5. But this value converges with growing up contamination of food and environment to the limit of 0.3. The first two to three biological half-lives after the last ingestion of contaminated food are up to ten-times shorter than those at stabilized state.

transfer-factors; cesium; food — animal tissue transition; food — milk transition; cesium biological half-life; influencing of transition processes

PROCHÁZKA, H. — BRUNCLÍK, T. — JANDL, J. — JIRÁSEK, V. — NOVOSAD, J. — HAMPL, J. (Forschungsinstitut für Veterinärmedizin, Brno): *Transport von Caesium in kurzen Nahrungsketten*. Veter. Med. (Praha), 35, 1990 (2) : 119-128.

Aufgrund der Untersuchungen von 25 000 Nahrungsmittel- und Futterproben in der Tschechoslowakei im Zeitraum vom 4. 5. 1986 bis 31. 3. 1988, die durch das aus dem Befall nach der Havarie des Kernkraftwerkes in Tschernobyl stammende Zäsium verseucht worden waren, stellten wir fest, dass die Werte der Transferfaktoren für Caesium in der Kette Nahrung — tierisches Gewebe — Milch, als auch die Werte der biologischen Halbwertszeit für Caesium, Funktion der inneren und äusseren Bedingungen der Kontamination sind. Die Individualität des Organismus als innere Bedingung verursacht eine Varianz von $\pm 50\%$ im Mittelwert des entsprechenden Transferfaktors. Die äusseren Bedingungen, vor allem das Niveau der Umweltkontamination, der Typ der aufgenommenen Nahrung und die Ingestionsdauer, beeinflussen die Mittelwerte der Transferfaktoren bis zu 500% , d.h. bis zum Wert von 0,5, wobei mit der zunehmenden Umwelt- und Nahrungskontamination die Werte des Transferfaktoren Nahrung — Gewebe zu einem Limit von 0,3 konvergieren. Die ersten 2—3 biologischen Halbwertszeiten nach Beendigung der Ingestion der kontaminierten Nahrung sind bis 10mal kürzer als die Halbwertszeiten im stabilisierten Zustand.

Transferfaktoren; Transport Nahrung — tierisches Gewebe; Transport Nahrung — Milch; biologische Halbwertszeit für Caesium; Beeinflussung der Transportphänomene

Adresa autorů:

RNDr. Hubert Procházka, CSc., ing. Tomáš Brunclík, RNDr. Jaromír Jandl, CSc., ing. Vladimír Jirásek, RNDr. Josef Novosad, CSc., RNDr. Jaroslav Hampl, CSc., Výzkumný ústav veterinárního lékařství, Hudcova 70, 621 32 Brno

CONTENTS

Kolouch F., Váňová L., Pícha J., Režnický M., Ševčík B.: The morphometry of luteal tissue explants in cows after addition of various doses of 15-glycal cloprostenol (Glystrophan inj. Spofa)	71
Deptula W., Ruczkowska J., Szenfeld J., Choroszy-Król I., Trávníček M.: Immunological status in cattle naturally infected by the microorganisms <i>Chlamydia trachomatis</i> and <i>Chlamydia psittaci</i>	79
Lukášová J., Radová P., Sojková M., Kryštofová J.: The influence of milk cultures on salmonella survival in milk	86
Vrzal V., Čupera Z., Chumela J., Zatloukal L.: Tests of the immunogenic and protective potency of vaccine against inactivated tissue rabies	94
Ruprich J., Piskač A.: The effects of polychlorinated biphenyls (PCB) on chick organisms: the influence of long-term intake of medium-high doses of Delor 103 on the concentrations of thyroxine, triiodothyronine and total calcium in the blood serum	103
Tokošová M.: Investigation of the effects of cyadox and virginiamycin on Marek's disease in chickens	112
Fukal L.: An expeditious and simple method of radioimmunochemical assays of aflatoxin B ₁ cereals and feeds using a commercially produced analytical kit	117
Procházka H., Brunclík T., Jandl J., Jirásek V., Novosad J., Hampl J.: Transition of cesium in food-chains	128

INHALT

Kolouch F., Váňová L., Pícha J., Režnický M., Ševčík B.: Morphometrie der Explantate des Lutealgewebes der Kühe nach Verabreichung verschiedener Gaben von 15-Glykal Cloprostenol (Glystrophan inj. Spofa)	71
Deptula W., Ruczkowska J., Szenfeld J., Choroszy-Król I., Trávníček M.: Immunologischer Status von auf natürliche Weise mit Mikroorganismen <i>Chlamydia trachomatis</i> und <i>Chlamydia psittaci</i> infizierten Rindern	80
Lukášová J., Radová P., Sojková M., Kryštofová J.: Einfluß der Milchkulturen auf das Überleben der Salmonellen in der Milch	86
Vrzal V., Čupera Z., Chumela J., Zatloukal L.: Überprüfung der immunogenen und Schutzfähigkeiten der Vakzine gegen die inaktivierte Gewebetollwut	94
Ruprich J., Piskač A.: Wirkung von polychlorierten Biphenylen (PCB) auf den Organismus der Küken: Einfluss einer langfristigen Aufnahme der mittleren Gaben von Delor 103 auf die Konzentration von Thyroxin, Trijodthyronin und Gesamtkalzium im Blutserum	103
Tokošová M.: Einfluss von Cyadox und Virginiamycin auf den Verlauf der Marekschen Krankheit bei Küken	(E) 112
Fukal L.: Ein schnelles und einfaches Verfahren zur radioimmunochemischen Bestimmung des B ₁ Aflatoxins in Getreidearten und Futtermitteln mit Hilfe einer analytischen Handelsgarnitur	117
Procházka H., Brunclík T., Jandl J., Jirásek V., Novosad J., Hampl J.: Transport von Caesium in kurzen Nahrungsketten	128

Rukopisy odevzdány k tisku 27. 10. 1989 — Podepsáno k tisku 12. 3. 1990

Vědecký časopis VETERINÁRNÍ MEDICÍNA • Vydává Československá akademie zemědělská — Ústav vědeckotechnických informací pro zemědělství • Vychází měsíčně • Redaktorka ing. Zdeňka Radošová • Redakce: 120 56 Praha 2, Slezská 7, telefon 257541 • Vytiskl MÍR, novinářské závody, sdr. p., závod 6, tř. Lidových milicí 22, 120 00 Praha 2 • © Ústav vědeckotechnických informací pro zemědělství, Praha 1990

Rozšiřuje PNS. Informace o předplatném podá a objednávky přijímá každá administrace PNS, pošta, doručovatel a PNS-ÚED Praha, ACT, 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, administrace vývozu tisku, Kovpalkova 26, 160 00 Praha 6.