

VĚDECKÝ ČASOPIS



VETERINÁRNÍ MEDICÍNA

5

ROČNÍK 35 (LXIII)

PRAHA

KVĚTEN 1990

CENA 15 Kčs

CS ISSN 0590-5214

ČESKOSLOVENSKÁ AKADEMIE ZEMĚĚLSKÁ

ÚSTAV VĚDECKOTECHNICKÝCH INFORMACÍ

PRO ZEMĚĚLSTVÍ

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

Vedoucí redaktorka ing. Zdeňka Radošová

OBSAH

Šťavíková M., Lojda L., Žáková M., Mach P., Přikryl S., Pospíšil J.: Genetický podíl krav na prevalenci mastitid v následující generaci	257
Mazura F.: Zjišťování produkce betalaktamázy u kmenů <i>Staphylococcus aureus</i> izolovaných z mléka krav	267
Kudweis M., Lojda Z., Juliš I., Vítovec J., Koudela B.: Aktivita alkalické fosfatázy v pohárkových buňkách tenkého střeva selat experimentálně infikovaných kokcií <i>Isospora suis</i>	275
Tokoš M., Tokošová M.: Vyvolanie superovulácie u oviec použitím PMSG	285
Rajtová V., Ependymová výstelka <i>eminentia mediana</i> u kozy	291
Halouzka R., Ruprich J., Piskač A.: Účinek polychlorovaných bifenylů na organismus kuřat: patologické změny orgánů po krátkodobém a dlouhodobém příjmu Deloru 103	303
Prašovská M., Turek P., Pleva J., Pažáková J.: Mikrobiologie hovädzieho separovaného mäsa	313

СОДЕРЖАНИЕ

Штави́кова М., Лойда Л., Жа́кова М., Мах П., Пржи́крыл С., Поспи́шил Я.: Генетическая доля коров с преобладанием маститидов в последующем поколении	264
Ма́зура Ф.: Определение продукции беталактамазы у штаммов <i>Staphylococcus aureus</i> изолированных из коровьего молока	273
Ку́двейс М., Лойда З., Юлиш Й., Витовец Й., Коудела Б.: Активность щелочной фосфатазы в плосковидных клетках тонкого кишечника поросят экспериментально инфицированных кокцидиозом <i>Isospora suis</i>	283
Токош М., Токошова М.: Стимулирование возникновения суперовуляции у овец применением ПМСГ	289
Райтова В.: Эпендимный эпителий <i>eminentia mediana</i> у козы	301
Галоузка Р., Руприх Й., Пискач А.: Действие полихлорированных бифенилов на организм цыплят: патологические изменения органов после краткосрочного и долгосрочного поступления делора 103	312
Прашовска М., Турек П., Плева Я., Пажакова Я.: Микробиология сепарированной говядины	319

GENETICKÝ PODÍL KRAV NA PREVALENCI MASTITID V NÁSLEDUJÍCÍ GENERACI

M. Šťavíková, L. Lojda, M. Žáková, P. Mach, S. Příkryl, J. Pospíšil

ŠTAVÍKOVÁ, M. — LOJDA, L. — ŽÁKOVÁ, M. — MACH, P. — PŘÍKRYL, S. — POSPÍŠIL, J. (Výzkumný ústav veterinárního lékařství, Brno; Okresní veterinární správa, Brno-venkov): *Genetický podíl krav na prevalenci mastitid v následující generaci*. Veter. Med. (Praha), 35, 1990 (5) : 257-265.

V letech 1985 až 1988 byl proveden průzkum výskytu mastitid u 1227 dvojic krav, matka—dcera. Podle evidence o zdravotním stavu mléčných žláz dojníc byly získány nálezy až 10 let zpětně. Do sledování bylo zahrnuto šest chovů Jednotných zemědělských družstev v okrese Brno-venkov. V souboru krav bylo v dřívějších letech zastoupeno převážně plemeno české strakaté, později křížky s plemenem červeným holštýnským a nízkým genetickým podílem plemene ayrshire. Zdravotní stav dojníc byl posuzován na základě klinického a bakteriologického vyšetření jednotlivých čtvrtí mléčné žlázy i podle výsledků mastitis testu-NK. Významné bylo pořadí laktace, ve které kráva poprvé onemocněla. Byla zjištěna statisticky významná závislost prevalence onemocnění dcer na jejich matkách ($P \leq 0,01$). Krávy-matky, zařazené podle nálezů do skupiny dojníc k onemocnění vnímavých, měly téměř 50 % dcer rovněž postižených mastitidou. Ve skupině matek odolných se vyskytlo v průměru onemocnění u 25 % dcer. Hodnocení dědivosti vnímavosti krav k mastitidám bylo provedeno na principu regrese dcera—matka. Byl vypočítán koeficient heritability $\hat{h}^2 = 0,52 \pm 0,06$. Z výsledků vyplývá, že genetický podíl krav-matek na vnímavosti jejich dcer k mastitidám je významný.

skot; záněty mléčných žláz; regrese dcera—matka; plemeno české strakaté a jeho kříženci; heritabilita

Přes mnohaleté úsilí v programu tlumení mastitid u krav zůstává stále tato problematika nevyřešená. V chovu skotu jsou hlavní příčinou ztrát v celosvětovém měřítku. Předčasné vyřazování krav, snížená užitkovost následkem onemocnění, špatná kvalita mléka a mléčných výrobků, jakož i nebezpečí z hlediska zdraví člověka, jsou neustále aktuální.

Výzkumy posledních let naznačují, že genetická prevence bude jednou z hlavních cest omezení výskytu mastitid, avšak pouze při zajištění komplexu podmínek správného odchovu, výživy a zoohygieny. Exaktní práce, věnované problematice genetické prevence mastitid jsou velmi pracné a dlouhodobé. Velký generační interval, nízký počet potomstva a skutečnost, že krávy obvykle onemocní až v pozdějších laktacích, výzkum značně komplikují. Rozšířením inseminace v chovu skotu vzrostl vliv otcovského faktoru v široké populaci krav a z toho důvodu byly mnohé práce v zahraničí i u nás zaměřeny na sledování skupin polo-sester po býcích (Skolasiński aj., 1977; Spooner aj., 1988).

V našich dřívějších studiích jsme zjistili významné asociace mezi některými morfologickými, funkčními a biochemickými vlastnostmi mléčné žlázy a onemocněním i jejich dědivostí (Lojda aj., 1975). Mezi skupinami dcer jednotlivých býků jsme prokázali statisticky významné rozdíly ($P \leq 0,01$) v prevalenci mastitid (Lojda aj., 1984). O částečné genetické predispozici krav k tomuto onemocnění svědčí také difference mezi jednotlivými plemeny (Jensen aj., 1985; Šťavíková aj., 1985). V pozdějších šetřeních jsme našli náznak podobnosti prevalence mastitid u dcer vzájemně příbuzných býků (Šťavíková aj., 1986). Značná shoda v indexu nemocnosti byla mezi skupinami dcer býků, kteří měli společnou matku. Proto jsme se v této práci zaměřili na sledování dispozice ze strany matky.

MATERIÁL A METODY

LOKALITY ŠETŘENÍ A CHARAKTERISTIKA POPULACE KRAV

Do sledování byly zahrnuty některé chovy (jeden až šest) v JZD na okrese Brno-venkov. Byly zvoleny chovy s dobrou úrovní a přesnou plemenářskou evidencí s kontrolou užitkovosti 1. stupně. V minulých letech bylo zastoupeno převážně plemeno české strakaté. Později v záměru vyšlechtit dojnější populaci se přistoupilo ke křížení s plemenem červené holštýnské a částečně také s plemenem ayrshire. Ve většině chovů bylo tradiční vazné ustájení, pouze chov šest byl velkokapacitní. Dojení se uskutečňovalo na stání do potrubí.

Otázky genetické vnímavosti nebo naopak odolnosti krav k mastitidám byly studovány v populaci 2750 dojnic. Z nich bylo možno sestavit a ukončit sledování celkem u 1227 dvojic matka—dcera. Náš terénní průzkum byl prováděn přibližně od poloviny roku 1985 do poloviny roku 1988. Krávy byly vyhledány podle záznamů o původu v inseminačních kartách jednotlivých chovů a v laktčních listech každé dojnice. Byly evidovány následující údaje: datum narození, původ, plemenná příslušnost, pořadí laktace, data otelení, užitkovost a lokalita, kde kráva převážně žila. Vliv vnějších podmínek byl zohledňován na základě vlastních šetření i ze záznamů stálých pracovníků, provádějících ve všech chovech pravidelnou veterinárně bio-technickou kontrolu.

DIAGNOSTIKA MASTITID

Ve všech chovech byly čerpány dlouhodobé údaje o zdravotním stavu mléčných žláz krav z evidence laboratoře veterinární laktologie OVS Brno-venkov až 10 let zpětně. Diagnostika byla zaměřena na následující bakterie: *Streptococcus agalactiae* a jiné hemolytické streptokoky s prokázanou patogenitou (*Str. dysgalactiae*, *Str. uberis*), dále *Staphylococcus aureus* a některé koliformní bakterie (*Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Enterobacter aerogenes*) i korynebakterie. Dále byly evidovány klinické formy mastitid a čtvrti vemene, atrofované následkem onemocnění. Cytologické vyšetření bylo prováděno nepřímou metodou mastitis testem-NK a posuzováno podle klíče, který vypracovali autoři Ryšánek a Renda (1971). Byl počítán průměrný čtvrtový iritační index.

V průměru byly odebírány čtvrtové vzorky mléka k bakteriologickému vyšetření dvakrát ročně. Aby se zpřesnilo zařazení do skupiny krav vnímavých nebo odolných, byly použity záznamy příslušných obvodních veterinárních lékařů, zootechniků a výsledky našich šetření. Zejména v chovu šest byla prováděna denně evidence o výskytu klinických forem mastitid a jednou za měsíc vyšetření mastitis testem-NK čtvrtových vzorků mléka. V tomto chovu jsou pravidelně odebírány vzorky u každé krávy do 14 dnů po otelení a zasílány k bakteriologickému vyšetření do laboratoře SVÚ v Brně. Do roku 1984 v něm byl prováděn ozdravovací proces pracovníky epizootologie a mikrobiologie VŠV v Brně. Toto úsilí a mimořádná chovatelská péče byly korunovány úspěchem v září 1987, kdy část chovu šest byla uznána jako šlechtitelská.

Relativní (průměrná) četnost výskytu onemocnění v jednotlivých chovech byla zjištěna na základě vzorce $p = \frac{r}{n}$, kde r je počet krav postižených a n celkový počet vyšetřovaných dojnic.

Střední chyba tohoto odhadu $s_x = \sqrt{\frac{p \cdot (1-p)}{n}}$, interval spolehlivosti $IS = p \pm t \cdot s_x$ (Venčíkov a Venčíkov, 1977).

Statistická významnost průkaznosti četností rozdílů onemocnění ve všech chovech v závislosti výskytu onemocnění u dcer na matkách byla hodnocena χ^2 testem pro kontingenční tabulku 2×2 (Michálek aj., 1982). Metoda studia odhadu dědivosti je založena na principu, zda vnímavé matky v tomtéž chovu mají vyšší procento vnímavých dcer než matky odolné. Je to v podstatě regrese dcer na matky, kde se vypočítá regresní koeficient b_{DM} vnímavosti k mastitidám u dcer na vnímavost u matek (Lush, 1950). Průměr regrese dcer na matky při použití této metody je dán výrazem

$$b_{DM} = \frac{\sum (x_i - y_i) \cdot \frac{n_i \cdot k_i}{n_i + k_i}}{100 \cdot \sum \frac{n_i \cdot k_i}{n_i + k_i}}$$

Metoda váženého průměru je nutná pro kombinaci důkazů z několika chovů pro jejich různé počty krav a také pro odlišné zastoupení matek v obou skupinách. Poněvadž stupeň příbuznosti mezi rodiči a potomky je dán koeficientem $1/2$, je nutné k získání odhadu heritability regresní koeficient násobit dvěma:

$$\hat{h}^2 = 2 b_{DM}; \text{ střední chyba } s\hat{h}^2 = \frac{2}{\sqrt{n}}$$

kde n je počet párů dcera—matka. Tato analýza uvnitř chovu předpokládá v mnoha případech tytéž býky — otce dcer vnímavých i rezistentních.

VÝSLEDKY

Všechny krávy jsme podle výsledků šetření během celého jejich života (období sledování) zařadili do dvou skupin, a to k onemocnění vnímavé a k onemocnění odolné. Alternativním znakem byl nález závažných patogenních zárodků v mléce, které vyvolávají onemocnění mastitidou. Dále byly do krav vnímavých zařazeny dojnice opakovaně vylučující i méně závažné mikrobiální agens při často zvýšené pozitivitě mastitid testu-NK a krávy, u nichž se vyskytlo recidivující klinické onemocnění, aniž se podařilo závažné patogenní agens izolovat. Zejména onemocnění dojnic opakovaně v různých laktacích bylo považováno za závažné. Pozitivita stájového testu byla hodnocena s ohledem na stadium laktace a vnější podmínky chovu. Při celkovém zařazení krávy byl za pozitivní považován průměrný čtvrtový iritační index 0,95 a vyšší. Přirozeně z hlediska genetického byla přísněji posuzována mastitida v laktacích nižších než nálezy v pozdějším věku krav. U těchto lze předpokládat, že na manifestaci onemocnění může výrazněji působit řada jiných faktorů vnějšího prostředí.

V tab. I jsou uvedeny průměrné četnosti výskytu onemocnění mléčných žláz krav v jednotlivých chovech za celou dobu sledování. Tyto hodnoty vyjadřují relativní četnost výskytu mastitid a interval spolehlivosti výpočtu v chovech dojnic, tedy včetně krav již dříve vyřazených a nehodnocených pro neúplnost jako dvojice (celkem 2750 ks). Z pře-

I. Relativní četnost výskytu mastitid a interval spolehlivosti v jednotlivých chovech — Relative frequency of mastitis incidence and confidence intervals in different herds

Označení chovu	Počet sledovaných krav	Relativní četnost onemocnění a interval spolehlivosti pro hladinu $P \leq 0,05$
1	160	$0,19 \pm 0,03$
2	196	$0,23 \pm 0,06$
3	216	$0,21 \pm 0,05$
4	990	$0,19 \pm 0,02$
5	344 ⁺	$0,24 \pm 0,05$
6	848 ⁺	$0,23 \pm 0,03$
Celkem	2750	

⁺ počítáno včetně krav i dříve vyřazených a nehodnocených jako páry

hledu vyplývá, že vzhledem k prevalenci mastitid byly chovy přibližně vyrovnané. Onemocnění se pohybovalo kolem 20 %.

Pomocí χ^2 testu byla ověřována statistická významnost závislosti výskytu onemocnění dcer na jejich matkách. V chovech s malými počty zvířat se jevila jako nevýznamná. Avšak v chovech s reprezentativními počty dvojic krav a v celkové populaci sledovaných párů ze všech chovů byla statisticky významná (tab. II).

Výpočet regresního koeficientu u dvojic dcera—matka a koeficientu heritability vnímavosti nebo naopak odolnosti krav k mastitidám je uveden v tab. III. Z tabulky vyplývá, že odhad dědivosti je středně vysoký: $\hat{h}^2 = 0,52 \pm 0,06$. Zvláště v chovu šest, ve kterém se krávy vyznačovaly dlouhověkostí a kde frekvence vyšetřování byla nejčastější, je velká shoda mezi matkami a jejich dcerami. Vnímavé matky měly téměř 65 % rovněž vnímavých dcer, zatímco krávy odolné měly necelých 19 % dcer pozitivních. V celém souboru bylo v průměru u nemocných matek 47,58 %

II. Přehled statistické významnosti závislosti výskytu mastitid u dcer na jejich matkách v jednotlivých chovech a v celkové populaci — A survey of the statistical significance of the dependence of mastitis incidence in daughters on that in the dams in different herds and in the whole population

Chov	χ^2	Stupeň významnosti
1	0,142	—
2	5,699	++
3	0,147	—
4	6,727	+++
5	8,247	+++
6	6,624	+++
V celé populaci	45,158	+++

+++ významnost na hladině $P \leq 0,01$; ++ významnost na hladině $P \leq 0,05$

III. Sumární podklady pro výpočet regresního koeficientu a koeficientu heritability — Summary data to calculate the regression coefficient and heritability coefficient

Číslo chovu	Vnímavé matky			Odočné matky			$x_i - y_i$ %	$\frac{n_i \cdot k_i}{n_i + k_i}$	$(x_i - y_i) \cdot \frac{n_i \cdot k_i}{n_i + k_i}$
	M [ks]	D [ks]	procento vnímavých dcer	M [ks]	D [ks]	procento vnímavých dcer			
	n		x	k		y			
1	9	2	22,22	71	20	28,17	- 5,95	7,99	- 47,54
2	11	8	72,73	87	26	29,89	42,84	9,77	418,55
3	11	3	27,27	97	32	32,99	- 5,72	9,88	- 56,51
4	49	16	32,65	446	121	27,13	5,52	44,15	243,71
5	56	20	35,71	56	7	12,50	23,21	28,00	649,88
6	91	59	64,83	243	45	18,52	46,31	66,21	3066,19
Celkem	227	108		1000	251			166,00	4274,28

$$b_{DM} = \frac{4274,28}{16\ 600} = 0,26 \quad \hat{h}^2 = 2b_{DM} \quad \hat{h}^2 = 0,52 \quad s_{\hat{h}^2} = \frac{2}{1227} = 0,06 \quad \hat{h}^2 = 0,52 \pm 0,06$$

$x_i - y_i$ = rozdíl v procentu vnímavých dcer

$\frac{n_i \cdot k_i}{n_i + k_i}$ = harmonický průměr matek

$\sum x_i - y_i \cdot \frac{n_i \cdot k_i}{n_i + k_i}$ = součet součinů (rozdílu procenta vnímavých dcer) a příslušného harmonického průměru matek v jednotlivých chovech je v našem případě nejlepší mírou informací, kterými každý chov přispívá ke stanovení heritability

vnímavých dcer. Ve skupině matek zdravých bylo v průměru 25,10 % postižených dcer. Mastitidní krávy měly přibližně dvojnásobné množství dcer rovněž postižených onemocněním ve srovnání se souborem dojnic. odolných.

DISKUSE

Z výše uvedených výsledků se jeví statisticky významná závislost výskytu mastitid u dcer na jejich matkách. K obdobným závěrům dospěli ve své práci Lindström a Syväjärvi (1978). V jimi vyšetřeném souboru krav měly dcery dojnic postižených mastitidou téměř dvakrát vyšší frekvenci onemocnění mléčné žlázy než dcery matek s vemenem zdravým. Také Skolasinskí aj. (1977) zjistili signifikantní rozdíly mezi procentem onemocnění dcer krav zdravých a nemocných. Jimi provedený odhad heritability je také poměrně vysoký: $h^2 = 0,41$ a blíží se k námi vypočítané hodnotě. Dřívější šetření citovaných autorů i jiné práce převážně vycházely z menších počtů zvířat malochovů. Podmínky našich velkochovů, pravidelné depistáže stejnou skupinou pracovníků po mnoho let a naše zvýšená frekvence vyšetřování během doby sledování, zpřesňují naše výsledky. V minulých letech studoval obdobnou problematiku Zeman (1975) a vypočítal na základě regrese dcer na matky koeficient heritability $\hat{h}^2 = 0,27 \pm 0,06$. Vycházel ze souboru asi 900 párů krav pocházejících ze 17 zemědělských závodů. V naší práci se nám podařilo vyhodnotit 1227 dvojic, které prakticky žily pouze ve čtyřech lokalitách. Lze tedy předpokládat, že působení vnějších faktorů u většiny krav bylo obdobné.

Naš průzkum byl komplikován stávajícím rychlým obratem stád, což je v současné době značný problém. V tomto směru je výjimečný chov šest, kde bylo pořadí probíhajících laktací v průměru 4,2 a průměrný věk krav přesahoval šest let. V našem souboru tohoto chovu bylo 89 % krav ve třetí a vyšších laktacích. Právě na této farmě byla také mezi matkami a jejich dcerami zjištěna ve zdravotním stavu mléčných žláz krav největší shoda. V ostatních chovech tomu tak vždy nebylo. V těchto se průměrné pořadí probíhajících laktací pohybovalo kolem tří. Mnoho krav je předčasně vyřazováno, což představuje velké hospodářské ztráty.

Během sledovaných let se přirozeně vnější podmínky více nebo méně měnily, ale dvojice krav byly chovány obvykle v podobném prostředí. Při biotechnické kontrole se čistota stájí, dojnicích aparatur i mléčnic pohybovala mezi stupněm jeden až dva. Rovněž užitkovost kolísala, ale v těchto chovech byla většinou dobrá. Např. v chovu pět byla 4200 kg mléka ke konci období našeho sledování a v chovu šest dokonce 5000 kg mléka na krávu za laktaci.

Různě vysoké odhady dědivosti pro vnímavost krav k mastitidám vyplývají z použití odlišných metod výpočtu nebo definice pojmu onemocnění. Na Slovensku udávají Staník a Vasil (1986) u krav plemene černostrakatého nížinného koeficient heritability, vypočítaný rovněž na principu regrese dcery—matky, hodnotu $\hat{h}^2 = 0,32$. Podle většiny autorů se koeficient dědivosti zvýšené vnímavosti krav k mastitidám pohybuje kolem hodnoty 0,25. Vyšší hodnota (0,52), vyplývající z této práce, je dána pravděpodobně skutečností, že byly do průzkumu zahrnuty

výsledky dlouhodobě sledovaných starších krav. Je známo, že s pořadím laktací se vnímavost k onemocnění zvyšuje. Příčinou mohou být však další faktory, nikoliv genetické. V celé práci jsme se snažili kompenzovat tuto chybu tím, že rozhodujícím faktem pro zařazení krávy do skupiny vnímavých nebo odolných bylo, na které laktaci poprvé kráva onemocněla a zda docházelo k recidivám.

Z našich předchozích rozsáhlých prací i stávajících výsledků vyplývá, že genetický podíl rodičů na vnímavosti nebo naopak na odolnosti krav k mastitidám nelze podceňovat. Diference mezi skupinami polo-sester po různých býcích a zvýšené množství onemocnění u dcer dojníc, které samy prodělaly mastitidu, svědčí pro částečnou genetickou predispozici. Je proto žádoucí při selekci k těmto skutečnostem přihlížet, zvláště při výběru matek plemenných býků. Je však třeba stanovit vhodné parametry, které by včas umožňovaly provádět výběr již u mladých zvířat. Skupina nizozemských vědeckých pracovníků považuje za vhodné selekční kritérium pro vyšší rezistenci k mastitidám počet buněčných elementů v mléce u krav na základě první laktace (Vecht aj., 1987). Larsen aj. (1985) zjistili asociaci mezi krevní skupinou M a mastitidou. Některé další asociativní studie norských autorů (Lie aj., 1986) a anglických výzkumných pracovníků (Sponner aj., 1988) naznačují, že vysoce polymorfní systém BoLA (Bovine leucocyte antigens) by mohl v budoucnu sehrát důležitou úlohu také pro zvýšení odolnosti krav k onemocnění mléčné žlázy.

Poděkování

Autoři děkují za poskytnutí některých informací dřívějším pracovníkům VŠV Brno MVDr. K. Neumannovi, CSc. a MVDr. M. Zemanovi, CSc. Za umožnění průzkumu v terénu patří díky všem vedoucím a zootechnickým pracovníkům JZD na farmách Babice, Říčany, Šlapanice a Tvarožná.

Literatura

- JENSEN, N. E. — MADSEN, P. — LARSEN, B. aj.: Heritability and markers of resistance against mastitis in the Danish RDM breed. In: Progress in the Control of Bovine Mastitis, 21.—24. 5. 1985, Kiel, Germany, s. 506-510.
- LARSEN, B. — JENSEN, N. E. — MADSEN, P. — NIELSEN, S. M. aj.: Association of the M blood group system with bovine mastitis. Anim. Blood Grps biochem. Genet., 16, 1985, s. 165-173.
- LIE, O.: Genetic approach to mastitis control. In: Progress in the Control of Bovine Mastitis, 21.—24. 5. 1985, Kiel, Germany, s. 457-496.
- LINDSTRÖM, U. B. — SYVÄJÄRVI, J.: Use of field records in breeding for mastitis resistance in dairy cattle. Livestock Prod. Sci. 5, 1978, s. 29-44.
- LOJDA, L. — ŠTAVÍKOVÁ, M. — INGR, I. — RUBEŠ, J.: Dědivost některých morfologických a funkčních úchylek mléčné žlázy skotu. [Výzkumná zpráva.] Brno, Výzkumný ústav veterinárního lékařství 1975. 45 s.
- LOJDA, L. — ŠTAVÍKOVÁ, M. — PECKA, F. — KOCIÁN, B. aj.: Studium možnosti genetické prevence mastitidy skotu. [Výzkumná zpráva.] Brno, Výzkumný ústav veterinárního lékařství 1984. 48 s.
- LUSH, I. L.: Inheritance of susceptibility to mastitis. J. Dairy Sci., 33, 1950, s. 121-125.
- MICHÁLEK, J. — OSECKÝ, P. — PEŠEK, J. — ROD, J. — VONDRÁČEK, J.: Biometrika. Brno, Univerzita J. E. Purkyně (skripta). 1982. 404 s.
- RYŠÁNEK, D. — RENDA, V.: Mechanismus reakce mastitis testu-NK a způsob posuzování jeho pozitivnosti. Veter. Med. (Praha), 16, 1971, č. 7, s. 405-414.
- SKOLASINSKI, W. — TYSZKA, Z. J. — CHARON, K. M.: Różnice w występowaniu mastitis powodowanego różnymi drobnoustajami u córek określonych buhajów. Prace i Materiały Zootechniczne, 14, 1977, s. 131-140.

SPOONER, R. — MORGAN, A. — SALES, D. — SIMPSON, P. — SOLBU, H. — LIE, O.: MHC associations with mastitis. In: Proceedings of the World Congress on MHC and disease associations, Nairobi, Kenya, 9, 1988, s. 57.

STANÍK, J. — VASIL, M.: Mastitidy dojníc vo veľkovýrobných podmienkach chovu z genetického aspektu. Veter. Med. (Praha), 31, 1986, č. 1, s. 21-26.

ŠTAVÍKOVÁ, M. — LOJDA, L. — PECKA, F. — KOCIÁN, B. — MATHONOVÁ, B.: Výskyt mastitid u krav různých plemen a jejich kříženců — odhad dědivosti k tomto onemocnění. Veter. Med. (Praha), 30, 1985, č. 9, s. 521-529.

ŠTAVÍKOVÁ, M. — LOJDA, L. — PECKA, F. — KOCIÁN, B.: Podobnost prevalence mastitid u dcer příbuzných býků. Veter. med. (Praha), 31, 1986, č. 11, s. 643-650.

VECHT, U. — SHOOK, G. E. — POLITIEK, R. D.: — GROOTENHUIS, G.: het melkcelgetal als selectiecriteria bij het fokken van melkvee met een betere weerstand tegen mastitis. Tijdschr. Diergeneesk., 112, 1987, č. 10, s. 598-603.

VENČIKOV, A. I. — VENČIKOV, V. A.: Základní metody statistického zpracování dat ve fyziologii. 1. vyd. Praha 1977. 153 s.

ZEMAN, M.: Podíl genetického základu dojníc na rezistenci vůči mastitidám. [Výzkumná zpráva.] Brno, Vysoká škola veterinární 1975.

Došlo dne 25. 4. 1989

ШТЯВИКОВА, М. — ЛОЙДА, Л. — ЖАКОВА, М. — МАХ, П. — ПРЖИКРЫЛ, С. — ПОСПИШИЛ, Я. (Научно-исследовательский институт ветеринарии, Брно; Райветуправление, Брно-пригород): Генетическая доля коров с преобладанием маститов в последующем поколении. Veter. Med. (Praha), 35, 1990 (5) : 257-265.

В 1985—1988 гг. проводили исследование по распространению маститов у 1227 пар дойных коров, мать—дочка. По учету состояния здоровья молочных желез дойных коров были получены находки даже десятилетней давности. Наблюдения проводились в шести разведениях Единных сельскохозяйственных кооперативов в районе Брно-пригород. В совокупности коров в прошлых годах была представлена в перобладющей мере порода чешское пестрое, позднее помеси с породой красное гольштинское и с низкой генетической долей породы айршире. Состояние здоровья дойных коров оценивалось на основе клинического и бактериологического обследования отдельных четвертей молочных желез и по результатам маститного теста НК. Знаменательной была очередность лактации, в которой корова впервые заболела. Установили статистически достоверную зависимость перобладания заболевания дочерей на их матерях ($P \leq 0,01$). Коровы-матери введенные по находкам в группы дойных коров по предпримчивости к болезни имели почти 50 % дочерей заболевших маститом. В группе устойчивых матерей в среднем заболевание было распространено у 25 % дочерей. Оценка наследуемости пердпримчивых коров к маститам проводилась по принципу регрессии дочка—мать. Расчитали коэффициенты наследуемости $h^2 = 0,52 \pm 0,06$. Из результатов вытекает, что генетическая доля коров-матерей на пердпримчивости их дочерей к маститам значительна.

к. р. с.; воспаление молочных желез; регрессия дочка—мать; порода чешское пестрое и ее помеси; наследуемость

ŠTAVÍKOVÁ, M. — LOJDA, L. — ŽÁKOVÁ, M. — MACH, P. — PŘIKRYL, S. — POSPÍŠIL, J. (Veterinary Research Institute, Brno; District Veterinary Administration, Brno): Genetic contribution of dams to the prevalence of mastitis in a successive generation. Veter. Med. (Praha), 35, 1990 (5) : 257-265.

Investigations of mastitis prevalence were performed in 1227 dam-daughter pairs during 1985—1988. From the records of the last 10 years, the findings concerning mammary gland were obtained. Six herds of agricultural co-operatives in the Brno region were investigated. In the early period the Bohemian Pied breed, later the crosses of this breed with Red Holstein and a low genetic proportion of Ayrshire cattle, dominated in the set of cows. Udder health was assessed using the clinical and bacteriological findings in individual udder quarters and the results of the rapid mastitis test NK. Based on this data, the cows were divided into two groups — resistant and susceptible. The lactation order in which the disease appeared for the first time was of great importance. The occurrence of the disease in daughters

and udder health in dams were in a significant relation ($P \leq 0.01$). While nearly 50% of daughters of susceptible dams were affected, it was only 25% in daughters of the resistant group. The assessment of heritability of resistance to mastitis was carried out on the principle of dam-daughter regression. The index of heritability $\hat{h}^2 = 0.52 \pm 0.06$ was calculated. The results show that the genetic contribution of dams to the susceptibility of daughters to mastitis is significant.

cattle; mastitis; daughter-dam regression; Bohemian Pied breed and its crosses; heritability

ŠTAVÍKOVÁ, M. — LOJDA, Z. — ŽÁKOVÁ, M. — MACH, P. — PŘIKRYL, S. — POSPÍŠIL, J. (Forschungsinstitut für Veterinärmedizin Brno; Kreis-Tiergesundheitsamt, Brno): *Genetischer Beitrag der Mutterkühe zum Vorkommen von Euterentzündungen in der nachfolgenden Generation*. Veter. Med. (Praha), 35, 1990, (5): 257-265.

Im Zeitraum von 1985 bis 1988 wurden Untersuchungen zum Vorkommen von Euterentzündungen bei 1227 Mutter-Tochter-Paaren vorgenommen. Aus der Dokumentation über Eutererkrankungen bei Mutterkühen wurden Befunde rückblickend für die letzten 10 Jahre gewonnen. Die Untersuchungen verliefen in 6 Beständen einer LPG in der Umgebung von Brno. In der früheren Periode handelte es sich vorwiegend um Kühe des Böhmisches Fleckviehes, später um Kreuzungen dieser Rasse mit der Roten Holsteiner Rasse und einem niedrigen Anteil der Ayrshire-Rasse. Die Eutergesundheit wurde anhand klinischer und bakteriologischer Befunde, sowie der Ergebnisse des Mastitisschnelltestes NK beurteilt. Aufgrund dieser Angaben wurden die Kühe in eine resistente und eine anfällige Gruppe eingeteilt. Als wichtiges Kriterium galt dabei die Laktationsfolge, in der die Eutererkrankung zum erstenmal diagnostiziert wurde. Es gab eine signifikante Abhängigkeit ($P \leq 0.01$) des Vorkommens der Euterentzündungen bei Töchtern von der Eutergesundheit ihrer Mütter. Während von den Töchtern der anfälligen Mütter fast 50 Prozent von Euterentzündung betroffen wurden, waren es bei den Töchtern der resistenten Gruppe nur 25 Prozent. Die Bewertung der Heritabilität der Anfälligkeit der Kühe gegenüber Mastitis wurde auf dem Prinzip der Tochter-Mutter-Regression durchgeführt. Der Heritabilitätskoeffizient $\hat{h}^2 = 0.52 \pm 0.06$. Aus den Ergebnissen geht hervor, daß der genetische Beitrag der Mütter zur Anfälligkeit ihrer Töchter gegenüber Euterentzündung bedeutsam ist.

Rind; Euterentzündungen; Tochter-Mutter-Regression; Böhmisches Fleckvieh und dessen Kreuzungen; Heritabilität

Adresy autorů:

Ing. Marie Štavíková, CSc., MVDr. Ladislav Lojda, CSc., Ing. Marie Žáková, Výzkumný ústav veterinárního lékařství, Hudcova 70, 621 32 Brno
MVDr. Petr Mach, CSc., MVDr. Svatopluk Přikryl, Jaroslav Pospíšil, Okresní veterinární správa Brno-venkov, Bohunická 117, 619 00 Brno

Mezinárodní společnost pro hygienu zvířat pořádá VII. Mezinárodní kongres

JEDNOTA HYGIENY ZVÍŘAT A ŽIVOČIŠNÉ PRODUKCE

v Lipsku ve dnech 20.—24. srpna 1991

Jednání bude zaměřeno na následující tematické okruhy:

- ekologické základy moderní hygieny zvířat
- programy pro hygienu zvířat, týkající se prevence a kontroly epizootických onemocnění, nemocí multifaktorových a technopatií
- dezinfekce, odhmyzení a boj proti hlodavcům v ustajovacích prostorách
- hygieny zvířat — ochrana prostředí a využívání zemědělských vedlejších produktů
- hygiena krmiva
- škodlivé látky v ustajovacích prostorách
- hygiena řetězce potravin: rostlina — zvíře — člověk
- péče o zvířata — zdraví a výkonnost
- mikroflóra v ustajovacích prostorách a nebezpečí infekce
- vyhodnocení stability prostředí a systémů hospodaření pomocí hygienických a etiologických metod

Během VII. Mezinárodního kongresu se budou konat dvě satelitní sympózia s náměty:

- chování zvířat jako kritérium zdraví
- akademické a postgraduální studium zemědělských specialistů v oblasti ekologie a hygieny zvířat

Autoři, kteří by chtěli přednést příspěvek, zašlou abstrakt (maximálně v rozsahu jedné stránky psané na stroji v angličtině nebo němčině) na adresu:

Organizační středisko VII. Mezinárodního kongresu pro hygienu zvířat, Semmelweisstrasse 4, 7010 Lipsko, Německá demokratická republika (GDR) do 15. října 1990 (nejpozději). Dotazy, týkající se kongresu, adresujte na organizační středisko.

ZJIŠŤOVÁNÍ PRODUKCE BETALAKTAMÁZY U KMENŮ *STAPHYLOCOCCUS AUREUS* IZOLOVANÝCH Z MLÉKA KRAV

F. Mazura

MAZURA, F. (Státní veterinární ústav, Pardubice): *Zjišťování produkce betalaktamázy u kmenů Staphylococcus aureus izolovaných z mléka krav.* Veter. Med. (Praha), 35, 1990 (5): 267-274.

U izolovaných kmenů *Staphylococcus aureus* z mléka krav různých chovatelů se porovnávalo stanovení citlivosti na penicilin G standardní diskovou difúzní metodou s jodometrickou metodou testačních papírků na zjišťování produkce betalaktamázy podle Jorgensena. Ze 179 testovaných kmenů jich bylo při difúzním testu určeno 32 (17,8 %) jako dobře citlivých, z nich pak u osmi kmenů (25,0 %) byla prokázána produkce betalaktamázy; 54 kmenů (30,2 %) bylo citlivých. Z této skupiny produkovalo betalaktamázu 27 kmenů (50 %). 93 kmenů (51,9 %) bylo v difúzním testu rezistentních na penicilin G. U 86 (92,5 %) z nich byla zjištěna produkce betalaktamázy a sedm kmenů bylo v tomto testu negativních. Z vyšetřovaných kultur bylo difúzním testem citlivosti určeno celkem 86 kmenů citlivých (48,1 %) a 93 kmenů rezistentních (51,9 %). Betalaktamázu produkovalo 121 kmenů (67,6 %) a u 58 kmenů (32,4 %) nebyla produkce zjištěna. Rozdíly ve výsledcích obou testů se projevily zejména v souboru kmenů označených jako citlivé (průměr inhibiční zóny 24 až 16 mm) a dobře citlivé (průměr zóny nad 25 mm). Z předložených výsledků je zřejmé, že běžně prováděný difúzní test stanovení citlivosti na penicilin G by měl být doplněn testem na zjišťování produkce betalaktamázy. Ověřovaná jodometrická metoda testačních papírků je jednoduchá, rychlá a levná metoda, kterou je možné provádět v každé bakteriologické laboratoři. Zjištěná vysoká rezistence kmenů *S. aureus* na penicilin G dokumentuje, že je toto antibiotikum málo účinné v naší sledované oblasti při léčbě mastitid této etiologie.

betalaktamáza; *Staphylococcus aureus*; citlivost na penicilin G; mastitidy dojníc

Mastitidy dojníc stafylokokové etiologie nabývají stále větší důležitosti, zejména ve stádech, kde se provádí eradikace dojníc s nálezem *Streptococcus agalactiae* (Š k a r d o v á, 1974). Z výsledků bakteriologického vyšetření vzorků mléka ve sledované oblasti vyplývá, že se podíl těchto mikroorganismů na vyvolání mastitid neustále zvyšuje (M a z u r a, 1989).

Při tlumení mastitid má značný význam antimikrobiální terapie (Philpot, 1979; Mazura a Štros, 1985). K léčbě se vzhledem k jejich etiologii nejčastěji používají antibiotika betalaktamového typu, především penicilin G. Předností penicilínu G je jeho nízká toxicita, baktericidní účinek, dobrý průnik do tkání, úzké spektrum účinku a to, že nevykazuje tlumivý vliv na imunitní systém hostitele, spíše jeho činnost podporuje (Hejzlar, aj., 1985; Miller a Hejzlar, 1987).

Bakteriální buňky se chrání proti betalaktamovým antibiotikům zejména produkcí enzymů — betalaktamáz (BL), které hydrolyzují molekulu antibiotika (Krčméry aj., 1986). Betalaktamázy produkují jak

grampozitivní, tak gramnegativní bakterie. Zatímco grampozitivní uvolňují enzym do prostředí, gramnegativní bakterie hromadí tento enzym uvnitř buněk a ke snadšímu průkazu je třeba ho uvolnit porušením buněčné stěny [Urbášková aj., 1985].

První test k průkazu BL popsali Novick a Richmond (1965). Od té doby bylo popsáno několik dalších postupů, např. acidometrická metoda [Rosen aj., 1972], jodometrická metoda [Catlin, 1975] a test chromogenního cefalosporinu [Callaghan aj., 1972].

V roce 1977 Jorgensen aj. popsali jodometrickou metodu testacních papírků, které jsou napuštěny roztoky škrobu a penicilínu. Před použitím je papírek nasycen jódovým preparátem. Mechanismus účinku využívá barevnou reakci škrobu s jódem. Při přidání testovaného kmenu, který produkuje betalaktamázu se papírek v místě inokulace odbarví redukcí jódu na jodid.

Někteří autoři porovnávali několik testů ke zjišťování BL navzájem nebo s tradičním zjišťováním citlivosti mikroorganismů diluční nebo difúzní metodou [Oberhofer a Towle, 1982; Horton aj., 1982; Roy aj., 1984; Hoskins aj., 1985]. Na základě dosažených výsledků doporučují metodu testacních papírků zavést do klinické laboratorní praxe. Metodu doporučují k rychlému zjišťování kmenů rezistentních na penicilín a ampicilín. Test je nejčastěji využíván jako doplňující test při stanovení citlivosti mikroorganismů rodů *Staphylococcus*, *Haemophilus*, *Neisseria* a *Branhamella*.

MATERIÁL A METODA

VYŠETŘOVANÉ KMENY

K testování jsme použili izolované kultury z mléka krav různých chovatelů vyšetřovaného na původce mastitid z okresů Pardubice, Chrudim a Ústí nad Orlicí. K testům jsme použili kmeny určené jako *S. aureus* podle Veterinárních laboratorních vyšetřovacích metodik (1975).

PŘÍPRAVA TESTAČNÍCH PROUŽKŮ

Přípravu testacních papírových proužků jsme prováděli podle Jorgensena aj. (1977). 0,2% roztok škrobu (Polskie odczynniki chemiczne Gliwice) a 1% roztok draselné soli penicilínu G (Spofa) jsme připravili přidáním 0,1 g škrobu do 45 ml sterilní deionizované vody, roztok jsme zahřívali až do rozpuštění škrobu a zchladili. Ke zchlazenému roztoku jsme přidali 5 ml roztoku penicilínu G naředěného na koncentraci 100 000 m. j. na 1 ml.

Připravené proužky z filtračního papíru Whatman č. 3 o rozměrech 50 × 10 mm jsme namočili v připraveném roztoku a nechali vysušit při laboratorní teplotě. Po vysušení jsme proužky uložili do plastových lahví o obsahu 50 ml a skladovali v mrazničce při teplotě -20 °C.

VLASTNÍ TEST

Bezprostředně před použitím jsme testacní papírek nasýtili Lugolovým roztokem, přebytečný roztok nechali odkapat a papírek položili na čisté podložní sklíčko. Na proužek jsme inokulovali plnou kličku testovaného mikroba krouživým pohybem, aby byla pokryta plocha asi 5 mm v průměru.

Každý proužek byl zároveň kontrolován vytypovanými pozitivními a negativními kmeny.

Test byl posuzován jako pozitivní, jestliže inokulované místo během jedné minuty zbělelo a bílá zóna byla jasně zjištělná i na rubu proužku. Test byl negativní, když proužek zůstal fialový nebo nažloutlý na straně inokulace.

I. Porovnání výsledků produkce betalaktamázy u kmenů *Staphylococcus aureus* s difúzním testem citlivosti na penicilín G — Comparison of the results of an assay of beta-lactamase production in *Staphylococcus aureus* strains with a diffusion test of sensitivity to penicillin G

Velikost inhibiční zóny na penicilín G [mm]	Difúzní test citlivosti		Stanovení produkce betalaktamázy			
			pozitivní		negativní	
	<i>n</i>	%	<i>n</i>	%	<i>n</i>	%
nad 25	32	17,88	8	4,47	24	13,41
24—16	54	30,17	27	15,10	27	15,10
pod 16	93	51,95	86	48,05	7	3,91
Celkem	179	100,0	121	67,60	58	32,40

STANOVENÍ CITLIVOSTI NA PENICILÍN G

Stanovení citlivosti jsme prováděli diskovým difúzním testem na krevním agaru při použití Sensi-La-Disků LACHEMA. K testaci jsme použili disky penicilínu G s obsahem 5 m. j. Hodnocení jsme prováděli podle Veterinárních laboratorních vyšetřovacích metodik ÚSVÚ Praha (1975).

VÝSLEDKY

Výsledky stanovení produkce BL jodometrickou metodou testačních papírků ze 179 kmenů *S. aureus* izolovaných z mléka krav ve srovnání s difúzní metodou stanovení citlivosti na penicilín G jsou shrnuty v tab. I.

Ze 179 vyšetřených kmenů jich bylo určeno 32 (17,88 %) jako dobře citlivých (průměr inhibiční zóny nad 25 mm). Z těchto 32 kmenů u 24 nebyla zjištěna produkce BL a u 8 kmenů byl test pozitivní. 54 kmenů bylo určeno v difúzním testu citlivosti na penicilín G citlivých (inhibiční zóna 24 až 16 mm). Z těchto 54 kmenů byla prokázána produkce BL u 27 kmenů a zbývajících 27 kmenů BL neprodukovalo. 93 kmenů *S. aureus* bylo v difúzním testu rezistentních (inhibiční zóna pod 16 mm), z nichž 86 kmenů BL produkovalo a u 7 produkce BL nebyla zjištěna.

Ze 179 vyšetřených kultur *S. aureus* z mléka krav bylo difúzním testem citlivosti určeno 86 kmenů (48,05 %) citlivých a 93 kmenů (51,95 %) rezistentních na penicilín G. Jodometrickou metodou testačních papírků 58 kultur (32,40 %) BL neprodukovalo a 121 kultur (67,60 %) BL produkovalo.

DISKUSE

Správná volba antimikrobiální terapie závisí na množství informací, které má klinik k dispozici. Volba může vycházet z klinické zkušenosti — empirické terapie až po racionální terapii, kdy se klinik opírá o mikrobiologické vyšetření doplněné kvantitativními testy citlivosti a o znalost farmakokinetiky léčiv. I v tomto případě však musíme počítat s určitými diskrepancemi.

Přitom obecně platí, že když testy *in vitro* prokazují rezistenci, jsou spolehlivějším ukazatelem nevhodnosti léčebného použití testovaného preparátu, než když prokazují citlivost.

Ve veterinární praxi při léčbě klinických mastitid klinik z důvodů prodlení většinou vychází z praktických zkušeností a znalostí etiologie a citlivosti původců v daném stádě. Citlivost původců mastitid, zejména stafylokoků, vykazuje v různých stádech velkou variabilitu (Lupke, 1982; Hinckley aj., 1985; Owens a Watts, 1988). Pro jejich účinnou antimikrobiální terapii je proto nutné pravidelně sledovat etiologií a citlivost původců v dané lokalitě.

Citlivost kmenů *S. aureus* vyvolávajících mastitidy dojnic k penicilínu G je také velmi variabilní. Např. Kunter (1975) cituje práce 28 autorů, kteří prokazovali rezistenci od 0,4 do 70,6 % vyšetřených kmenů. V tomto rozmezí se nacházejí i výsledky dalších autorů (Bishop aj., 1980; Davidson aj., 1982; Havelka, 1983; Francis a Carroll, 1986). Naše zjištění 51,95 % rezistentních kmenů se zařazuje do horní poloviny citovaného rozmezí.

V difúzním diskovém testu zjišťování citlivosti, kterým jsou ve většině případů výsledky získány, se můžeme setkat s řadou rozdílů jak v jeho provádění, tak hodnocení. V literatuře jsou uváděny různé průměry inhibičních zón pro stanovení výsledků vyšetření (Oberhofer a Towle, 1982; Roy aj., 1984; Urbášková aj., 1985). Např. kmeny s intermediální zónou inhibice jsou hodnoceny podle našich metodik jako citlivé, zahraniční autoři je však hodnotí jako rezistentní.

Řada autorů doporučuje doplnit tento test při stanovení citlivosti na penicilín a ampicilín o vyšetření na průkaz BL, protože kmeny které produkovaly BL nebyly difúzním nebo dilučním testem citlivosti vždy spolehlivě odhaleny (Gill aj., 1981; Horton aj., 1982; Chapman a Steigbigel, 1983; Roy aj., 1984; Hoskins aj., 1985; Francis a Carroll, 1986). Také v našem souboru 32 kmenů citlivých byla u 8 zjištěna produkce BL. Výsledek se liší od výsledků, které zjistili Oberhofer a Towle (1982) a Owens a Watts (1988). Ti prokázali stoprocentní shodu výsledků obou testů jak u citlivých, tak rezistentních kmenů. Všechny kmeny s intermediální zónou inhibice však v jejich souborech produkovaly BL.

Skutečnost, že u kmenů citlivých *in vitro* byla zjištěna produkce BL není ve výše citované literatuře spolehlivě vysvětlena. Odpověď na tuto otázku musíme hledat ve vzájemném působení antibiotika a mikroorganismu za podmínek testu. Modr aj. (1969) uvádějí, že antimikrobiální účinek penicilínu nastupuje poměrně rychle, po tzv. latentní fázi. Je to doba, která je potřebná k proniknutí antibiotika do buňky. Trvá asi 30 až 60 minut a její délka je nepřímě úměrná koncentraci penicilínu v prostředí. Penicilín již v poměrně nízkých koncentracích působí baktericidně. Při vyšetření citlivosti na penicilín u stafylokoků má velký vliv na výsledek testu množství preformované BL v daném inokulu. Inokula s malým množstvím preformované BL nestačí rozložit antibiotikum a jsou určena jako citlivá, zatímco inokula s větším množstvím preformovaného enzymu jsou rezistentní.

Ericsson a Sherris (1971) našli při mezinárodním srovnání zjišťování citlivosti na antibiotika nejvíce rozdílných výsledků právě při zjišťování citlivosti stafylokoků na penicilín. Rozdíly zdůvodňují především množstvím preformovaného enzymu v inokulu, velikostí inokula

a rychlostí růstu kmenů. Pomalu rostoucí kmeny tvořily větší zóny inhibice. Pro stafylokoky doporučují zvláštní přísnější hodnocení. Uvádějí, že kmeny s MIK větší než $0,1 \mu\text{g} \cdot \text{ml}^{-1}$ téměř vždy produkují BL a můžeme je hodnotit jako rezistentní.

Domníváme se, že příčina rozdílných výsledků obou testů je především v rozdílech inokula. Při stanovení produkce BL pracujeme s několikanásobně větším inokulem, než při stanovení citlivosti.

U kmenů s intermediální zónou inhibice (24 až 16 mm) jsme prokázali produkci BL u 50 % kmenů. Vyšší procenta uvádějí jak Roy aj. (1984) — 90 %, tak Oberhofer a Towle (1982) — 100 % kmenů. Dosažené výsledky podporují skutečnost, že pro tuto skupinu je nejvhodnější hodnocení jako kmeny s intermediální citlivostí. Bez doplňujícího testu na stanovení produkce BL má však toto hodnocení pro klinika malou diagnostickou hodnotu. Je proto správnější, podobně jako zahraniční autoři, tyto kmeny považovat za rezistentní, než riskovat neúčinnou léčbu.

Ze souboru 93 kmenů rezistentních k penicilínu G jsme u 86 prokázali produkci BL, ale u 7 (7,5 %) bylo stanovení negativní. Protože jsme při našem vyšetření neprováděli opakované stanovení BL po indukci, může se jednat o tzv. induktivní kmeny, jak uvádějí Iravani a Richard (1982 — cit. Roy aj., 1984). Tyto kmeny vyžadují pro vytvoření enzymu indukci. Za dobré induktory jsou považovány především semisyntetické penicilíny v subinhibičních koncentracích, které jsou dosud rezistentní na hydrolýzu BL. Technicky se to provádí tak, že z izolované kultury se provede stanovení produkce BL a stanovení citlivosti difúzní metodou. U negativních kmenů se po 24 hodinách vyšetření na produkci BL opakuje. Pro stanovení se odebírá porost kultury z misky, na které byla provedena zkouška citlivosti z míst bezprostředně navazujících na zónu inhibice na oxacilín.

Craven aj. (1986) našli pouze 2 ze 74 pozitivních kmenů, které vyžadovaly indukci. Vyšší procento však uvádějí Frost a O'Boyle (1981 — cit. Craven aj., 1986) a Owens a Watts (1988) u koaguláza negativních stafylokoků. Je však nutno počítat i s jinými mechanismy vzniku rezistence, než je produkce BL (Hejzlar, 1978; Roy aj., 1984). Proto je nutno považovat stanovení BL pouze za doplněk dilučního nebo difúzního testu stanovení citlivosti.

V našem souboru 67,6 % kmenů *S. aureus* produkovalo BL. Výsledek se shoduje s údaji, které publikovali Jones a Heath (1985) a Craven aj. (1986) z Anglie. Ti prokázali produkci u 66,1 a 69,8 % kmenů z bovinních mastitid. Craven aj. (1986) citují práce Mc Donalda a Andersona (1981), kteří v USA zjistili 74 % kmenů produkujících BL, zatímco Franklin aj. (1983) ve Švédsku uvádějí pouze 10 % izolátů produkujících BL. Lupke (1982) v NSR prokázal 30 % kmenů produkujících BL. Navzdory širokému používání betalaktamových antibiotik k léčbě mastitid ve sledované oblasti USA našli Owens a Watts (1988) pouze 7 % kmenů *S. aureus* produkujících BL. Uvádějí, že se toto procento od roku 1969 téměř nezměnilo. Tento výsledek prakticky odpovídá zjišťované přirozené rezistenci stafylokoků z doby před zavedením penicilínu do klinické praxe (Modr aj., 1969).

Protože jsme v naší práci neprováděli u negativních kmenů opakované vyšetření po indukci, lze předpokládat na základě údajů v literatuře mírně vyšší procento pozitivity.

Rozdílly ve výsledcích difúzního testu citlivosti s produkci BL podporují názor citovaných autorů, že je vhodné test citlivosti na penicilin G a ampicilin doplnit o test ke zjišťování produkce BL. Ve shodě s literaturou můžeme potvrdit, že jodometrická metoda testačních papírků je rychlá, jednoduchá a levná metoda, kterou je možné provádět v každé bakteriologické laboratoři (Oberhofer a Towle, 1982; Hoskins aj., 1985). Protože při delším skladování testačních papírků dochází ke ztrátě jejich citlivosti, zdůrazňujeme nutnost provádět pozitivní a negativní kontroly se známými kmeny.

Zjištěná vysoká rezistence kmenů *S. aureus* z mléka krav na penicilin G indikuje, že je toto antibiotikum proti mastitidám vyvolaným tímto druhem ve sledované oblasti málo účinné.

Literatura

- BISHOP, J. R. — BODINE, A. B. — JANZEN, J. J.: Sensitivities to antibiotics and seasonal occurrence of mastitis pathogens. *J. Dairy Sci.*, 63, 1980, s. 1134-1137.
- CALLAGHAN, C. H. — MORRIS, A. — KIRBY, S. M. — SHINGLER, A. H.: Novel method for detection of beta-lactamases by using a chromogenic cephalosporin substrate. *Antimicrob. Agents and Chemother.*, 1, 1972, s. 283-288.
- CATLIN, B. W.: Iodometric detection of *Haemophilus influenzae* betalactamase: rapid presumptive test for ampicillin resistance. *Antimicrob. Agents and Chemother.*, 7, 1975, s. 265-270.
- CRAVEN, N. — ANDERSON, J. C. — JONES, T. O.: Antimicrobial drug susceptibility of *Staphylococcus aureus* isolated from bovine mastitis. *Veter. Rec.*, 118, 1986, s. 290-291.
- DAVIDSON, J. N. — BABISH, J. G. — DUNNY, G. M.: Bovine mastitis: antimicrobial resistance patterns. *JAVMA*, 180, 1982, s. 153-155.
- ERICSSON, H. M. — SHERRIS, J. C.: Antibiotic sensitivity testing. Report of an international collaborative study. *Acta path. microbiol. scand., Sect. B*, 1971, s. 3-90.
- FRANCIS, P. G. — CARROLL, P. J.: Antibiotic resistance patterns of *Staphylococcus aureus* strains isolated from clinical bovine mastitis. *Veter. Rec.*, 118, 1986, s. 361-363.
- GILL, V. J. — MANNING, C. B. — INGALLS, C. M.: Correlation of penicillin minimum inhibitory concentrations and penicillin zone edge appearance with staphylococcal beta-lactamase production. *J. clin. microbiol.*, 14, 1981, s. 437-440.
- HAVELKA, B.: Rezistencia nejčastějších bakteriálních původců mastitid dojníc voči antibiotikám za obdobie rokov 1979—1981. *Biol. chem. Veter. (Praha)*, 19, 1983, s. 269-275.
- HEJZLAR, M.: Vznik a mechanismy rezistence mikroorganismů na antibiotika. *Čas. Lék. čes.*, 117, 1978, č. 3, s. 71-74.
- HEJZLAR, M. a kol.: *Vademekum antibiotické terapie*. 1. vyd. Praha, Avicenum 1985. 362 s.
- HINCKLEY, L. S. — BENSON, R. H. — POST, J. E. — DeCLOUX, J. C.: Antibiotic susceptibility profiles for mastitis treatment. *JAVMA*, 187, 1985, s. 709-711.
- HORTON, K. A. — JENNINGS, B. R. — BASELSKI, V. S.: Beta-lactamase testing of staphylococci in a commercial broth microdilution minimum inhibitory concentration system. *J. clin. microbiol.*, 16, 1982, s. 406-407.
- HOSKINS, J. D. — NEWMAN, S. S. — ROY, A. F. — FOIL, C. S. — COX, H. V.: Detection of beta-lactamase produced by *Staphylococcus intermedius*. *Am. J. veter. Res.*, 46, 1985, s. 1526-1528.
- CHAPMAN, S. W. — STEIGBIGEL, R. T.: Staphylococcal beta-lactamase and efficacy of beta-lactam antibiotics: *in vitro* and *in vivo* evaluation. *J. infect. Diseases*, 147, 1983, s. 1078-1089.
- JONES, T. O. — HEATH, P. J.: Beta-lactamase production in *Staphylococcus aureus* isolated from bovine mastitis milk. *Veter. Rec.*, 117, 1985, s. 340.
- JORGENSEN, J. H. — LEE, J. C. — ALEXANDER, G. A.: Rapid penicillinase paper strip test for detection of beta-lactamase producing *Haemophilus influenzae* and *Neisseria gonorrhoeae*. *Antimicrob. Agents and Chemother.*, 11, 1977, s. 1087-1088.
- KRČMĚRY, V. — MENKYNA, R. — HAVLÍK, J.: *Penicilíny a cefalosporíny*. 1. vyd. Martin, Osveta 1986. 272 s.

- KUNTER, E.: Zur Antibiotika- und Chemotherapeutikempfindlichkeit von Mastitissergen. Arch. exp. Veter.-Med., 29, 1975, č. 1, s. 1-32.
- LUPKE, H.: Untersuchungen zur Staphylokokken — Mastitis. Berl. Munch. tierärztl. Wschr., 95, 1982, s. 433-435.
- MAZURA, F. — ŠTOS, K.: Zkušenosti s léčbou mastitid u dojníc v době stání na suchu přípravky Oxaclen foam a Tetra-Delta. Veterinářství, 35, 1985, s. 455-456.
- MAZURA, F.: Bakteriologické nálezy ze vzorků mléka krav vyšetřených na původce mastitid. Veter. Med. (Praha), 34, 1989, s. 149-156.
- MILER, I. — HEJZLAR, M.: Vliv antibiotik na imunitu. Prakt. Lékař, 67, 1987, s. 681-685.
- MODR, Z. — HERMANŠKÝ, M. — VLČEK, V.: Antibiotika a jejich léčivé formy. 2. vyd. Praha, SZN 1969. 844 s.
- NOVICK, R. P. — RICHMOND, M. H.: Nature and interactions of the genetic elements governing penicillinase synthesis in *Staphylococcus aureus*. J. Bact., 90, 1965, s. 467-480.
- OBERHOFER, T. R. — TOWLE, D. W.: Evaluation of the rapid penicillinase paper strip test for detection of beta-lactamase. J. clin. microbiol., 16, 1982, s. 196-199.
- OWENS, W. E. — WATTS, J. L.: Antimicrobial susceptibility and beta-lactamase testing of staphylococci isolated from dairy herds. J. Dairy Sci., 71, 1988, s. 1934-1939.
- PHILPOT, W. N.: Control of mastitis by hygiene and therapy. J. Dairy Sci., 62, 1979, s. 168-176.
- ROSEN, I. G. — JACOBSON, J. — RUDDERMAN, R.: Rapid capillary tube method for detecting penicillin resistance in *Staphylococcus aureus*. Appl. Microbiol., 23, 1972, s. 649-650.
- ROY, A. F. — NEWMAN, S. S. — COX, H. U. — HOSKINS, J. D.: Effect of beta-lactamase of *Staphylococcus intermedius* on disk agar diffusion susceptibility tests. Cornell Veter., 74, 1984, s. 354-360.
- ŠKARDOVÁ, O.: Stafylokokové mastitidy dojníc. Stud. Inform. ÚVTIZ, Praha 1974. 43 s.
- URBAŠOVÁ, P. aj.: Vyšetření pro antimikrobiální terapii. Praha, Avicenum 1985. 150 s.
- Veterinární laboratorní vyšetřovací metodiky. 1. vyd., ÚSVÚ Praha a ÚSVÚ Bratislava, 1975.

Došlo dne 22. 5. 1989

МАЗУРА, Ф. (Государственный ветеринарный институт, Пардубице): **Определение продукции бета-лактамазы у штаммов *Staphylococcus aureus* изолированных из коровьего молока.** Veter. Med. (Praha), 35, 1990 (5): 267-274.

У изолированных штаммов *Staphylococcus aureus* из молока коров разных животноводов сравнивалось определение чувствительности по отношению пенициллина G стандартным дисковым диффузионным методом с йодометрическим методом реактивной бумаги на определении продукции бета-лактамазы по Йоргенсену. Из 179 аттестированных штаммов в случае диффузионного теста их было определено 32 (17,8 %) как хорошо чувствительных, из них затем у восьми штаммов (25,0 %) была подтверждена продукция бета-лактамазы. 54 штаммов (30,2 %) определили как чувствительные. Из этой группы бета-лактамазу продуцировало 27 штаммов (50 %). 93 штаммов (51,9 %) в диффузионном тесте по отношению пенициллина G были резистентных. У 86 (92,5 %) из них была определена продукция бета-лактамазы и семь штаммов в этом тесте были отрицательных. Из обследованных культур диффузионным тестом чувствительности было в целом определено 86 штаммов чувствительных (48,1 %) и 93 штаммов резистентных (51,9 %). Бета-лактамазу продуцировал 121 штамм (67,6 %) у 53 штаммов (32,4 %) продукцию не установили. Разницы в результатах обоих тестов проявились в основном в совокупности штаммов, обозначенных как чувствительные (среднее зоны ингибиции 24—16 мм) и хорошо чувствительные (среднее зоны выше 25 мм). По полученным данным очевидно, что обычно проводимый диффузионный тест определения чувствительности по отношению пенициллина G бы следовало дополнить тестом по определению продукции бета-лактамазы. Проверяемый йодометрический метод реактивной бумаги простой, быстрый и дешевый. Его можно проводить в каждой бактериологической лаборатории. Установленная высокая резистентность штаммов *Staphylococcus aureus* по отношению пенициллина G подтверждает, что данный антибиотик мало эффективен в нами изучаемой области при лечении маститов этой этиологии.

бета-лактамаза; *Staphylococcus aureus*; чувствительность по отношению пенициллина G; маститы дойных коров

MAZURA, F. (State Veterinary Institute, Pardubice): *Determination of beta-lactamase production in Staphylococcus aureus strains isolated from cow's milk*. Veter. Med. (Praha), 35, 1990 (5) : 267-274.

Determination of sensitivity to penicillin G by a standard disk assay diffusion method was compared with a iodometric method of test papers to determine beta-lactamase production after Jorgensen in *Staphylococcus aureus* strains isolated from cow's milk from different farms. Out of 179 test strains, 32 strains (17.8 %) were found to be well sensitive in the diffusion test; eight of these strains (25.0 %) were demonstrated to produce beta-lactamase. 54 strains (30.2 %) were sensitive. 27 strains (50 %) of this group produced beta-lactamase. 93 strains (51.9 %) were resistant to penicillin G in the diffusion test. 86 strains (92.5 %) were found to produce beta-lactamase and seven strains were negative in this test. Using the diffusion test of sensitivity in these cultures, 86 strains were sensitive (48.1 %) and 93 strains were resistant (51.9 %). Beta-lactamase was produced by 121 strains (67.6 %) and no beta-lactamase production was recorded in 58 strains (32.4 %). Differences in the results of both tests were manifest mainly in the set of strains qualified as sensitive (inhibition zone diameter 24 to 16 mm) and well sensitive (inhibition zone diameter larger than 25 mm). The results indicate that the currently performed diffusion test of sensitivity to penicillin G should be accompanied by an assay of beta-lactamase production. The iodometric method of test papers is simple, rapid and cheap and can be made in any bacteriological laboratory. The high resistance of *Staphylococcus aureus* strains to penicillin G documents that this antibiotic is little efficient in the treatment of mastitis of this etiology in the given region.

beta-lactamase; *Staphylococcus aureus*; sensitivity to penicillin G; mastitis of dairy cows

MAZURA, F. (Staatliches Veterinärinstitut, Pardubice): *Ermittlung der Beta-Laktamase-Produktion bei aus Kuhmilch isolierten Stämmen des Staphylococcus aureus*. Veter. Med. (Praha), 35, 1990 (5) : 267-274.

Bei aus der Kuhmilch von verschiedenen Züchtern isolierten *Staphylococcus aureus*-Stämmen wurde die Bestimmung der Sensibilität zu G-Penicillin mittels der Standard-Plattendiffusionsmethode mit der jodometrischen Methode der Testpapierstreifen für die Ermittlung von Beta-Laktamase laut Jorgensen, verglichen. Von 179 getesteten Stämmen wurden anhand des Diffusionstests 32 (17,8 %) Stämme als gut sensibel bestimmt, bei acht Stämmen unter ihnen (25,0 %) wurde die Produktion von Beta-Laktamase nachgewiesen. 54 Stämme (30,2 %) wurden als sensibel definiert. Aus dieser Gruppe produzierten die Beta-Laktamase 27 Stämme (50 %). 93 Stämme (51,9 %) erwiesen sich im Diffusionstest auf G-Penicillin als resistent. Bei 86 (92,5 %) von ihnen wurde die Produktion der Beta-Laktamase festgestellt und sieben Stämme waren in diesem Test negativ. Von den untersuchten Kulturen wurden anhand des Diffusionstests der Sensibilität insgesamt 86 Stämme (48,1 %) als sensibel und 93 Stämme (51,9 %) als resistent bestimmt. 121 Stämme (67,6 %) produzierten die Beta-Laktamase, bei 58 Stämmen (32,4 %) wurde die Produktion nicht festgestellt. Die Unterschiede der Ergebnisse dieser beiden Tests kamen insbesondere in der Kollektion der als sensibel (Durchmesser der Inhibitionszone 24 bis 16 mm) und der als gut sensibel bezeichneten Stämme (Zonendurchmesser mehr als 25 mm) zum Ausdruck. Aus den vorliegenden Ergebnissen ist ersichtlich, daß der geläufig angewandte Diffusionstest zur Bestimmung der Sensibilität zu G-Penicillin durch den Test zur Ermittlung der Beta-Laktamaseproduktion ergänzt werden sollte. Die geprüfte jodometrische Methode der Testpapierstreifen ist eine einfache, rasche und billige Methode, die in jedem Labor angewendet werden kann. Die festgestellte hohe Resistenz der *Staphylococcus aureus*-Stämme gegenüber G-Penicillin dokumentiert, daß dieses Antibiotikum bei der Behandlung von Mastitiden dieser Ätiologie in dem von uns studierten Gebiet wenig wirksam ist.

Beta-Laktamase; *Staphylococcus aureus*; Sensibilität zu G-Penicillin; Mastitis der Kühe

Adresa autora:

MVDr. František M a z u r a, Státní veterinární ústav, Štrossova 239, 530 03 Pardubice

AKTIVITA ALKALICKÉ FOSFATÁZY V POHÁRKOVÝCH BUŇKÁCH TENKÉHO STŘEVA SELAT EXPERIMENTÁLNĚ INFIKOVANÝCH KOKCIDIÍ *ISO S P O R A S U I S*

M. Kudweis, Z. Lojda, I. Juliš, J. Vítovec, B. Koudela

KUDWEIS, M. — LOJDA, Z. — JULIŠ, I. — VÍTOVEC, J. — KOUDELA, B. (Parazitologický ústav ČSAV, České Budějovice; Laboratoř pro histochemii při lékařské fakultě Univerzity Karlovy, Praha): *Aktivita alkalické fosfatázy v pohárkových buňkách tenkého střeva selat experimentálně infikovaných kokciidii Isospora suis*. Veter. Med. (Praha), 35, 1990 (5) : 275-284.

V tenkém střevě 16 gnotobiotických selat infikovaných jeden den po porodu (dále DPP) odlišnou dávkou oocyst kokcidie *Isospora suis* jsme studovali aktivitu alkalické fosfatázy (EC. 3.1.3.1.) v pohárkových buňkách. Zjistili jsme, že při vysoké infekční dávce oocyst *I. suis* (750 000) jsou pohárkové buňky silně pozitivní na alkalickou fosfatázu v období 3. až 4. den po infekci (dále DPI). U selat infikovaných nízkou infekční dávkou oocyst *I. suis* (100 000) jsme aktivitu alkalické fosfatázy v pohárkových buňkách prokázali v období 4. až 10. DPI. U prvé skupiny selat převažovaly pozitivní pohárkové buňky v oblasti středního jejunu, s maximem 4. DPI. U druhé skupiny selat v zadním jejunu s výrazným vzestupem aktivity alkalické fosfatázy v pohárkových buňkách 4. až 5. DPI a 10. DPI. U kontrolních gnotobiotických selat ve věku dvou až sedmi dnů jsme alkalickou fosfatázu v pohárkových buňkách neprokázali.

alkalická fosfatáza; experimentální infekce; pohárkové buňky; diferenční proces buněk střevní sliznice; *Isospora suis*

Patologií a patogenézí experimentálních infekcí selat kokciidii *Isospora suis* se zabývali Stuart aj. (1982), Robinson aj. (1983), Harleman a Meyer (1984—1985) a Vítovec a Koudela (1990). Patologické změny při spontánní infekci kokciidii *I. suis* u gnotobiotických a konvenčních selat se mohou vyskytovat v celém tenkém střevě, těžší jsou však nálezy ve středním a zadním jejunu a v ileu (S a n f o r d, 1983; J o n e s aj., 1985). V experimentech má choroba bifázický průběh a histopatologické změny charakterizují především atrofie klků a nekróza epitelu (H a r l e m a n a M e y e r, 1985).

Numerická úroveň pohárkových buněk a histochemie sliznice tenkého střeva během experimentální infekce gnotobiotických a konvenčních selat kokciidii *I. suis* byla studována již dříve (K u d w e i s aj., 1989a, b, c). Nález aktivity alkalické fosfatázy v pohárkových buňkách u gnotobiotických a konvenčních selat experimentálně infikovaných kokciidii *I. suis* popsali K u d w e i s aj. (1989b) a K u d w e i s a L o j d a (1989). Histochemií fyziologických pohárkových buněk se zabýval zejména L o j d a (1967, 1974). Lokalizaci a aktivitu alkalické fosfatázy ve sliznici tenkého střeva v období postnatálního vývoje studovali u selat

Holman (1963) a Konopacka (1955), u telat Asari (1987), Landsverk (1980, 1981) a Stiglmaier-Herbová aj. (1986).

Již dříve bylo upozorněno na předpokládaný zásah do diferenciačního procesu v kryptách tenkého střeva gnotobiotických a konvenčních selat experimentálně infikovaných kokcií *I. suis* (Kudweis aj., 1989a). Tato studie potvrzuje oprávněnost této domněnky a dokazuje, že enteroblast krypt tenkého střeva prodělává v době alterace i regenerace sliznic tenkého střeva patologickou diferenciací, která má za následek produkci pohárkových buněk, zásadně histochemicky odlišných od fyziologické normy.

MATERIÁL A METODA

Přehled zpracovaného materiálu je uveden v tab. I. Příprava gnotobiotických selat, způsob infekce a získání materiálu byl popsán dříve (Kudweis aj., 1989a, c). Po utracení a odběru tkáně byly vzorky vloženy na tři hodiny do vychlazené aldehydové fixáže a potom vyprány ve všech lázních v 5% sacharóze, v každé lázni po 10 minutách. Takto připravená tkáň byla zalita do parafínu zkráceným způsobem (Lojda a Papoušek, 1978).

I. Přehled zpracovaného materiálu — A survey of the processed material

Skupina	Sele	Infekce v DPP	Utracení v DPP	Věk
I*	ISG 14	1	1	2
	ISG 16	1	2	3
	ISG 18	1	3	4
	ISG 22	1	4	5
II**	ISG 19	1	3	4
	ISG 20	1	3	4
	ISG 23	1	4	5
	ISG 11	1	5	6
	ISG 24	1	5	6
	ISG 25	1	6	7
	ISG 26	1	6	7
	ISG 12	1	7	8
	ISG 13	1	8	9
	ISG 15	1	9	10
	ISG 17	1	10	11
	ISG 21	1	11	12
III***	K 1	0	0	2
	K 2	0	0	3
	K 3	0	0	5
	K 4	0	0	7

* infekční dávka 750 000 oocyst

** infekční dávka 100 000 oocyst

*** kontrolní zvířata

Substrát*	Sůl*	pH	Teplota	Inkubace**
Naphthol-AS-TR-phosphat 8 mg	Fast Blue RR 30 mg	5,2	37 °C	30
Naphthol-AS-BI-phosphat 5 mg	Fast Blue BB 40 mg	8,0	37 °C	60
Naphthol-AS-MX-phosphat 4 mg	Fast Blue BB 20 mg	9,2	37 °C	50
Naphthol-AS-BO-phosphat 10 mg	Fast Blue RR 20 mg	7,8	37 °C	30
Naphthol-AS-D-phosphat 10 mg	Fast Red Violet LB 10 mg	8,2	37 °C	60

* substráty a diazoniové sole fy Fluka

** inkubace v minutách

Pro průkaz aktivity alkalické fosfatázy na řezech silných 5 až 7 μm bylo použito metody, kterou uvádějí Lojda aj. (1979). Řezy jsme inkubovali v prostředí s fosfáty naftolů řady — AS. Pro hodnocení jsme jako nejvhodnější zvolili řezy inkubované v médiu s Naphthol-AS-MX-phosphatem, u kterých jsme dosáhli nejvýraznějšího zbarvení reakčního produktu s jeho minimálním prostupem do okolní tkáně. Metodika detekce aktivity alkalické fosfatázy je popsána v tab. II. Hodnotili jsme průkaz pozitivní alkalické fosfatázy v pohárkových buňkách, který jsme ve srovnání s negativním nálezem (—) u kontrolních selat označili jako negativní (—), středně pozitivní (++) a silně pozitivní (++++) u selat experimentálně infikovaných.

VÝSLEDKY

Vysoký počet pohárkových buněk pozitivních na alkalickou fosfatázu jsme nalézali v celém tenkém střevu, zejména v jejunu. Přehled získaných výsledků je uveden v tab. III.

U selat, infikovaných vysokou dávkou oocyst kokcidie *I. suis* (750 000 oocyst) jsme prokázali pohárkové buňky silně pozitivní na alkalickou fosfatázu 3. až 4. den po infekci (DPI). Byly v celém tenkém střevě, nejhojněji však ve středním jejunu. Aktivita alkalické fosfatázy dosahovala poněkud vyšších hodnot 4. DPI a byla shodná ve všech pozitivních pohárkových buňkách (obr. 1).

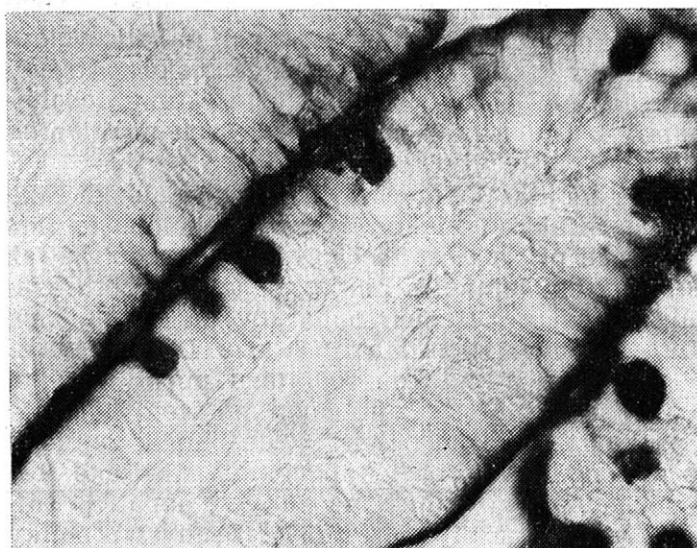
Pozitivní pohárkové buňky na alkalickou fosfatázu jsme nalézali také u selat infikovaných nízkou infekční dávkou oocyst kokcidie *I. suis* (100 000 oocyst). Prokázali jsme přítomnost těchto buněk v období 4. až 10. DPI, zejména v oblasti zadního jejunu, s poklesem jejich počtu kraniálním směrem. Maximální počet pozitivních pohárkových buněk jsme zjistili 4. až 5. DPI a 10. DPI. Ve zbývajících dnech (6. až 9. DPI) se počet pozitivních pohárkových buněk na alkalickou fosfatázu mírně snižuje, ale intenzita aktivity se výrazně nemění. Zajímavým nálezem v tomto období (6. až 9. DPI) je průkaz dvou typů pohárkových buněk, zejména v oblasti celého jejunu, s odlišnou aktivitou a topochemií alkalické fosfatázy (obr. 2). První forma pohárkové buňky má aktivitu nepatrně sníženou a pravidelně rozloženou v celém prostoru buňky. Druhý typ buňky

III. Pozitivita alkalické fosfatázy pohárkových buněk v jejunu — The positivity of alkaline phosphatase of goblet cells in jejunum

Skupina	DPP _{in} *	DPI _u **	Střední jejunum	Zadní jejunum
I	1	1	++	++
	1	2	++	++
	1	3	++/++++	++/++++
	1	4	++++	++
II	1	3	++	++
	1	3	++	++
	1	4	++	++++
	1	5	++++	++++
	1	5	++++	++++
	1	6	++/++++	++/++++
	1	6	++	++/++++
	1	7	++	++
	1	8	++	++/++++
	1	9	++	++/++++
	1	10	++	++++
	1	11	++	++/++++
III	K1 — K4		—	—

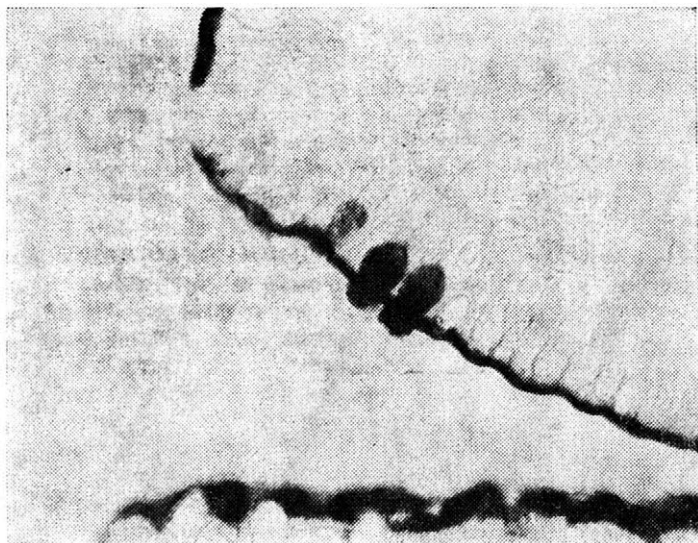
* infekce ve dnech po porodu

** utravení ve dnech po infekci

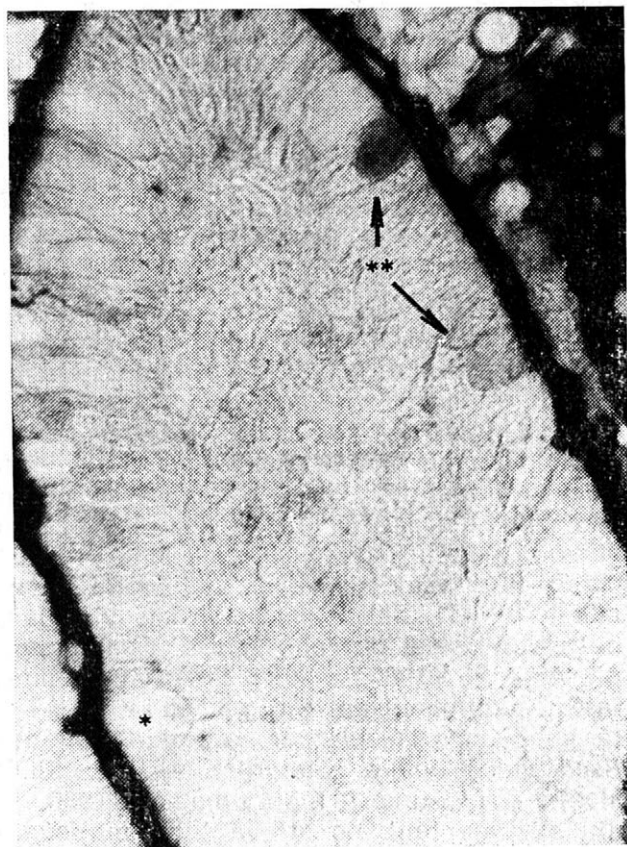


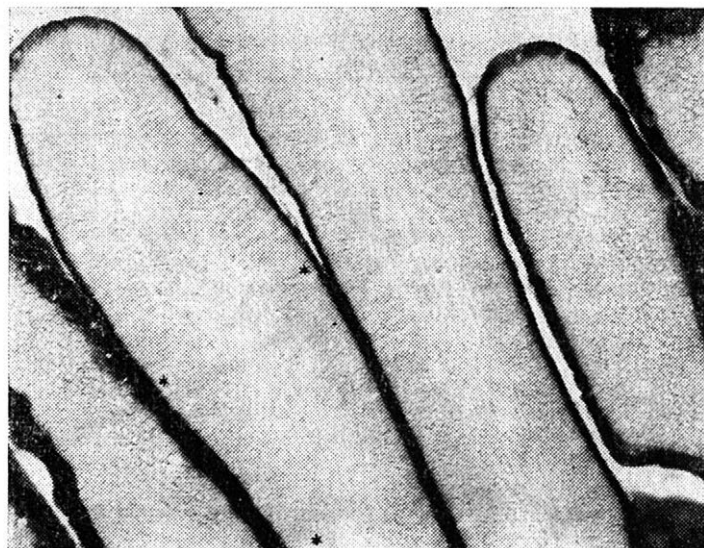
1. Pozitivní pohárkové buňky na alkalickou fosfatázu. Intenzita aktivity alkalické fosfatázy je shodná ve všech buňkách; sele ISG 22, střední jejunum; reakce na alkalickou fosfatázu (zvětšení 140X) — Positive reaction of goblet cells to alkaline phosphatase. The intensity of alkaline phosphatase activity is identical in all cells; piglet ISG 22, middle part of jejunum; reaction to alkaline phosphatase activity (enlarged 140X)

2. Pohárkové buňky s různou intenzitou aktivity alkalické fosfatázy; sele ISG 12, zadní jejunum; reakce na alkalickou fosfatázu (zvětšení 140X) — Goblet cells with different intensity of alkaline phosphatase activity; piglet ISG 12, posterior part of jejunum; reaction to alkaline phosphatase (enlarged 140X)



3. Vzájemná koexistence fyziologických (*) a patologicky diferencovaných pohárkových buněk s pozitivitou alkalické fosfatázy (**); sele ISG 24, střední jejunum; reakce na alkalickou fosfatázu (zvětšení 160X) — The coexistence of physiological (*) and pathologically differentiated goblet cells with the positivity of alkaline phosphatase (**); piglet ISG 24, middle part of jejunum; reaction to alkaline phosphatase (enlarged 160X)





4. Sliznice tenkého střeva (zadní jejunum) při reakci na alkalickou fosfatázu u kontrolního selate ve věku pět dnů (K 3); pohárkové buňky jsou na alkalickou fosfatázu negativní (*); reakce na alkalickou fosfatázu (zvětšení 100X) — The intestinal mucosa (posterior part of jejunum) at a reaction to alkaline phosphatase in a control piglet at the of five days (K 3); the goblet cells react negatively to alkaline phosphatase (*); reaction to alkaline phosphatase (enlarged 100X)

je silně pozitivní na alkalickou fosfatázu s převahou aktivity v apikální části (supranukleární až paranukleární oblasti) a poněkud nižší aktivitou v bazální části (infranukleární oblasti) buňky.

V duodenu a ileu byl počet pozitivních pohárkových buněk na alkalickou fosfatázu ve srovnání s jejunem nižší, s intenzitou pozitivity ++ až +++++. U obou skupin jsme v celém tenkém střevu prokázali současný výskyt negativních (fyziologických) a pozitivních pohárkových buněk na alkalickou fosfatázu (obr. 3). U první skupiny to bylo zejména 3. DPI, u druhé skupiny 4. až 5. DPI a 10. DPI. Pohárkové buňky sliznice tenkého střeva kontrolních selat ve věku dvou až sedmi dnů byly na alkalickou fosfatázu ve všech úsecích tenkého střeva negativní (obr. 4).

DISKUSE

Histochemie a topochemie pohárkových buněk je známá již poměrně dlouho (Lojda, 1967). Doplnění znalostí o histochemii pohárkových buněk provedl Lojda (1974). Pohárkové buňky obsahují celou řadu enzymů, které jsou totožné s enzymy enterocytů a také s enzymy nediferencovaných buněk krypt (Lojda, 1967, 1974). Prokázat aktivitu alkalické fosfatázy ve fyziologických pohárkových buňkách se nepodařilo (Lojda, 1974). První důkaz o přítomnosti alkalické fosfatázy ve sliznici tenkého střeva selate podala Konopacká (1955). Pohárkové buňky byly však na alkalickou fosfatázu negativní. Stejně tak i Holman (1963) alkalickou fosfatázu v pohárkových buňkách sliznice jednotlivých úseků tenkého střeva u selat neprokázal. Obdobné závěry učinil Asari (1987) u telat. Pozitivní pohárkové buňky na alkalickou fosfatázu nepopisují ani Stiglmair — Herbová aj. (1986) ve sliznici tenkého střeva telat, experimentálně infikovaných enterotoxigenním *Escherichia coli* a rotavirem. Aktivitu sledovali do 3. DPI. Shodné výsledky uvádí také Landsverk (1980, 1981) při histochemickém studiu sliznice tenkého střeva telat majících etiologicky nejasný průjem.

Na vysokou aktivitu alkalické fosfatázy upozorňují poprvé Kudweis aj. (1989b) u konvenčních selat experimentálně infikovaných kokcidii *I. suis* a Kudweis a Lojda (1989) u gnotobiotických selat infikovaných stejnou kokcidii.

U gnotobiotických a konvenčních selat infikovaných kokcidii *I. suis* bylo zjištěno minimálně devítidenní trvání patogeneze kokcidie *I. suis* s dvojitou alterací sliznice tenkého střeva. První alterace byla nalezena 3. a 4. DPI a druhá fáze alterativních změn 8. až 9. DPI. Na obě fáze alterace sliznice tenkého střeva plynule navazují reparativní a regenerační procesy, které probíhají 5. až 7. DPI a 10. až 12. DPI (Vítovec a Koudela, 1990). Těžiště protozoární infekce a patologických změn v celém tenkém střevě se v průběhu patogeneze posouvá směrem kraniálním. V první fázi infekce (3. až 7. DPI, resp. 8. DPI) jsou nejtěžší patologické změny v oblasti zadního jejunu. Ve druhé fázi isosporové infekce (8. DPI, resp. 9. až 12. DPI) jsou nejvýznamnější změny ve středním jejunu (Vítovec a Koudela, 1990).

Vysvětlit nález aktivity alkalické fosfatázy v pohárkových buňkách není jednoduché. Přímoú závislost na topografickém posunu patologického procesu kraniálním směrem a výskytem pozitivních pohárkových buněk na alkalickou fosfatázu se nám nepodařilo prokázat.

Jsme toho názoru, že současný nález a nález již popsany (Kudweis aj., 1989b; Kudweis a Lojda, 1989) průkaz přítomnosti pozitivních pohárkových buněk na alkalickou fosfatázu ve sliznici tenkého střeva gnotobiotických a konvenčních selat experimentálně infikovaných kokcidii *I. suis* je potvrzením předpokladu, že dochází k ovlivnění diferenciačního procesu v době infekce (Kudweis aj., 1989a). Průkaz vysokého počtu těchto pozitivních pohárkových buněk 3. až 4. DPI je v časové shodě s první alterativní fází a s počátkem druhé fáze reparativních a regeneračních změn (Vítovec a Koudela, 1990). Naopak v době reparace a regenerace (zejména jejich první fáze) se počet pozitivních pohárkových buněk na alkalickou fosfatázu snižuje, aniž by se v těchto buňkách výrazně měnila intenzita aktivity alkalické fosfatázy. Domníváme se, že diferenciační proces není parazitárním onemocněním blokován, ale že naopak probíhá intenzivněji. Maximální intenzitu diferenciačního procesu předpokládáme zejména v době alterativních fází. Dochází ke značně urychlené produkci buněk sliznice a k současnému uvolňování enterocytů, fyziologických a ne zcela vyžrálých pohárkových buněk. Jsme toho názoru, že pohárková buňka s pozitivitou alkalické fosfatázy je buňka intermediálního stadia mezi enterocytem a pohárkovou buňkou. Vysvětlení spatřujeme ve znalosti histochemie enterocytu a enteroblastu. Enterocyt je na alkalickou fosfatázu bohatý, kdežto enteroblast (nediferencovaná buňka krypt) alkalickou fosfatázu neobsahuje (Lojda, 1967). Teprve v pokročilem stadiu diferenciace, téměř při přechodu buňky na povrch klku (tj. v době nejmladšího stadia enterocytu) je na alkalickou fosfatázu slabě pozitivní (Lojda, 1974).

Předpokládáme, že v pohárkových buňkách s pozitivitou alkalické fosfatázy nedochází k úplné funkční a genetické specializaci pro fyziologickou pohárkovou buňku a zřejmě u ní nastává v době urychlené diferenciace represe příslušného genového fondu (blokování syntézy mRNK specifického operonu).

Domníváme se, že přesnou odpověď na histochemickou charakteristiku pohárkových buněk s pozitivitou alkalické fosfatázy přinese podrobné denzitometrické studium jednotlivých forem pohárkových buněk, které se nacházejí v době alterace a regenerace na povrchu sliznice tenkého střeva. Použitá metodika k vyhodnocení střevní sliznice v době akutní isosporózy potvrzuje zásah do diferenciačního procesu v kryptách a je současně novým poznatkem o složení buněčné populace sliznice tenkého střeva v průběhu experimentální infekce selat kokcií *I. suis*. Práce podává i další potvrzení, že bez ohledu na topografickou lokalizaci patologického procesu je při experimentální infekci selat kokcií *I. suis* funkčně postiženo celé tenké střevo.

Poděkování

Autoři děkují vedení Výzkumného ústavu veterinárního lékařství v Brně za to, že jim umožnili uskutečnit experimentální část práce na gnotobiotických selatech v prostorách ústavu. Současně děkují za velmi pečlivé zpracování materiálu Mar ketě Jakubcové, pracovníci Parazitologického ústavu ČSAV v Českých Budějovicích a Josefu Poncarovi za kvalitní technické vypracování fotodokumentace, pracovníkovi Agronomické fakulty Vysoké školy zemědělské v Českých Budějovicích.

Literatura

- ASARI, M.: Development of the bovine ileal mucosa. *Acta anat.*, 129, 1987, s. 315-324.
- HARLEMAN, J. H. — MEYER, R. C.: Life cycle of *Iso spora suis* in gnotobiotic and conventionalized piglets. *Veter. Parasit.*, 17, 1984—1985, s. 27-39.
- HARLEMAN, J. H. — MEYER, R. C.: Pathogenicity of *Iso spora suis* in gnotobiotic and conventionalized piglets. *Veter. Rec.*, 116, 1985, s. 561-565.
- JONES, G. W. — PARKER, R. J. — PARKE, C. R.: Coccidia associated with enteritis in grower pigs. *Austral. veter. J.*, 62, 1985, s. 319.
- KONOPACKA, B.: Fosfatasa w nablonku jelitowym zarodkow swini. *Folia morphol.* (Warszawa), 6, 1955, s. 193.
- KUDWEIS, M. — LOJDA, Z.: Diferenciační proces pohárkových buněk sliznice tenkého střeva selat a syntéza při experimentální enteritidě. In: JANOUŠEK, V. — ŠPÁLA, M.: Současné směry v patologické fyziologii. Praha, Univerzita Karlova 1989, s. 231-233.
- KUDWEIS, M. — LOJDA, Z. — VÍTOVEC, J. — KOUDELA, B. — ŠTĚRBA, J.: Poměr enterocytů a pohárkových buněk ve sliznici tenkého střeva při experimentální infekci selat kokcií *Iso spora suis*. *Veter. Med. (Praha)*, 34, 1989a, s. 33-38.
- KUDWEIS, M. — LOJDA, Z. — VÍTOVEC, J. — KOUDELA, B. — ŠTĚRBA, J.: Úroveň aktivity alkalické fosfatázy během infekce kokcií *Iso spora suis* selat. *Veter. Med. (Praha)*, 34, 1989b, s. 157-162.
- KUDWEIS, M. — LOJDA, Z. — VÍTOVEC, J. — KOUDELA, B.: Aktivita vybraných dehydrogenáz a monoaminoxidáz v tenkém střevě gnotobiotických selat infikovaných kokcií *Iso spora suis*. *Veter. Med. (Praha)*, 34, 1989c, s. 287-296.
- LANDSVERK, T.: Histochemical distribution of enzymes in the small intestine of young milk — fed calves. *Acta veter. scand.*, 21, 1980, s. 402-414.
- LANDSVERK, T.: An enzyme histochemical investigation of the intestinal mucosa in diarrheic calves. *Acta veter. scand.*, 22, 1981, s. 1-10.
- LOJDA, Z.: Cytochemie lidské jejunální sliznice. [Habilitation práce.] Praha 1967. 138 s. — Univerzita Karlova. Fakulta všeobecného lékařství.
- LOJDA, Z.: Cytochemistry of enterocytes and of other cells in the mucous membrane of the small intestine. In: SMYTH, D. H.: *Intestinal Absorption*. London—New York, Plenum Press 1974, s. 43-122.
- LOJDA, Z. — GOSSRAU, R. — SCHIEBLER, T. H.: *Enzyme histochemistry. A laboratory manual*. Berlin—Heidelberg—New York, Springer Verlag 1979, s. 59-71.
- LOJDA, Z. — PAPOUŠEK, F.: *Základy histochemického průkazu enzymů*. Brno, Ústav pro další vzdělávání středních zdravotnických pracovníků 1978, 120 s.
- ROBINSON, Y. — MORIN, M. — GIRARD, C. — HIGGINS, R.: Experimental trans-

mission of intestinal coccidiosis to piglets: Clinical, parasitological and pathological findings. Can. J. comp. Med., 47, 1983, s. 401-407.

SANFORD, S. E.: Porcine neonatal coccidiosis: Clinical, pathological, epidemiological and diagnostic features. Calif. Veter., 37, 1983, s. 26-30.

STIGLMAYER — HERBOVÁ, M. T. — POSPISCHIL, A. — HESS, R. G. — BACHMANN, P. A. — BALJER, G.: Enzyme histochemistry of the small intestinal mucosa in experimental infections of calves with rotavirus and enterotoxigenic *Escherichia coli*. Veter. Path., 23, 1986, s. 125-131.

STUART, B. P. — BEDELL, D. M. — LINDSAY, D. S.: A search for extraintestinal stages of *Isospora suis*. Veter. Rec., 110, 1982, s. 82-83.

VÍTOVEC, J. — KOUDELA, B.: Double alteration of small intestine in *Isospora suis* infection in conventional and gnotobiotic piglets. Folia parasit. (Praha), 37, 1990, s. 21-33.

Došlo dne 25. 5. 1989

КУДВЕИС, М. — ЛОЙДА, З. — ЮЛИШ, И. — ВИТОВЕЦ, Й. — КОУДЕЛА, Б. (Институт паразитологии ЧСАН, Чешские Бudeйовице; Лаборатория по гистохимии при медицинском факультете Карлова Университета, Прага): Активность щелочной фосфатазы в плюсковидных клетках тонкого кишечника поросят экспериментально инфицированных кокцидиозом *Isospora suis*. Veter. Med. (Praha), 35, 1990 (5) : 275-284.

В тонком кишечнике 16 гнотобиотических поросят инфицированных день после родов (ДПР) различной дозой ооцист кокцидии *Isospora suis* изучали активность щелочной фосфатазы (ЕС. 3.1.3.1.) в плюсковидных клетках. Установили, что при высокой инфицированной дозе ооцист *I. suis* (750 000) плюсковидные клетки сильно положительны по отношению щелочной фосфатазы в период 3—4 дня после инфекции (ДПИ). У поросят, инфицированных низкой инфекционной дозой ооцист *I. suis* (100 000) активность щелочной фосфатазы в плюсковидных клетках подтвердили в периоде 4—10 ДПИ. У первой группы поросят преобладали положительные плюсковидные клетки в области среднего тонкого кишечника, с максимумом 4 ДПИ. У второй группы поросят в заднем тонком кишечнике с возрастающей активностью щелочной фосфатазы в плюсковидных клетках 4—5 ДПИ и 10 ДПИ. У контрольных гнотобиотических поросят в возрасте два—семь суток щелочную фосфатазу в плюсковидных клетках не подтвердили.

щелочная фосфатаза; экспериментальная инфекция; плюсковидные клетки; процесс дифференциации клеток кишечной слизистой оболочки; *Isospora suis*

KUDWEIS, M. — LOJDA, Z. — JULIŠ, I. — VÍTOVEC, J. — KOUDELA, B. (Institute of Parasitology of the Czechoslovak Academy of Sciences, České Budějovice; Laboratory for Histochemistry at the Faculty of Medicine of Charles University, Praha): Alkaline phosphatase activity in goblet cells of the small intestine of piglets experimentally infected by *Isospora suis* coccidia. Veter. Med. (Praha), 35, 1990 (5) : 275-284.

Alkaline phosphatase activity (EC. 3.1.3.1.) in goblet cells was investigated in the small intestine of 16 gnotobiotic piglets infected one day after delivery (DAD) by different rates of oocysts of *Isospora suis* coccidia. At a high infection rate of *I. suis* (750 000) the goblet cells were found to be highly positive to alkaline phosphatase on day 3 to day 4 after infection (DAI). In piglets infected by a low infection rate of *I. suis* oocysts (100 000) the activity of alkaline phosphatase activity in goblet cells was proved on days 4 to 10 after infection. In the first group of piglets, the positive goblet cells prevailed in the middle region of jejunum, with the peak on 4th DAI. The second group of piglets a marked increase in the alkaline phosphatase activity was recorded in the goblet cells in the prosterior part of jejunum on days 4 to 5 after infection and on 10th DAI. No alkaline phosphatase activity in the goblet cells was demonstrated in the control gnotobiotic piglets at the age of two to seven days.

alkaline phosphatase; experimental infection; goblet cells; differentiation process of cells of intestinal mucosa; *Isospora suis*

KUDWEIS, M. — LOJDA, Z. — JULIŠ, I. — VÍTOVEC, J. — KOUDELA, B. (Parazitologisches Institut der Tschechoslow. Akademie der Wissenschaften, České Budějovice; Laboratorium für Histochemie der Medizinischen Fakultät der Karlsuniversität, Praha): *Alkaliphosphatase-Aktivität in Becherzellen des Dünndarms von durch Kokzidien Isospora suis experimentell infizierten Ferkeln*. Veter. Med. (Praha), 35, 1990 (5) : 275-284.

Im Dünndarm von 16 gnotobiotischen, einen Tag nach der Geburt (weiter PP) durch verschiedene Dosen von Oozysten der Kokzidie *Isospora suis* infizierten Ferkeln, studierten wir die Aktivität der Alkaliphosphatase (EC. 3.1.3.1.) in den Becherzellen. Wir stellten fest, daß nach einer hohen Infektionsdosis der Oozysten *I. suis* (750 000) die Becherzellen gegenüber der Alkaliphosphatase im Zeitraum vom 3. bis 4. Tag nach der Infektion (PI) stark positiv reagieren. Bei den mit einer niedrigen Infektionsdosis der Oozysten *I. suis* (100 000) infizierten Ferkeln wiesen wir die Aktivität der Alkaliphosphatase in den Becherzellen im Zeitraum vom 4. bis 10. Tag PI nach. Bei der ersten Ferkelgruppe überwogen positive Becherzellen im Bereich des mittleren Jejunums, mit einem Maximum am 4. Tag PI. Bei der zweiten Ferkelgruppe war es im hinteren Jejunum, mit markantem Anstieg der Aktivität der Alkaliphosphatase in den Becherzellen am 4. bis 5. Tag PI und am 10. Tag PI. Bei den gnotobiotischen Kontrollferkeln im Alter von zwei bis sieben Tagen konnten wir die Alkaliphosphatase in den Becherzellen nicht nachweisen.

Alkaliphosphatase; experimentelle Infektion; Becherzellen; Differenzierungsprozeß der Darmschleimhautzellen; *Isospora suis*

Adresy autorů:

MVDr. Miloš Kudweis, CSc., MVDr. Jiří Vítovec, CSc., MVDr. Břetislav Koudela, CSc., Parazitologický ústav ČSAV, Branišovská 31, 370 05 České Budějovice

Prof. MUDr. Zdeněk Lojda, DrSc., člen koresp. ČSAV, MUDr. Ivan Juliš, Laboratoř pro histochemii, lékařská fakulta UK, Studničkova 2, 128 00 Praha 2

M. Tokoš, M. Tokošová

TOKOŠ, M. — TOKOŠOVÁ, M. (Vysoká škola veterinárska, Košice): *Vyvolanie superovulácie u oviec použitím PMSG*. Veter. Med. (Praha), 35, 1990 (5) : 285-289.

U 30 oviec plemena slovenské merino sme v období máj—jún v experimentálnych podmienkach sledovali možný vplyv stupňovaných dávok PMSG (Antex Leo, Dánsko) na vyvolanie superovulácie a rýchlosť transportu vajíčok cez pohlavný aparát. Po podaní PMSG v dávkach 750, 1000 a 1500 m. j. na kus sme zistili zvýšenie priemernej hmotnosti vaječníkov, počtu veľkých folikulov a ovulácií. Vyplachovaním vajíčok z jednotlivých častí pohlavného aparátu sme zistili rýchlejší transport vajíčok v závislosti od zvyšujúcej sa dávky PMSG.

PMSG; superovulácia; transport vajíčok; ovce

Aktuálnou otázkou v súčasných podmienkach intenzívnych technológií chovu hospodárskych zvierat je okrem synchronizácie ruje aj možnosť vyvolania superovulácie. K vyvolaniu superovulácie sa najčastejšie používa sérum žrebných kobýl — PMSG (Polge a Rowson, 1973; Kačmárik a i., 1987), ktoré je vysoko aktívne v podporovaní rastu folikulov a v procese luteinizácie (Hafez, 1968). Avšak pri použití vyšších dávok PMSG dochádza k zvýšeniu výskytu atreticky degenerovaných folikulov (Mc Kenzie a i., 1973; Pivko, 1979). Účinok PMSG u oviec je tiež závislý na citlivosti neuro-endokrinného systému kontrolujúceho ovariálnu aktivitu oviec v rôznom ročnom období (Lamond, 1962).

V našej práci sme sledovali možnosť vyvolania superovulácie v období máj—jún podávaním zvyšujúcich sa dávok PMSG, pričom sme zisťovali početnosť ovulovaných folikulov a rýchlosť prechodu vajíčok uvoľnených po ovulácii cez reprodukčný aparát.

MATERIÁL A METÓDA

Do pokusu v experimentálnych podmienkach v období máj—jún sme zaradili 30 trojročných oviec plemena slovenské merino. Po vykonaní veterinárnej prehliadky boli zvieratá ustajnené bez možnosti voľného výbehu a kŕmené kŕmnom dávkou zimného typu čiastočne doplnenou čerstvým zeleným krmivom. Prvá skupina šiestich oviec slúžila ako kontrolná. Ovciam druhej až štvrtej skupiny sme na nultý deň pokusu podali i. m. 750, 1000 a 1500 m. j. PMSG (Antex Leo, Dánsko). Raz denne sme od oviec odoberali krv punkciou v. jugularis a vzorky cervikálneho hlienu pomocou vatových tampónov.

Ovce sme zabíjali na piaty deň po podaní PMSG. Bezprostredne po vykvrvení sme vybrali pohlavný aparát a po rozdelení na jednotlivé časti sme vykonali bio-

I. Vplyv PMSG na hmotnosť matrice a vaječníkov, počet ovulácií a získaných vajíčok (priemerné hodnoty $\pm$ s. e. m.) — The effects of PMSG on the weight of uterus and ovaries, number of ovulations and recovered eggs (average values $\pm$ s. e. m.)

Skupina	n	Hmotnosť matrice [g]	Hmotnosť vaječníkov [g]	Počet žltých teliesok	Počet vajíčok získaných na ovu
1	6	9,15 $\pm$ 5,31	0,51 $\pm$ 0,25	0,16 $\pm$ 0,37	0,00
2	8	30,83 $\pm$ 5,64 ⁺⁺⁺	1,23 $\pm$ 0,68 ⁺⁺	2,12 $\pm$ 1,05 ⁺⁺⁺	1,37 $\pm$ 1,21
3	7	36,66 $\pm$ 5,44 ⁺⁺⁺	1,07 $\pm$ 0,27 ⁺⁺⁺	2,85 $\pm$ 1,95 ⁺	1,85 $\pm$ 1,72
4	9	31,36 $\pm$ 8,75 ⁺⁺⁺	1,47 $\pm$ 0,62 ⁺⁺⁺	3,66 $\pm$ 1,76 ⁺⁺⁺	2,44 $\pm$ 1,57

⁺ = $P < 0,05$; ⁺⁺ = $P < 0,001$; ⁺⁺⁺ = $P < 0,005$

metriu. Na vaječníkoch sme zisťovali počet ovulovaných folikulov a novovytvorených žltých teliesok. Ampulu a isthmus vajcovodu sme prepláchli vždy 10 ml a rohy matrice 25 ml fyziologického roztoku za účelom získania vajíčok uvoľnených pri ovulácii. Získané hodnoty sme štatisticky hodnotili Studentovým *t*-testom.

VÝSLEDKY

Pod vplyvom podania PMSG sme zistili u všetkých pokusných skupín štatisticky významné zvýšenie priemernej hmotnosti matrice a vaječníkov (tab. I).

So zvyšujúcou sa dávkou PMSG stúpal i počet zistených ovulovaných folikulov a novovytvorených žltých teliesok, pričom najvyšší počet sme zistili u oviec po dávke 1500 m. j. PMSG. U tejto pokusnej skupiny sme výplachom jednotlivých častí pohlavného aparátu zistili i najväčší priemerný počet vajíčok na jednu ovu.

V druhej pokusnej skupine sme u dvoch oviec zistili po jednej ovulácii, u dvoch po dve ovulácie, u dvoch po tri a v jednom prípade štyri ovulácie. V tretej pokusnej skupine sme u dvoch oviec zistili po jednej ovulácii, u dvoch po dve ovulácie, u jednej tri ovulácie, u jednej štyri ovulácie a v jednom prípade až sedem ovulácií. U jednej ovce sme zistili na vaječníku cystu. V štvrtej pokusnej skupine sme u jednej ovce zistili dvojité ovulácie, u dvoch po tri ovulácie, u jednej štyri ovulácie, u troch

II. Počet oviec produkujúcich vajíčka a počet vajíčok z celkového počtu uvoľnených pri ovulácii — The number of ewes producing eggs and the number of eggs recovered from the total number of eggs released during ovulation

Skupina	n	Počet oviec produkujúcich vajíčka	%	Celkový počet žltých teliesok	Počet vajíčok získaných z celkového počtu	%
1	6	1	16,66	1	0	0,00
2	8	8	100,00	17	11	64,70
3	7	7	100,00	20	13	65,00
4	9	8	88,88	33	22	66,66

III. Počet a percento vajčiek získaných z jednotlivých častí reprodukčného aparátu oviec — The number and percentage of eggs recovered from different parts of the reproductive organs of ewes

Skupina	Časť reprodukčného aparátu, z ktorej boli vajčká získané					
	<i>ampula</i>	%	<i>isthmus</i>	%	<i>cornus uteri</i>	%
1	0	0,00	0	0,00	0	0,00
2	3	27,27	6	54,54	2	18,18
3	3	23,06	8	61,54	2	15,36
4	5	22,72	8	36,36	9	40,90

po päť ovulácií a u jednej šesť ovulácií. U jednej ovce boli obidva vaječníky cystózne a u ďalších dvoch oviec sme zistili po jednom cysticky degenerovanom folikule.

Z počtu oviec zaradených do jednotlivých pokusných skupín ich najviac produkovalo vajčká v skupine druhej a tretej — po 100 % (tab. II). Z celkového počtu uvoľnených vajčiek sme u pokusných skupín výplachmi získali okolo 65 % vajčiek.

Podľa počtu vajčiek získaných z jednotlivých častí pohlavného aparátu sme usudzovali na rýchlosť prechodu vajčiek cez pohlavný aparát (tab. III). Na základe uvedených údajov bola rýchlosť prechodu vajčiek u skupín oviec po podaní 750 a 1000 m. j. PMSG na približne rovnakej úrovni. Najviac vajčiek sme u nich získali z oblasti vajcovodu. Najrýchlejšiu pasáž vajčiek sme zistili u skupiny oviec po podaní 1500 m. j. PMSG, kde sme najväčší počet vajčiek (až 40,9 %) zistili v maternicových rohoch.

DISKUSIA

Na vyvolanie fertilnej ruje u oviec v anestríckom období sa najčastejšie používa progesteron samotný, alebo progesteron s následným podaním PMSG (Boland a Gordon, 1973), pričom dochádza zároveň i k zvýšeniu počtu viacnásobných ovulácií. Podanie samotného PMSG vyvoláva zvýšené uvoľňovanie gonadotropných hormónov z adenohipofýzy s vrcholom za 27 hodín po jeho podaní, ale u oviec často chýbajú vonkajšie prejavy ruje, i keď dochádza k ovulácii a následnej tvorbe aktívnych žltých teliesok (Cunningham a i., 1980).

Zmeny, ktoré sme zistili u oviec po podaní PMSG, sú zhodné so zmenami, ktoré zistili Polge a Rowson (1973), ktorí taktiež uvádzajú zvýšenie hmotnosti vaječníkov, viacpočetné ovulácie a objavenie sa cystických folikulov. Podobne i u jalovíc PMSG zvyšuje počet ovulácií o $0,6 \pm 0,7$ v porovnaní s kontrolnými zvieratami (Laster, 1973). Pri opakovanom podávaní PMSG v rôznych časových intervaloch dochádza k znižovaniu počtu žltých teliesok, pričom rozdiely sú štatisticky významné, ak je interval medzi jednotlivými podaniami u jalovíc kratší ako 60 dní, alebo dlhší ako 70 dní (Kanagawa a i., 1981; Saumande a Chupin, 1986).

Ovariálna odpoveď oviec plemena merino na PMSG je silne ovplyv-

nená ročným obdobím a závisí tiež od dávky PMSG (Gherardi a Lindsay, 1980). Zatiaľ čo u kontrolných oviec uvedení autori zistili najväčší počet ovulácií v septembri, u pokusných, ktorým podali PMSG, bol najväčší počet ovulácií zistený v marci a najnižší v septembri. Pri porovnávaní vplyvu rôznych dávok PMSG ďalej zistili zvyšujúci sa počet ovulácií v závislosti od stúpajúcej dávky, podobne ako Takanašima a Kanagawa (1984) u jalovíc.

Henricks a Lamond (1972) a Boshoff a i., (1973) uvádzajú, že PMSG urýchľuje čas ovulácie v porovnaní s normálnym priebehom až o 15 hodín od začiatku ruje. Práve tento faktor môže byť rozhodujúci pre rýchlejší transport vajčiek do maternice (Whymana a Moore, 1980). Tieto zistenia sú porovnateľné s našimi pozorovaniami, kde so zvyšujúcou sa dávkou PMSG sme zistili rýchlejší transport vajčiek cez pohlavný aparát. Blockey a i. (1979) nezistili signifikantné rozdiely v rýchlosti transportu vajčiek cez pohlavný aparát oviec plemena merino v závislosti od ich rozdielneho veku.

Na základe vyššie uvedených zistení môžeme povedať, že PMSG pôsobí na pohlavný aparát oviec stimulačne. Okrem zvýšenia hmotnosti maternice a vaječníkov, čo môže byť spôsobené tiež nepriamym vplyvom zvýšenej sekrécie ovariálnych steroidov (Whymana a Moore, 1980), sme zistili tiež v závislosti od dávky PMSG zvyšujúci sa počet ovulácií a rýchlejší transport vajčiek cez pohlavný aparát oviec.

Literatúra

- BLOCKEY, M. A. B. — HOLST, P. J. — MAKIN, A. W. — CAHILL, L. P.: Oestrus, ovulation and ovum transport in young Merino ewes. *Austral. J. exp. Agric. anim. Husb.*, 19, 1979, s. 150-155.
- BOLAND, M. P. — GORDON, I.: Oestrus and ovulatory response to progestagens-PMS treatments in anoestrous ewes. *J. Dep. Agric. Fish., Ireland*, 70, 1973, s. 65-70.
- BOSHOFF, D. A. — van NIEKERK, C. H. — MORGENTHAU, J. C.: Time of ovulations in the Karakul ewe following synchronisation of oestrus, *S. Afr. J. Anim. Sci.*, 3, 1973, s. 13-17.
- CUNNINGHAM, N. F. — SABA, N. — BOARER, C. D. H. — HATTERSLEY, J. J. P.: Plasma hormone levels and reproductive behaviour in anoestrous ewes after treatment with progesterone and PMSG. *J. Reprod. Fert.*, 60, 1980, s. 177-185.
- GHERARDI, P. B. — LINDSAY, D. R.: The effect of season on the ovulatory response of Merino ewes to serum from pregnant mares. *J. Reprod. Fert.*, 60, 1980, s. 425-429.
- HAFEZ, E. S. E.: *Reproduction in Farm Animals*. Lea and Febiger, Philadelphia, 1968.
- HENRICKS, D. M. — LAMOND, D. R.: Hormonal interrelation in beef cows with induced multiple ovulations. *Nature (London)*, 235, 1972, s. 222.
- KACMÁRIK, J. — GAMČÍK, P. — POŠIVÁK, J. — DÁVID, V. — HRUŠKOVÁ, P. — PIEŠOVÁ, E.: Superovulácia po aplikácii PMSG u kráv rôznych plemien. *Veter. Med. (Praha)*, 32, 1987, s. 577-586.
- KANAGAWA, H. — ISHIKAWA, T. — INOUE, T.: Ovarian response after four continuous administrations of gonadotropin in beef cattle. *Jap. J. Veter. Res.*, 29, 1981, s. 1-7.
- LAMOND, D. R.: Effect of season hormonally induced ovulation in Merino ewes. *J. Reprod. Fert.*, 4, 1962, s. 111-120.
- LASTER, D. B.: Ovulation, fertility and prenatal mortality in heifers treated with PMSG or porcine FSH. *J. Reprod. Fert.*, 33, 1973, s. 275-282.
- McKENZIE, B. E. a i.: Histological features of ovarian follicles of gonadotropin-injected heifers. *Amer. J. veter. Res.*, 34, 1973, s. 1033-1040.
- PIVKO, J.: Vplyv gonadotropínov (PMGS, HCG) na histologický obraz a histoenzymatické procesy v pohlavných orgánoch jalovíc. *Ved. Práce Výzk. Úst. živoč. Vyr. Nitra*, 17, 1979, s. 63-71.

POLGE, C. — ROWSON, L. E. A.: Recent progress in techniques for increasing reproductive potential in farm animals. Proc. 3rd Wld. Conf. anim. Prod., 3, 1973, s. 633-643.

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

TAKANASHI, Y. — KANAGAWA, H.: Effects of LH-RH analogue on the ovulation rate and embryo quality in heifers superovulated with PMGS and PGFF₂alpha. Jap. J. veter. Res., 32, 1984, s. 183-189.

WHYMAN, D. — MOORE, R. W.: Effects of PMSG and the prostaglandin F₂alpha, cloprostenol, on superovulation, fertilization and egg transport in the ewe. J. Reprod. Fert., 60, 1980, s. 267-272.

Došlo dňa 9. 1. 1989

ТОКОШ, М. — ТОКОШОВА, М. (Ветеринарный институт, Кошице): Стимулирование возникновения суперовуляции у овец применением ПМСГ. Veter. Med. (Praha), 35, 1990 (5) : 285-289.

У 30 овец породы словацкое мерино, в периоде май—июнь, в экспериментальных условиях изучали возможное влияние ступенчатых доз ПМСГ (Антекс Лео, Дания) на стимулирование возникновения суперовуляции и скорость транспорта яичек через половой аппарат. После применения ПМСГ в дозах 750, 1000 и 1500 м.е. на голову установили повышение средней массы яичников, увеличение числа больших фолликулов и овуляций. Отмучиванием яичек из отдельных частей полового аппарата установили более быстрый транспорт яичек в зависимости от увеличивающейся дозы ПМСГ.

ПМСГ; суперовуляция; транспорт яичек; овцы

TOKOŠ, M. — TOKOŠOVÁ, M. (University of Veterinary Medicine, Košice): Superovulation induction in ewes by means of PMSG. Veter. Med. (Praha), 35, 1990 (5) : 285-289.

The effects of application of differentiated PMSG rates (Antex Leo, Denmark) were investigated in 30 ewes of the Slovak Merino breed in the period of May—June in experimental conditions on the induction of superovulation and on the speed of egg transport through the sexual organs. After administration of PMSG at rates of 750, 1000 and 1500 i. u. per head/day, increases were recorded in the average weight of ovaries, number of large follicles and ovulations. Flushing the eggs from different parts of the sexual organs indicated that the higher the PMSG rate, the faster was the egg transport.

PMSG; superovulation; egg transport; ewe

TOKOŠ, M. — TOKOŠOVÁ, M. (Veterinärmedizinische Hochschule, Košice): Auslösen einer Superovulation bei Schafen durch Anwendung von PMSG. Veter. Med. (Praha), 35, 1990 (5) : 285-289.

Bei 30 Schafen der Rasse Slowakisches Merino-Schaf untersuchten wir im Zeitraum Mai—Juni unter experimentellen Bedingungen den etwaigen Einfluß gesteigerter PMSG-Dosen (Antex Leo, Denmark) auf das Auslösen einer Superovulation und auf die Geschwindigkeit des Eizellentransports durch den Geschlechtsapparat. Nach Verabreichung von PMSG in Dosen von 750, 1000 und 1500 i. E. pro Tier stellten wir eine Erhöhung der durchschnittlichen Eierstockmasse, der Zahl der großen Follikel sowie die Ovulation fest. Durch Ausspülung der Eizellen aus den einzelnen Teilen des Geschlechtsapparats stellten wir einen rascheren Transport der Eizellen in Abhängigkeit von der ansteigenden PMSG-Dosis fest.

PMSG; Superovulation; Eizellentransport; Schaf

Adresy autorov:

MVDr. Marian T o k o š, Kvetná č. 19, 040 15 Košice - Šaca

MVDr. Mária T o k o š o v á, CSc., Vysoká škola veterinárská, Komenského 73, 041 81 Košice

Upozorňujeme čtenáře, že v čísle 6/90 časopisu

VETERINÁRNÍ MEDICÍNA

mají být uveřejněny tyto příspěvky:

- E. Kudláč, D. Píchová: Responze adenohypofýzy a účinnost aplikace syntetického GnRH (Dirigestan inj. Spofa) u krav *post partum*
- J. Kozumplík: Morfologické změny a dekapitace spermií jako příčina poruch plodnosti plemeníků
- M. Kudweis, I. Juliš, Z. Lojda, J. Vítovec, B. Koudela: Denzita vybraných enzymů v pohárkových buňkách sliznice tenkého střeva selat experimentálně infikovaných kokcií *Isospora suis*
- M. Tokoš, M. Tokošová, J. Arendarčík: Kvantitativne mikromorologické štúdium vaječníkov u oviec po synchronizácii ruje a superovulácií v jesennom pripúšťacom období
- V. Jurajda, B. Schmidtová, L. Rybová: Použití filtračního papíru k odběru krve u drůbeže a následnému vyšetření přítomnosti protilátek proti viru Newcastle nemoci
- M. Krajčovičová — Kudláčková: Veková závislost utilizácie bielkovín na príjme tukov rôznej kvality
- V. Vrzal, Z. Čupera, J. Chumela, L. Zatloukal: Hodnocení účinnosti vyvíjené vakcíny proti vzteklině tkáňové inaktivované NIH testem
- P. Pohl, O. Matouch, J. Jaroš: Patologicko-morfologické změny v trávicím ústrojí rabických lišek

RAJTOVÁ, V. (Vysoká škola veterinárska, Košice): *Ependymová výstielka eminentia mediana u kozy*. Veter. Med. (Praha), 35, 1990 (5) : 291-302.

Štúdium vo svetelnom mikroskope ukázalo, že ependymová výstielka *eminentia mediana* koz tvoria 2 tanycyty, bazálne výbežky, ktoré dsahujú k povrchu *zona externa* a ktoré sa v *zona interna* vidlicovite rozvetvujú. Najsilnejšia je *zona interna*, tvorená hustými, rôzne usporiadanými vláknami. Riadkovací elektrónový mikroskop ukázal, že stavba ependymového povrchu *eminentia mediana* koz závisí od stavu pohlavnej činnosti príslušného jedinca. U samíc i samcov v období „kľudu“ (*anestrus*, mimo sezóny, apríl) sú nálezy skoro totožné (prevládanie ependymoresorbcie); podobne je to aj u samíc a samcov v období pripúšťania (hyperependymosekrécia, október, november). Charakteristická je tiež stavba ependymového povrchu *eminentia mediana* u samíc v prípravnej proestrickej fáze cyklu, kedy sú výsledky skoro totožné s nálezom u hermafrodita (sekrécia a resorbcia sú skoro v rovnováhe). Výskyt supraependymových buniek na povrchu *eminentia mediana* je zriedkavý. Ide o bunky, ktoré sa vonkajšou morfológiou veľmi podobajú bunkám nervovým. Ich nález len čístkove vysvetľuje prítomnosť supraependymových vlákien na povrchu dna III. mozgovej komory. Štúdium ukázalo výraznú sexuálne diferencovanú stavbu povrchu ependymovej výstielky *eminentia mediana* kôz, čo potvrdzuje spoluúčasť jej tanycytov pri riadení reprodukčného cyklu.

centrálny nervový systém; *eminentia mediana*; ependym; koza; cap

Eminentia mediana je malý, mierne konvexný hrboľček, ktorý tvorí dno III. mozgovej komory. Nachádza sa pred a za infundibulárnym výbežkom (preinfundibulárna a postinfundibulárna časť, Rodríguez a i., 1979). Je to miesto, ktoré má viacej morfológických zvláštností, miesto, v ktorom sa zbiehajú mnohé nervové dráhy, zhromažďujú biologicky aktívne látky a neurotransmitery. Knigge a Scott (1970) *eminentia mediana* považujú za akýsi kanál pre prechod supraoptiko-hypofýzového traktu k neurálnemu laloku hypofýzy a neurovaskulárnych interferencií medzi mozgom a primárnym kapilárnym plexom portálneho pituitárneho systému.

Už vo svetelnom mikroskope v *eminentia mediana* dá sa rozlíšiť vonkajšia palisádová *zona externa*, fibrózna *zona interna* a s III. mozgovou komorou súvisiaca *zona ependymalis*. Ependymovú zónu tvoria tanycyty, ktorých bazálne výbežky sú dlhé a tiahnu sa celou stenou *eminentia mediana*. Uemura a i. (1975) považujú tanycytové bunky dna III. mozgovej komory za spojovací článok medzi mozgomiechovým mokom a portálnymi hypofýzovými krvnými cievami. Pripisuje sa im transportná (Knigge a Scott, 1970; Brion a i., 1982) a absorbčná schopnosť (Nozaki a Kobayashi, 1975; Kobayashi, 1977). V *eminentia*

mediana sa nachádzajú rôzne typy gliových buniek (Schiebler a Zaborszky, 1977; Bitsch a Schiebler, 1979; Rützel a Schiebler, 1980), krvné kapiláry portálneho systému, fenestrované kapiláry, široké prekapilárne priestory a nervové zakončenia bez synaptických kontaktov. Prítomnosť fenestrovaných kapilár dovoľuje bezprekážkový prechod rôznych biologicky aktívnych látok, čím pravdepodobne vykonávajú úlohu určitých špecifických regulátorov.

Pre dôležitosť funkcie *eminentia mediana*, jej stavbou, vývojom alebo sledovaním za experimentálnych podmienok u laboratónych zvierat, zaoberalo sa mnoho autorov (Rinne, 1966; Akmayev a Fidelina, 1976; Schiebler a Zaborszky, 1977; Kobayshi, 1977; Zaborszky a Schiebler, 1978; Nagyi a Rethélyi, 1979; Bitsch a Schiebler, 1979; Rodríguez a i., 1979; Marani a i., 1981; Brion a i., 1982 a ďalší).

U hospodárskych zvierat tejto malej, ale dôležitej časti III. mozgovej komory nebola zatiaľ venovaná pozornosť. Úlohou tejto práce je podať stručnú morfológickú charakteristiku o *eminentia mediana*, najmä jej endymovej výstelky u jedného z malých prežúvavcov — kozy.

MATERIÁL A METÓDA

Na toto štúdium použili sme spolu 21 kôz (20 kusov obojeho pohlavia, krížence a jeden jedinec, ktorého nález na pohlavných orgánoch poukazoval na *hermaphrodismus testicularis*). Z toho 13 hláv bezprostredne po vykruvení sme perfundovali fosfátovým pufrom, potom Karnovského fixačným roztokom. Po vybratí mozgov po perfúziách, vzorky z *eminentia mediana* sme dofixovali 3% roztokom glutaraldehydu v 0,2 M kakodylovom pufri (teplota roztokov 4°C, pH 7,4). Po fixácii nasledovalo spracovanie vzoriek podľa Murakamiho a i. (1977), odvodnenie v etylalkohole, sušenie metódou kritického bodu a naparenie zlatom vo vákuu. Prehliadanie a fotografovanie vzoriek sme robili v riadkovacom elektrónovom mikroskope Cambridge Stereoscan 2A.

Hlavy z troch kôz po perfúzii fosfátovým pufrom sme fixovali 5% roztokom pufovaného formalínu alebo Bouinovým roztokom. Parafínové rezy 8 µm hrubé sme farbili chróm-hematoxilín-floxínom. Tieto preparáty bolo možné prehliadať aj vo fluorescenčnom mikroskope (Jenalumar, vláknité štruktúry).

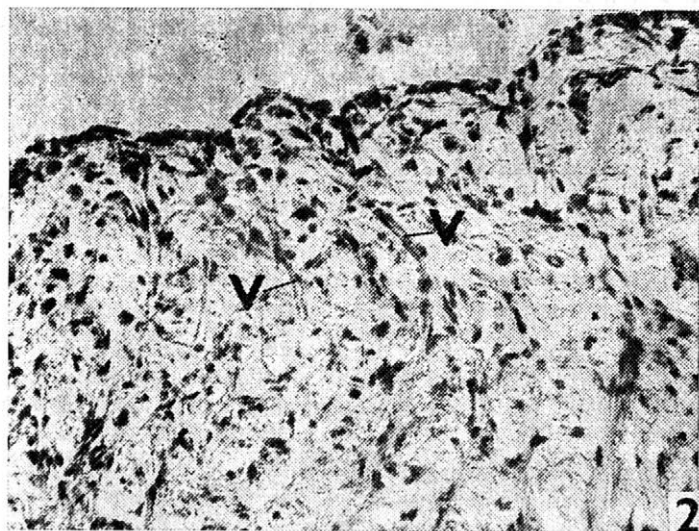
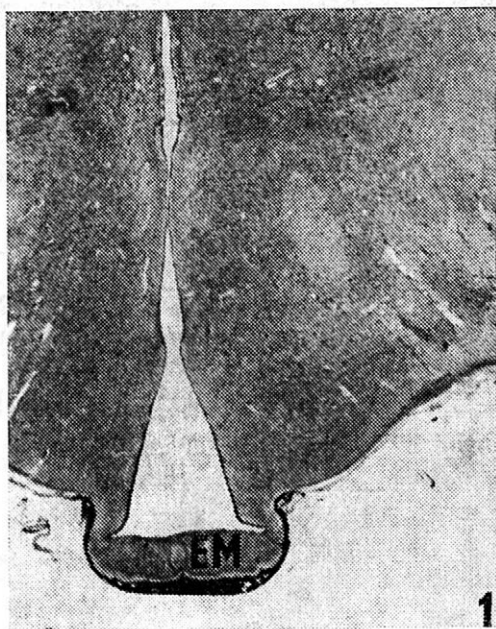
Vzorky z *eminentia mediana* pochádzajúce z piatich kôz sme spracovali metódou impregnácie podľa Golgi-Coxa a Bodiana.

VÝSLEDKY

Eminentia mediana kôz (obr. 1) tvorí preinfundibulárnu (asi 200 µm) a postinfundibulárnu (asi 450 µm) časť. Kaudálne, bez zreteľnej hranice, prechádza do dna *recessus inframamillaris*. Ependymovú zónu (obr. 2, 3) tvorí jednu až viac vrstiev plochých, prevažne kubických ependymových tanycytov. Na apikálnom konci niektorých buniek nachádzajú sa v laterálnej pozícii krátke cílie s rozšíreným terminálnym zakončením. Z bazálneho konca vystupuje jeden tenký výbežok, ktorý sa v dolnej polovici (v *zona interna*) vidlicovite delí (obr. 4, 5). Výbežky dosahujú až k povrchu *zona externa* (obr. 4). Fluorescenčný mikroskop ukazuje v *zona interna* okrem bazálnych výbežkov aj plexiformne usporiadané vlákna (obr. 5); časť vlákien pochádzajúca z *nucl. infundibularis* má horizontálny priebeh.

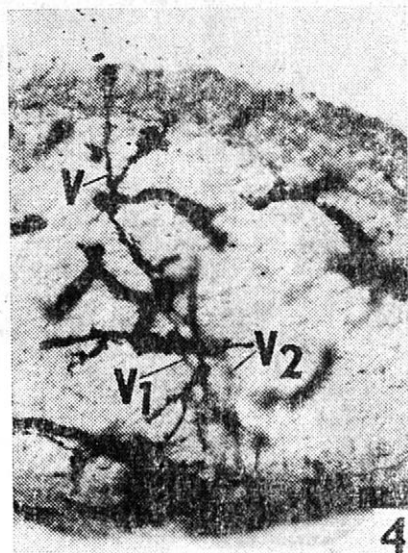
Štúdium v riadkovacom elektrónovom mikroskope ukazuje, že povrch endymovej výstelky *eminentia mediana* nie je rovný (obr. 12, 14),

1. Transverzálny rez dolnou časťou III. mozgovej komory kozy v úrovni infundibulárnej oblasti a *eminentia mediana* — EM (zväčšenie 7×) — The bottom part of the IIIrd cerebral ventricle of goat in transversal section at the level of infundibular region and *eminentia mediana* — EM (enlarged 7×)

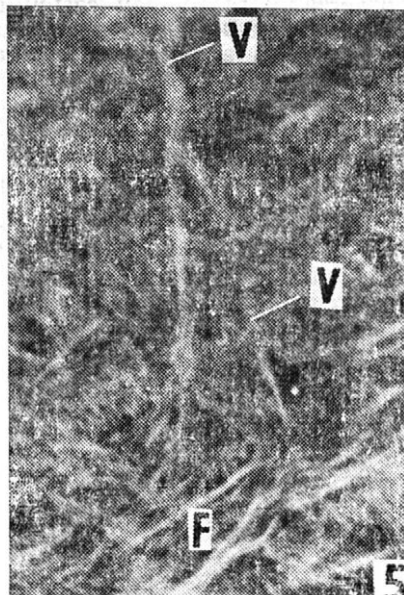


2., 3. Transverzálny rez cez *eminentia mediana* kozy; chróm-hematoxilin-floxin; (zväčšenie 160×): A — zona ependymalis, B — zona interna, C — zona externa, V — výbežky tancytov — *Eminentia mediana* of goat in transversal section; chromium-haematoxylin-phloxin; (enlarged 160×): A — zona ependymalis, B — zona interna, C — zona externa, V — tancytos processes





4. Jeden z ependymových tanycytov (β_2) v *eminentia mediana* kozy; Golgi-Cox; zväčšenie 160X): V — bazálny výbežok, V_{1,2} — po vidlicovitom rozvetvení — One of the ependymal tanycytes (β_2) in *eminentia mediana* of goat; Golgi-Cox; (enlarged 160X): V — basal process, V_{1,2} — after bifurcation

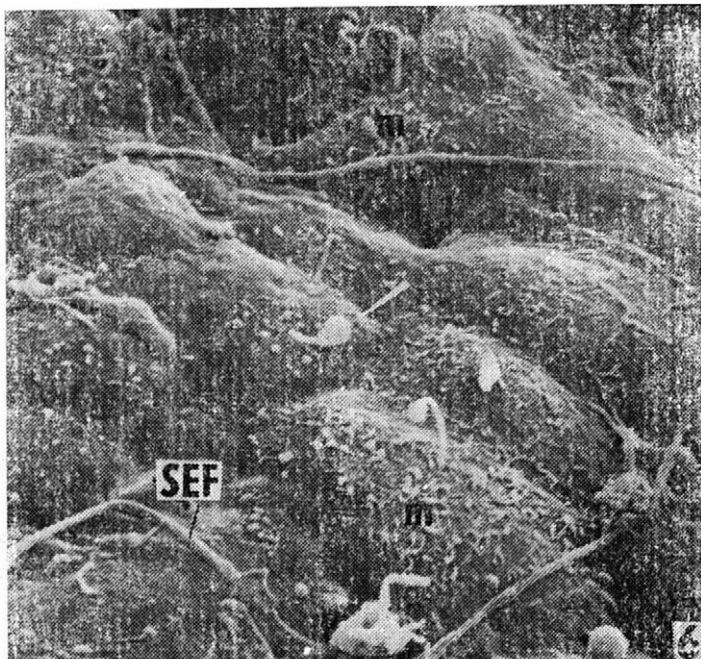


5. Časť bazálneho výbežku tanycytu s vidlicovitým rozvetvením v *zona interna*; chróm-hematoxilín-floxín vo fluorescenčnom mikroskope; (zväčšenie 250X): F — vlákna, V — bazálny výbežok — A part of the basal process of tanycyte bifurcating in *zona interna*; chromium-haematoxylin-phloxin in a fluorescence microscope; (enlarged 250X): F — fibres, V — basal process

apikálne membrány niektorých buniek sú mierne konvexné. Cílie, bežne sa vyskytujúce v ostatných oddieloch ventrikulárneho systému na *eminentia mediana* chýbajú. Môžu sa vyskytovať len solitárne krátke cílie s gombičkovitým zakončením (obr. 6, šípky). Mikrokľky sú riedke a majú filiformný a fungiformný vzhľad. Rozložené sú nerovnomerne: miestami sú sústredené na vrcholoch konvexných apikálnych membrán (obr. 6, m), inde v úzkom pruhu na hranicu jednotlivých buniek, čím sa vytvára nepravidelný polygonálny vzor (obr. 9, m). Nerovnomernosť povrchu zvyrazňujú aj rôzne veľké, oválne lakúny (obr. 12), na dne ktorých sa nachádzajú vonkajšie spoje protilahlých membrán, pričom vytvárajú charakteristické mriežkové štruktúry (obr. 11), ktoré boli najzreteľnejšie u samíc v proestri a u hermafrodita.

Na povrchu *eminentia mediana* kôz vyskytujú sa malé až drobné sférické, mechúrikovité protrúzie (blebs). Tieto štruktúry boli zriedkavé alebo chýbali u kôz počas anestru (obr. 6), u capov v období pohlavného „kludu“ (obr. 13), obidve skupiny usmrtené v apríli. Menší počet drobných „blebs“ na povrchu *eminentia mediana* sa vyskytoval u kôz počas proestru (obr. 7) a u hermafrodita (obr. 14). Tieto štruktúry zasahovali aj na vonkajšie medzibunečné spojenia (obr. 11), na povrch supraependymových buniek a ich výbežkov (obr. 12, a). Husté, drobné i väčšie „blebs“ vyskytovali sa u kôz počas estru (obr. 8, 9), u capov v období pripúšťania (obr. 10), obidve skupiny usmrtené v októbri a novembri.

6. Časť endependymového povrchu *eminencia mediana* kozy (anestrus) s konkávnymi apikálnymi membránami a krátkymi, solitárnymi cíliami; (zväčšenie 250×); SEF — supraependymové vlákna, m — mikrovilky, šípka ukazuje na gombičkovité terminálne zakončenie — A part of the ependymal surface of *eminencia mediana* in goat (anoestrus) with concave apical membranes and short, solitary cilia; (enlarged 250×); SEF — supraependymal fibres, m — microvilli, the arrow points to the knobbed terminal ends

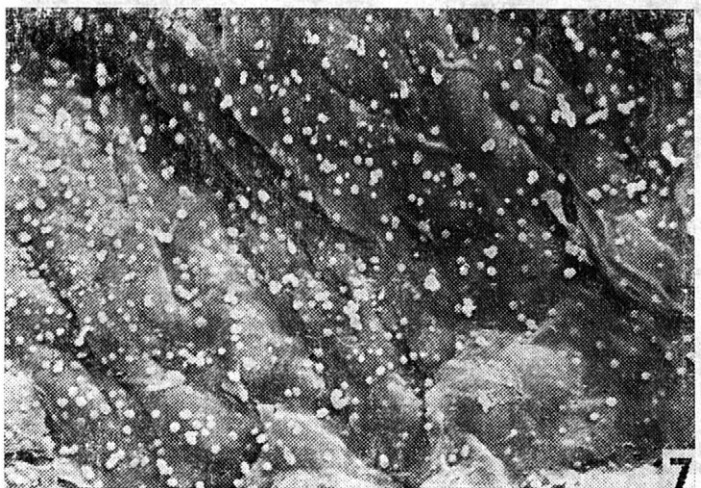


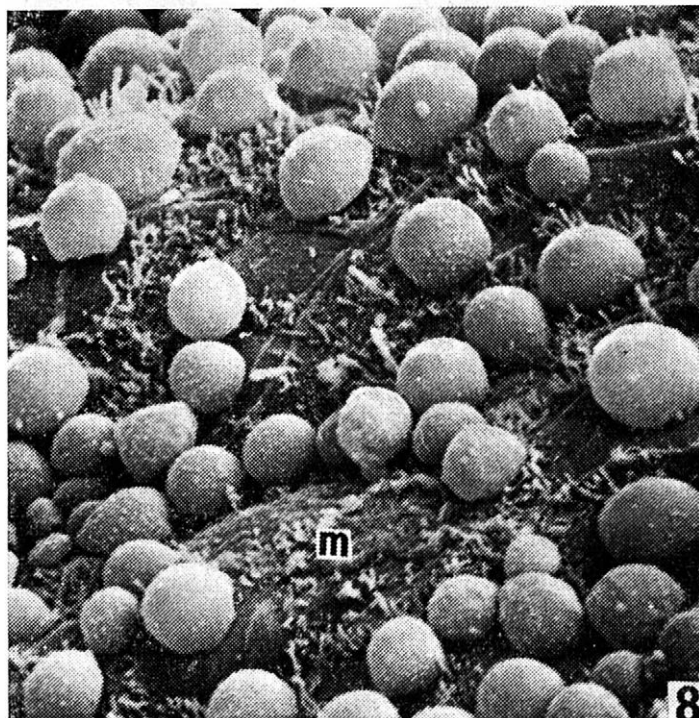
Na povrchu endependymovej výstelky *eminencia mediana* kôz boli prítomné tiež ojedinelé supraependymové bunky (obr. 12, 13), ktoré sa vonkajším vzhľadom podobajú na bunky nervové. Majú 25 až 60 μm dlhé, nepravidelne oválne až vretenovité telo, z ktorého vystupujú tri až štyri výbežky (dlhšie ako 300 μm). Niektoré z nich sa môžu rozvetvovať.

DISKUSIA

Základná stavba *eminencia mediana* kozy vo svetelnom mikroskope sa nelíši od pomerov uvádzaných napr. pre potkana (Kobayashi a i., 1977; Knigge a Scott, 1970; Bitsch a Schiebeler, 1979). Impregnované endependymové tanycyty na tomto mieste aj u kôz vonkajšou morfológiou pripomínajú tanycyty β 2 opísané u potkana (Akmaev

7. Drobné sférické „blebs“ na povrchu *eminencia mediana* kozy — proestrus; (zväčšenie 580×) — Tiny spherical blebs on the surface of *eminencia mediana* of goat — pro-oestrus; (enlarged 580×)

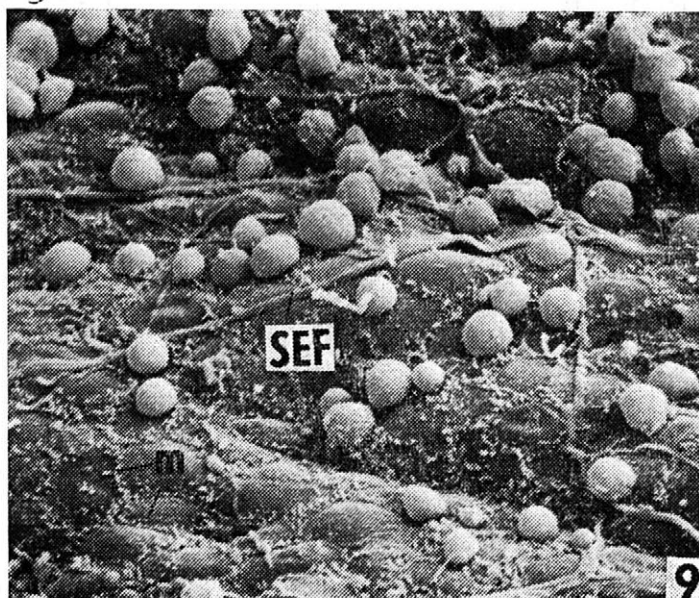




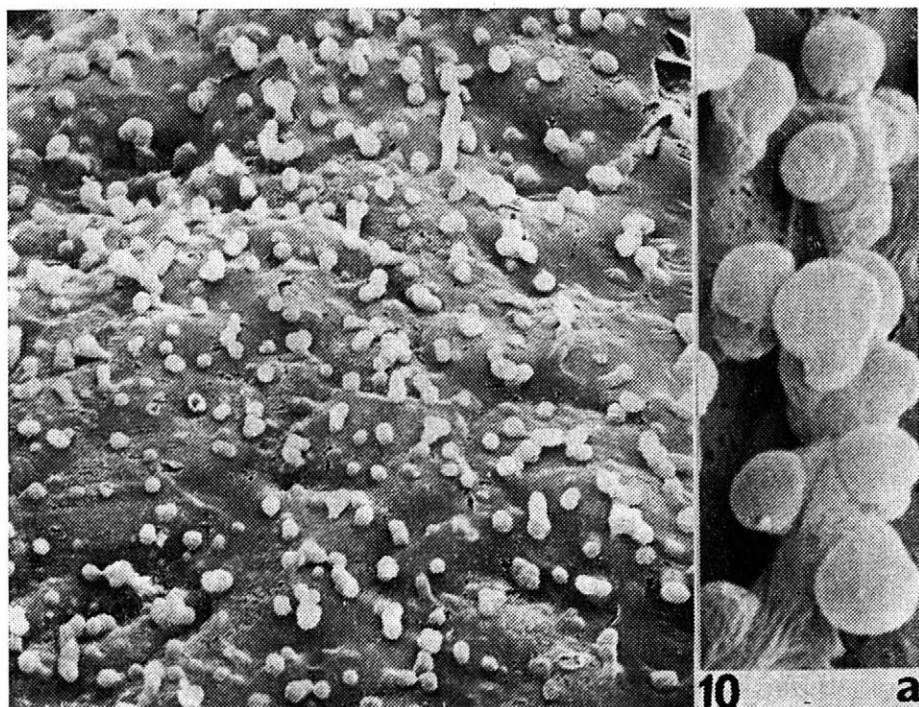
8. Hojné väčšie sférické „blebs“ na povrchu *eminentia mediana* kozy — estrus; (zväčšenie 2500 X) — Numerous larger spherical blebs on the surface of *eminentia mediana* of goat — oestrus; (enlarged 2500 X)

a i., 1973; Akmayev a Fidelina, 1976, Scott a i., 1975; Rodríguez a i., 1979; Brion a i., 1982).

Na povrchu *eminentia mediana* u nami študovaných kôz vyskytovali sa malé sférické, mechúrikovité štruktúry (blebs), ktorých prítomnosť nebola náhodná, ale sa viazala na činnosť pohlavných žliaz príslušného jedinca. Tieto štruktúry boli zriedkavé, alebo chýbali u kôz v „kludovom“



9. Väčšie sférické „blebs“ na povrchu *eminentia mediana* kozy (estrus); mikrokľky sú usporiadané okolo apikálnych membrán a tvoria polyedrický vzor: SEF — supraependymové vlákna, m — mikrokľky — Larger spherical blebs on the surface of *eminentia mediana* of goat (oestrus); the microvilli are arranged around apical membranes, forming a polyhedral pattern; SEF — supraependymal fibres, m — microvilli

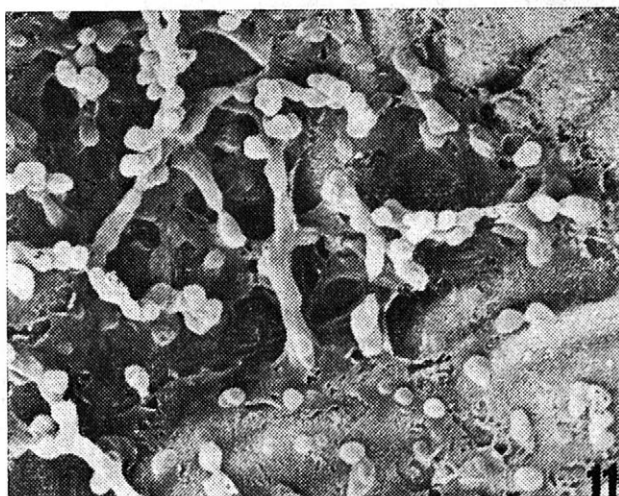


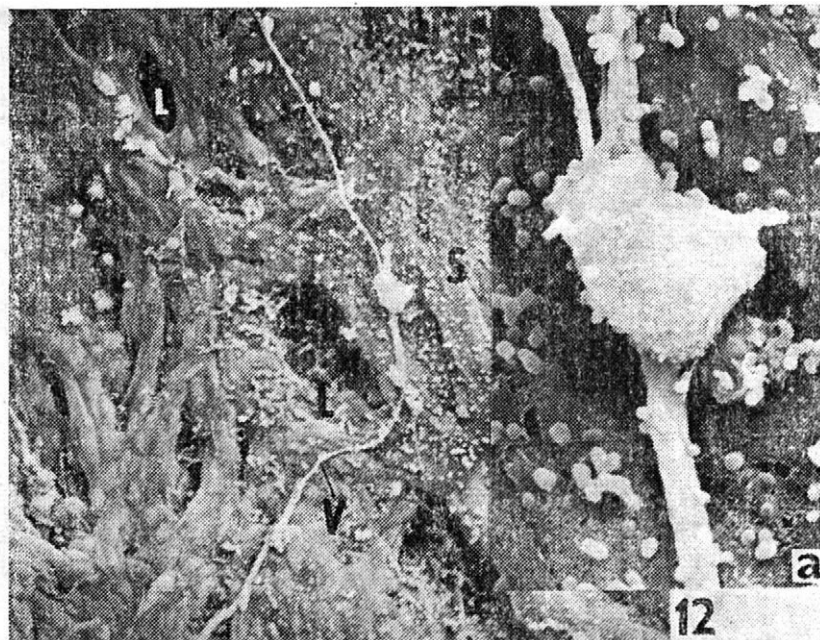
10. Husté, drobné „blebs“ na povrchu *eminentia mediana* capa — obdobie pripúšťania; (zväčšenie 1200X): a — detail („blebs“ z rovnakého miesta (zväčšené 5900X) — Dense, tiny blebs on the surface of *eminentia mediana* of billy-goat — mating season; (enlarged 1200X): a -- a detail view of blebs from the same spot (enlarged 5900X)

období (anestrus, samce mimo sezóny pripúšťania). Najväčší počet sférických „blebs“ na povrchu *eminentia mediana* kôž sa vyskytoval u samíc počas estru, u samcov v sezóne pripúšťania.

Keď vychádzame z predpokladu, že sférické protrúzie (blebs), ktoré sa nachádzajú na povrchu ventrikulárneho systému CNS predstavujú produkt apikálnej endymosekrécie (Kumar, 1968; Schwanitz, 1969;

11. Mriežkový vzor tvorený vonkajšími medzibunečnými spojmi na dne lakúny; *eminentia mediana*, hermafrodit; (zväčšenie 1200X) — The lattice formed by external intracellular links at the lacuna bottom; *eminentia mediana*, hermaphrodite; (enlarged 1200X)





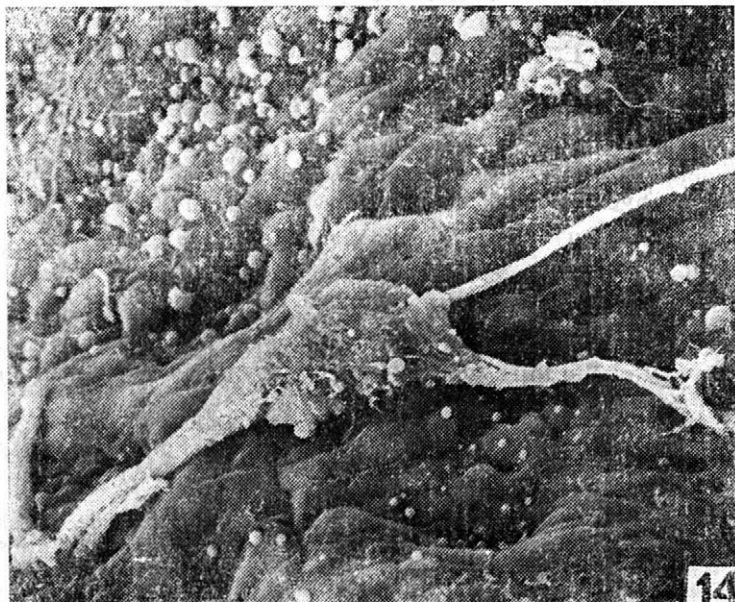
12. Supraependymová bunka z povrchu *eminentia mediana* kozy — proestrus; (zväčšenie 230X): a — detail z obr. 12 (zväčšenie 1150X); L — lakúny, S — drobné sférické „blebs“, V — výbežok — A supraependymal cell from the surface of *eminentia mediana* of goat — pro-oestrus; (enlarged 230X): a — a detail view of Fig 12 (enlarged 1150X); L — lacunas, S — tiny spherical blebs, V — process



13. Supraependymová bunka z povrchu *eminentia mediana* capa — „kľudové“ obdobie; (zväčšenie 620X): S — ojedinelé sférické „blebs“ — A supraependymal cell from the surface of *eminentia mediana* of billy-goat — rest period; (enlarged 620X): S — solitary spherical blebs

14. Supraependymová bunka s vretenovitým telom z povrchu *eminentia mediana* hermafrodita; (zväčšenie 1150X) —

A supraependymal cell with the spindle-shaped body from the surface of *eminentia mediana* of hermaphrodite; (enlarged 1150X)



Hannah a Geber, 1972; Schechter a Weiner, 1972; Booz, 1975; Shioda a i., 1977], ependymová výstelka *eminentia mediana* u kôz (samíc i samcov) vykazuje najvyšší stupeň sekrécie v období pripúšťania. Naopak, minimálna alebo nulová je v „kludovom“ období (apríl). Potvrdzuje to v plnej miere názory niektorých autorov (Knowles a Kumar, 1969; Coates, 1977; Rajtová, 1987 1988), ktorí prítomnosť „blebs“ (tzv. blebbing phenomenon) dávajú do vzťahu s estrom, resp. zmenami v hladine gonadálnych steroidov, teda s činnosťou pohlavných žliaz. Chemická povaha sférických protrúzií alebo „blebs“ nie je zatiaľ známa. Scott a i. (1975) sa však domnievajú, že koloidný obsah týchto štruktúr predstavuje apikálny sekrétny produkt s cieľovým orgánovým účinkom.

Diferencovaná stavba povrchu *eminentia mediana* a jej priľahlej dolnej časti III. mozgovej komory (*recessus infundibuli*) dávajú niektorí autori u potkana (Brawer a i., 1974, Mestres a Breipohl, 1976), makaka (Coates, 1977) ale aj u oviec (Rajtová a Odenthal, 1987; Rajtová, 1987, 1988) do súvisu so stavom ovariálneho cyklu. Z uvedeného by potom vyplývalo, že dolná časť III. mozgovej komory a jej dno (*eminentia mediana*) úzko súvisia s pohlavnou činnosťou a ukazujú, čo sa na povrchu tejto časti CNS počas reprodukčného cyklu odohráva.

Na povrchu *eminentia mediana*, na rozdiel od dolnej časti III. mozgovej komory, našli sme u kôz väčšie množstvo supraependymových vlákien, ale len ojedinelé supraependymové bunky. Zatiaľ čo supraependymové bunky v infundibule kôz (Rajtová, 1990) vonkajšou morfológiou podobajú sa makrofágom — II. typ (Coates, 1973a, b; 1977), supraependymové bunky na povrchu *eminentia mediana* vonkajšou morfológiou bunečného tela i výbežkov pripomínajú skôr bunky nervové — I. typ (Coates 1973a, b). Prítomnosť supraependymových buniek na povrchu *eminentia mediana* aspoň do určitej miery vysvetľuje pôvod supraependymových vlákien v tejto časti III. mozgovej komory u kôz.

- AKMAYEV, I. G. — FIDELINA, O. V. — KABOLOVA, Z. A. — POPOV, A. P. — SCHITKOVA, T. A.: Morphological aspects of the hypothalamic-hypophyseal system. VI. Medial basal hypothalamus. An experimental morphological study. Z. Zellforsch. mikrosk. Anat., 137, 1973, s. 493-512.
- AKMAYEV, I. G. — FIDELINA, O. V.: Morphological aspects of the hypothalamic-hypophyseal system. VI. The tanycytes: Their relation to the sexual differentiation of the hypothalamus. An enzyme-histochemical study. Cell Tissue Res., 173, 1976, s. 407-416.
- BITSCH, P. — SCHIEBLER, T. H.: Zur postnatalen Entwicklung der Eminentia mediana der Ratte. Z. mikrosk.-anat. Forsch., 93, 1979, s. 1-20.
- BOOZ, K. H.: Secretory phenomena at the ependyma of the III-rd ventricle of the embryonic rat. Anat. Embryol., 147, 1975, s. 143-159.
- BRAWER, J. R. — LIN, P. S. — SONNENSCHNEIN, C.: Morphological plasticity in the wall of the third ventricle during the estrus cycle in the rat: A scanning electron microscopic study. Anat. Rec., 179, 1974, s. 481-490.
- BRION, J. P. — DEPIERDEUX, M. — COUCK, A. M. — FLAMENT-DURAND, J.: Transmission and scanning electron microscopic observations on tanycytes in the mediobasal hypothalamus and the median eminence of adrenalectomized rats. Cell Tissue Res., 221, 1982, s. 643-655.
- COATES, P. W.: Supraependymal cells and surface specializations on the floor monkey third ventricle: scanning electron microscope studies. Anat. Rec., 175, 1973a, s. 294.
- COATES, P. W.: Supraependymal cells in recesses of the monkey third ventricle. Amer. J. Anat., 136, 1973b, s. 533-539.
- COATES, P. W.: The third ventricle of monkeys. Scanning electron microscopy of surface features in mature males and females. Cell Tissue Res., 177, 1977, s. 307-316.
- HANNAH, R. S. — GEBER, W.: Specializations of the ependyma in the third ventricle of the developing hamster. Amer. J. Anat., 135, 1972, s. 597-603.
- KNIGGE, K. M. — SCOTT, D. E.: Structure and function of the median eminence. Amer. J. Anat., 129, 1970, s. 223-244.
- KNOWLES, F. R. S. — KUMAR ANAND, T. C.: Structural changes related to reproduction in the hypothalamus and in the pars tuberalis of the rhesus monkey. Part I. The hypothalamus. Phil. Trans. Roy. Soc. London, Ser. B, 256, 1969, s. 357-375.
- KOBAYASHI, H. — NOZAKI, M. — UEMURA, H. — ICHIKAWA, T. — TSUNEKI, K. — ASAI, T.: Function of the tanycyte of the median eminence. Nova Acta Leop. N. F., 9, 1977, s. 53-58.
- KOBAYASHI, H.: Absorption of cerebrospinal fluid by ependymal cells of the median eminence. Nova Acta Leop. N. F., 9, 1977, s. 119-122.
- KUMAR ANAND, T. C.: Sexual differences in the ependyma lining the third ventricle in the area of the anterior hypothalamus of adult rhesus monkeys. Z. Zellforsch., 90, 1968, s. 28-36.
- MARANI, E. — RIETVELD, W. J. — BOON, M. E. — GERRITS, N. M.: Fluorescence-displacement from the median eminence towards the arcuate nucleus at puberty. Histochem. J., 73, 1981, s. 165-169.
- MESTRES, P. — BREIPOHL, W.: Morphology and distribution of supraependymal cells in the third ventricle of the albino rat. Cell Tissue Res., 168, 1976, s. 303-314.
- MURAKAMI, T. — YAMAMOTO, K. — ITOSHIMA, T.: Modified tanin-osmium conductive staining method for non coated SEM specimens and application to micro-section SEM of spleen. Arch. histol. jap., 40, 1977, s. 35-40.
- NAFY, L. — RÉTHELYI, M.: Neuronal pathways to the margin of the hypothalamic median eminence and to the pituitary stalk of the rat. Acta morphol. Acad. Sci. hung. 27, 1979, s. 281-295.
- NOZAKI, M. — KOBAYASHI, H.: Monoamine fluorescence in the median eminence of the Japanese quail, *Coturnix coturnix japonica*, following, medial basal hypothalamic deafferentation. Cell Tissue Res., 164, 1975, s. 425-434.
- RAJTOVÁ, V. — ODEHNAL, F.: The ependyma lining the infundibular recess in the sheep: A scanning electron microscopy study. Folia morphol. (Praha), 35, 1987, s. 361-365.
- RAJTOVÁ, V.: The morphology and occurrence of the supraependymal structures in the ventricular system of the brain of sheep (in slov.). Veter. Med. (Praha), 32, 1987, s. 489-495.
- RAJTOVÁ, V.: Ependym beim Schaf: 5. Teil. Ependymauskleidung der Gehirnkammern im Rasterelektronenmikroskop. J. Hirnforsch., 29, 1988, s. 221-235.

- RAJTOVÁ, V.: Ependyma of the goat. I. Scanning electron microscopy study. J. Hirnforsch., 31, 1990, s. 298-303.
- RINNE, U. K.: Ultrastructure of the median eminence of the rat. Z. Zellforsch., 74, 1966, s. 98-122.
- RODRÍGUEZ, E. M. — GONZÁLEZ, C. B. — DELANNOY, L.: Cellular organization of the lateral and postinfundibular regions of the median eminence in the rat. Cell Tissue Res., 201, 1979, s. 377-408.
- RÜTZEL, H. — SCHIEBLER, T. H.: Neonatal and early postnatal development of the glial cells in the median eminence of the rat. Cell Tissue Res., 211, 1980, s. 111-137.
- SCHECHTER, J. — WEINER, R.: Ultrastructural changes in the ependymal lining of the median eminence following the intraventricular administration of catecholamine. Anat. Rec., 172, 1972, s. 643-650.
- SCHIEBLER, T. H. — ZABORSZKY, L.: Über das Ependym und die Glia der *Eminentia mediana* von Ratten. Nova Acta Leop., 9, 1977, s. 39-43.
- SCHWANITZ, W.: Die topographische Verteilung supraependymaler Strukturen in den Ventrikeln und Zentralkanal des Kaninchengehirns. Z. Zellforsch., 100, 1969, s. 536-551.
- SCOTT, D. E. — KROBISCH-DUDLEY, G. — PAULL, W. K. — KOZLOWSKI, G. P. — RIBAS, J.: The primate median eminence. I. Correlative scanning-transmission electron microscopy. Cell Tissue Res., 162, 1975, s. 61-73.
- SHIODA, S. — HONMA, Y. — YOSHIE, S. — HOSOYA, Y.: Scanning electron microscopy of the third ventricular wall in the lamprey, *Lampetra japonica*. Arch. histol. jap., 40, 1977, s. 41-49.
- UEMURA, H. — ASAI, T. — NOZAKI, M. — KOBAYASHI, H.: Ependymal absorption of luteinizing hormone-releasing hormone injected into third ventricle of the cat. Cell Tissue Res., 160, 1975, s. 443-452.
- ZABORSZKY, L. — SCHIEBLER, T. H.: Über die Glia der *Eminentia mediana*. Elektronenmikroskopische Untersuchungen an normalen adrenaletomierten und kastrierten Ratten. Z. mikrosk.-anat. Forsch., 92, 1978, s. 781-799.

Došlo dňa 12. 4. 1989

РАЙТОВА, В. (Ветеринарный институт, Кошице): Эпендимный эпителий *eminencia mediana* у козы. Veter. Med. (Praha), 35, 1990 (5) : 291-302.

Изучение в световом микроскопе показало, что эпендимный эпителий *eminencia mediana* коз создан β_2 танацитами, базальные выступы которых достигают к поверхности внешней зоны и которые во внутренней зоне развито разветвляются. Наиболее толстая внутренняя зона, созданная густыми разноразнообразными волокнами. Рядкующий электронный микроскоп показал, что строение эпендимной поверхности *eminencia mediana* коз зависит от состояния половой деятельности соответствующей особи. У самок и самцов в период «спокойствия» (анестр, вне сезона, апрель) находки почти такие же (преобладание эпендиморезорбции); такие же результаты у самок и самцов в период случки (гиперэндимовыделение, октябрь, ноябрь). Характерно также строение эпендимного эпителия *eminencia mediana* у самок в подготовительной проэстрической фазе цикла, когда результаты почти такие же как находка у гермофродита (выделение и резорбция почти равновесны). Распространение супраэпендимных клеток на поверхности *eminencia mediana* редкое. Дело касается клеток, которые внешне морфологически очень похожие на нервные клетки. Их находка только частично объясняет присутствие супраэпендимных волокон на поверхности дна третьей мозговой камеры. Изучение показало отчетливое, сексуально дифференцированное, строение поверхности эпендимного эпителия *eminencia mediana* коз, что подтверждает участие танацитов при управлении воспроизводственным циклом.

ЦНС; *eminencia mediana*; эпендим; коза; козел

RAJTOVÁ, V. (University of Veterinary Medicine, Košice): Ependymal epithelium of *eminencia mediana* in goats. Veter. Med. (Praha), 35, 1990 (5) : 291-302.

Ependymal epithelium of *eminencia mediana* in goats, examined under a light microscope, was found to be formed by β_2 tanocytes, basal processes reaching the surface of *zona externa* and bifurcating in *zona interna*. The thickest is *zona interna*,

consisting of dense fibres of different arrangement. A scanning electron microscope revealed that the structure of the ependymal surface of *eminentia mediana* in goats depends on the phase of sexual activity of a given individual. In female and male animals the findings are almost identical (ependymoresorption is prevailing) in the period of quiescence (anoestrus, out of the season, April); an analogical situation was observed in females and males in the period of mating (hyperependymosecretion, October, November). The ependymal surface of *eminentia mediana* in female animals has also a typical structure in the preparatory pro-estrous stage of sexual cycle, when the results were almost identical with those in a hermaphrodite (secretion and resorption are almost equilibrated). The occurrence of supraependymal cells on the surface of *eminentia mediana* is scarce. These cells are very similar to nerve cells as to their external morphological structure. The presence of supraependymal fibres on the surface of the bottom of the IIIrd cerebral ventricle can be explained only partly by the finding of supraependymal cells. The investigations revealed that the structure of the surface of the ependymal epithelium of *eminentia mediana* in goats is markedly differentiated according to the sex; this confirms the participation of tanyocytes in the control of the reproductive cycle.

central nervous system; *eminentia mediana*; ependyma; goat; billy-goat

RAJTOVÁ, V. (Veterinärmedizinische Hochschule, Košice): *Ependymepithel der eminentia mediana bei der Ziege*. Veter. Med. (Praha), 35, 1990 (5) : 291-302.

Studien im optischen Mikroskop zeigten, daß das Ependymepithel der *eminentia mediana* bei der Ziege durch β 2-Tanyzyten gebildet ist, deren Basalausläufer zur Oberfläche der *zona externa* reichen und die sich in der *zona interna* gabelförmig verzweigen. Am stärksten ist die *zona interna*, die durch dichte, verschiedenartig angeordnete Fasern gebildet wird. Ein Raster-Elektronenmikroskop zeigte, daß die Ependymstruktur der Oberfläche der *eminentia mediana* der Ziege vom Zustand der Sexualtätigkeit des einzelnen Individuums abhängt. Sowohl bei den männlichen als auch weiblichen Tieren sind in der „Ruheperiode“ (Anöstrus, außerhalb der Saison, April) die Befunde nahezu identisch (überwiegend ist die Ependymresorption; analog ist es auch bei beiden Geschlechtern während der Deckperiode (Hyperependymosekretion, Oktober, November). Charakteristisch ist ebenfalls die Ependymstruktur der Oberfläche der *eminentia mediana* bei den Muttertieren in der proöstrischen Vorbereitungsphase des Zyklus, wo die Ergebnisse mit dem Befund bei Hermaphroditen nahezu identisch sind (Sekretion und Resorption sind fast im Gleichgewicht). Das Vorkommen von Supraependymzellen an der Oberfläche der *eminentia mediana* ist nur vereinzelt. Es handelt sich um Zellen, die in ihrer äußeren Morphologie den Nervenzellen ähneln. Deren Fund erklärt ein Vorhandensein von Supraependymfasern an der Oberfläche des Grunds der III. Gehirnkammer nur teilweise. Das Studium brachte eine ausgeprägt sexual differenzierte Struktur der Oberfläche des Ependymepithels der *eminentia mediana* bei den Ziegen an den Tag, was eine Beteiligung ihrer Tanyzyten an der Steuerung des Reproduktionszyklus bestätigt.

Zentralnervensystem; *eminentia mediana*; Ependym; Ziege; Bock

Adresa autorky:

MVDr. Viera Rajtová, CSc., Vysoká škola veterinárska, Komenského 73, 041 81 Košice

ÚČINEK POLYCHLOROVANÝCH BIFENYLŮ NA ORGANISMUS KUŘAT: PATOLOGICKÉ ZMĚNY ORGÁNŮ PO KRÁTKODOBÉM A DLOUHODOBÉM PŘÍJMU DELORU 103

R. Halouzka, J. Ruprich, A. Piskač

HALOUZKA, R. — RUPRICH, J. — PISKAČ, A. (Vysoká škola veterinární, Brno; Institut hygieny a epidemiologie, Brno): *Účinek polychlorovaných bifenylyů na organismus kuřat: patologické změny orgánů po krátkodobém a dlouhodobém příjmu Deloru 103*. Veter. Med. (Praha), 35, 1990 (5) : 303-312.

Podání experimentálně kontaminovaného krmiva Delorem 103 v dávce 1000 mg . kg⁻¹ krátkodobě (jeden týden), způsobilo více než 30% mortalitu kuřat, výrazné cytolytické změny v centrálních lymfatických orgánech, atrofii štítné žlázy, dystrofii jater s hyperplazií epitelu intrahepatických žlučových cest a hydroperikard. Dávky 150 mg a 75 mg Deloru 103 na 1 kg krmiva podávaného dlouhodobě (čtyři týdny) se neprojevovaly výraznými vzájemnými rozdíly v patologických změnách. Ve srovnání s lézemi zjištěnými po aplikaci vysoké dávky krátkodobě, byly léze ve Fabriciově burze a thymu analogické, ale méně intenzivní, spočívaly v různém stupni deplece zárodečných center a od sedmého a osmého týdne jsme pozorovali i dystrofické změny ledvin a varlat. Současně byly patrné ve všech vyšetřovaných orgánech od sedmého týdne známky reparativních procesů. Za pravidelně se vyskytující morfologické změny při intoxikaci PCB u drůbeže považujeme cytolýzu centrálních lymfatických orgánů a hydroperikard.

PCB; drůbež; patologické změny

Zájem o biologické a toxikologické účinky PCB je možno z velké části přičíst zjištění, že se jedná o vysoce stabilní, průmyslově vyráběné produkty, které byly identifikovány téměř ve všech komponentech zemského ekosystému, včetně lidské tukové tkáně, krve a mléka (Fukano a Doguchi, 1977). Po více než 30 letech výroby a používání PCB se zjistilo, že nejsou neškodné pro životní prostředí a jejich účinky na organismus se začala zabývat celá řada autorů, jak o tom referujeme v předcházející práci (Piskač, Ruprich, Halouzka, 1990).

Hlavní chorobné změny orgánů při intoxikaci PCB zjištěné různými autory u různých zvířat včetně drůbeže uvádí ve své monografii Safe aj. (1987). Vlivem organochlorovaných insekticidů, které mají podobné účinky jako PCB se u nás zabýval Adamec (1977). Účinky PCB na zdravotní stav drůbeže, snášku a líhivost studovali u nás např. Košťutský aj. (1977, 1979), Herzig (1984, 1987), v zahraničí např. Lillie aj. (1975). Známé jsou výskyty „edémové“ choroby drůbeže u nás, v zahraničí také označované jako „toxic fat syndrome“ (Hofstad aj., 1984) s polychlorovanými deriváty dibenzo-p-dioxinu jako hlavními etiologickými činiteli (Hofstad aj., 1984) a s prakticky totožným pa-

tologickým nálezem jako u intoxikace PCB. Detailní morfologické studie u drůbeže jsou však sporé.

Předložená práce je součástí rozsáhlejšího šetření změn zdravotního stavu vznikajících v organismu kuřat po aplikaci Deloru 103 obsahujícího polychlorované bifenylly. Práce navazuje na předcházející sdělení (Piskač, Ruprich, Halouzka, 1990) s cílem popsat vzniklé patologické změny orgánů při různých dávkách Deloru 103 zkrmovaných různou dobu a jejich možné ovlivnění.

MATERIÁL A METODY

V pokusu jsme použili kohoutky nosného hybrida Hisex bílý, chované na hluboké podestýlce při kontinuálním osvětlení. Krmivo a voda byly přístupny *ad libitum*. Do tří týdnů věku jsme použili krmnou směs K 1, do konce pokusu krmnou směs BR 1. Jako zdroj PCB jsme použili čs. přípravek Delor 103 (výrobce n.p. Chemko Strážské) s obsahem 42 % chlóru, který jsme pro kontaminaci krmiva rozpustili v acetonu. Hormonální přípravek Thyreoidin Spofa a tyreostatikum Carbimazol Spofa byly podávány v prášku.

A) V první části pokusu (krátkodobé podávání vysokých dávek Deloru 103 s terapeutickým ovlivněním) jsme kuřata ve věku jednoho týdne rozdělili do pěti skupin po 17 kuřatech:

1. skupina — kontrolní, krmena pouze kompletní krmnou směsí;
2. skupina — krmena krmnou směsí od prvního do druhého týdne věku kontaminovanou 1000 mg Deloru 103 na 1 kg směsi a od prvního do čtvrtého týdne věku s přídavkem 300 mg Thyreoidinu Spofa na 1 kg krmiva;
3. skupina — krmena od prvního do čtvrtého týdne věku směsí s přídavkem 100 mg Carbimazolu Spofa na 1 kg krmiva;
4. skupina — krmena od prvního do čtvrtého týdne věku směsí s přídavkem 300 mg Thyreoidinu Spofa na 1 kg krmiva;
5. skupina — krmena od prvního do druhého týdne věku směsí s přídavkem 1000 mg Deloru 103 na 1 kg krmiva.

Kuřata byla utracena a vykřvena po čtvrtém týdnu pokusu.

B) Ve druhé části pokusu (dlouhodobé podávání nízkých a středních dávek Deloru 103) jsme kuřata ve věku dvou týdnů rozdělili do tří skupin po 30 kuřatech:

1. skupina — kontrolní, krmena pouze kompletní krmnou směsí;
2. skupina — od druhého do šestého týdne věku krmena směsí kontaminovanou 75 mg Deloru 103 na 1 kg směsi;
3. skupina — od druhého do šestého týdne věku krmena směsí kontaminovanou 150 mg Deloru 103 na 1 kg směsi.

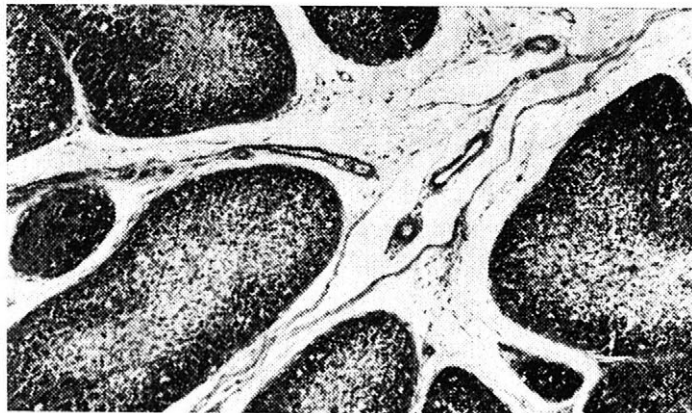
V týdenních intervalech, od šestého týdne do osmého týdne věku včetně, bylo z každé skupiny utraceno a vykřveno osm kuřat.

V obou částech pokusu jsme průběžně sledovali klinické příznaky intoxikace a týdně měřili hmotnost kuřat. Získané sérum jsme použili k hodnocení koncentrace hormonů T₄ a T₃, iontů Na⁺, K⁺, Ca⁺⁺ a celkového vápníku. Utracená kuřata byla morfologicky vyšetřena a odebrány vzorky Fabriciovy burzy, thymu, sleziny, štítné žlázy, jater a myokardu na histologické vyšetření. Makroskopicky změněné jiné orgány byly rovněž histologicky vyšetřeny. Po fixaci v neutrálním 10% formaldehydu byly vzorky zpracovány běžnou technikou zalévání do parafínu a barveny přehledně hematoxilínem a eosinem. Celkem jsme v první části pokusu histologicky vyšetřili orgány 40 kuřat (z každé skupiny osm kuřat) a ve druhé části pokusu orgány 24 kuřat.

VÝSLEDKY

Hodnocení klinického stavu, hmotností, koncentrace hormonů T₄ a T₃, iontů Na⁺, K⁺ a Ca⁺⁺ a celkového vápníku bylo předmětem předcházejícího sdělení (Piskač, Ruprich, Halouzka, 1990).

1. Počínající deplece zárodečných center folikulů BF, interfolikulární edém (HE, ok. 10, obj. 16) — Incipient depletion of germinal centres of BF follicles, interfollicular oedema (HE, eyepiece 10, lens 16)

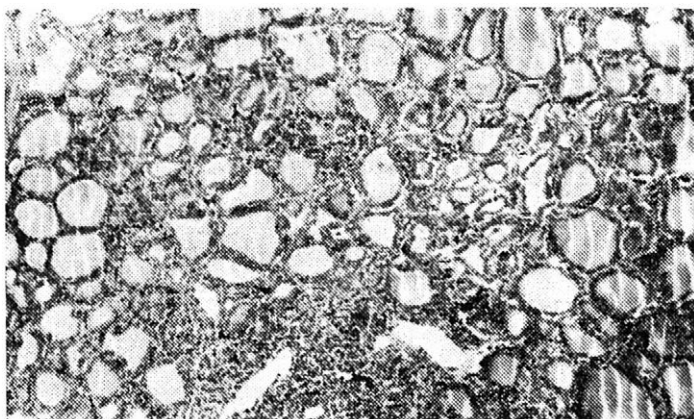


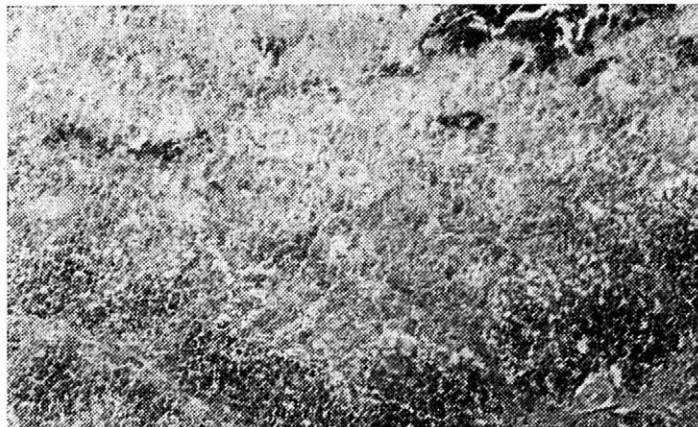
A) KRÁTKODOBÉ PODÁVÁNÍ VYSOKÝCH DÁVEK DELORU 103

1. skupina — makroskopicky orgány bez morfologických změn; mikroskopicky jsme nezjistili žádné změny vyšetřovaných orgánů.

2. skupina — makroskopicky: v průběhu dvou týdnů uhynulo celkem šest kuřat. Kuřata jevila známky zpomaleného růstu, s poruchami opeření. U všech jsme zjistili různý stupeň hydroperikardu (5 až 15 ml čirého transudátu), zmenšené Fabriciovy burzy, sleziny a thymus, mírnou hyperémii střeva, křehká játra a zmenšenou štítnou žlázu. Mikroskopicky: BF — zprohýbání epitelu klků, vakuolární dystrofie epiteliálních buněk až tvorba intraepiteliálních cyst, vytváření výrazných záhybů sliznice klků, různý stupeň deplece germinálních center lymfatických folikulů, kompenzační hyperplazie retikulárních a dendritických elementů v centru folikulů, edém interfolikulární tkáně s mírnou lymfocytární a granulocytární infiltrací s příměsí makrofágů a výrazné zeslabení kory folikulů (obr. 1). Thymus — u většiny kuřat regrese kory lalůček, monocelulární i multicelulární nekrózy lymfocytů, sporadické infiltrace granulocyty. Slezina — častá hyperplazie retikula a atrofie lymfatické tkáně. Thyreoidea — nesterilně velké folikuly, místy až atrofované, některé s vysokým epitelem a lymfoidními infiltracemi v intersticiu (obr. 2). Játra — u většiny kuřat steatóza, mírná proliferace žlučových v portobiliárních prostorech, hyperplazie epitelu žlučových a sporadická nekrotická ložiska se zánětlivou demarkací.

2. Atrofie štítné žlázy s lymfoidní infiltrací (HE, ok. 10, obj. 16) — Atrophy of the thyroid with lymphoid infiltration (HE, eyepiece 10, lens 16)



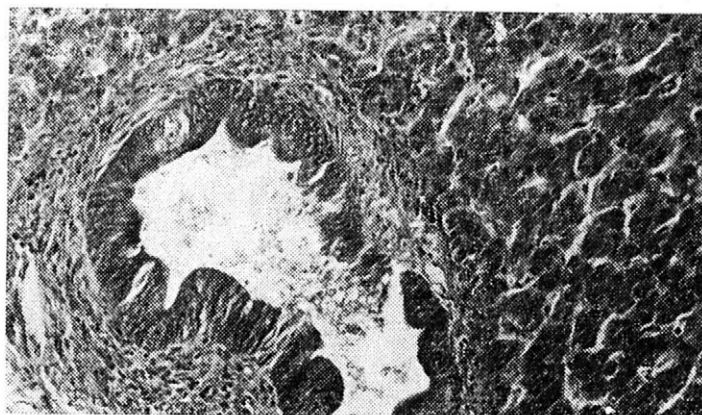


3. Atrofie kůry lalůček thymu (HE, ok. 10, obj. 16) — Atrophy of thymus lobular cortex (HE, eyepiece 10, lens 16)

3. skupina — makroskopicky kuřata hmotnostně větší než kuřata ve skupině 1 a 2, v některých případech mírně zvětšené Fabriciovy burzy. Mikroskopicky: Ve Fabriciově burze u dvou kuřat hyperplazie lymfatických folikulů, ve štítné žláze některé folikuly silně zmenšené. V ostatních orgánech jsme nezjistili morfologické změny.

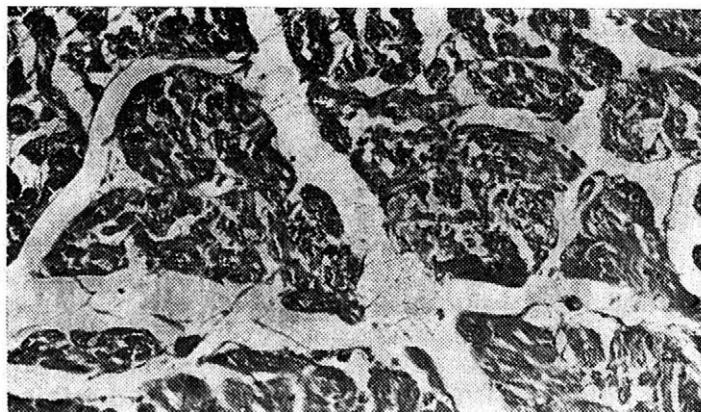
4. skupina — makroskopicky bez výrazných změn. Mikroskopicky: pouze v myokardu jsme zjistili drobné petechie a sporadická lymfocytární ložiska. Ostatní orgány byly bez morfologických změn.

5. skupina — z této skupiny uhynulo v průběhu dvou týdnů pět kuřat. Makroskopickým vyšetřením jsme pozorovali u všech kuřat různý stupeň hydroperikardu (3 až 15 ml čirého transudátu), ojediněle i s krví, u tří kuřat celkový hydrops, u dvou kuřat ikterus s mírně hrbolatými a křehkými játry, v některých případech s ojedinělými krváčeninami ve svalovině břišních a myokardu. Mikroskopicky: BF — deplece zárodečných center lymfatických folikulů různé intenzity, deskvamace epiteliálních buněk kortikomedulární membrány, sporadicky jsme pozorovali tvorbu syncytiálních útvarů ve dřeni folikulů, edém interfolikulární tkáně a v některých případech až totální atrofii lymfatické tkáně BF. Thymus — u většiny kuřat různý stupeň atrofie kory lalůček s převahou dřevňových struktur (obr. 3). Slezina — nezjistili jsme žádné morfologické změny. Thyreoidea — častý byl kolaps folikulů s celkovou atrofií. Játra — vakuolární, někdy granulózní dystrofie, různý stupeň fibroproduktivních



4. Hyperplazie výstelky a dystrofické změny epiteliálních buněk žlučovýchodů (HE, ok. 10, obj. 40) — Epithelial hyperplasia and dystrophic changes in epithelial cells of bile ducts (HE, eyepiece 10, lens 16)

5. Edém myokardu (HE, ok. 10, obj. 16) — Myocardium oedema (HE, eyepiece 10, lens 16)



změn v portobiliárních prostorech s lymfoidní infiltrací. U některých kuřat jsme pozorovali hyperplastické změny žlučových, někdy i s regresivními změnami výstelky (obr. 4). Myokard — často se vyskytující drobná zánětlivá ložiska složená z lymfocytů a plazmatických buněk, rozvolnění vláken myokardu, někdy ztráta barvitelnosti a pyknóza jader, perivaskulární edém a častá byla vakuolizace endotelu kapilár (obr. 5). Střevo — ve dvou případech jsme pozorovali deskvamující zánět střeva s hojnými erytrocyty v exsudátu.

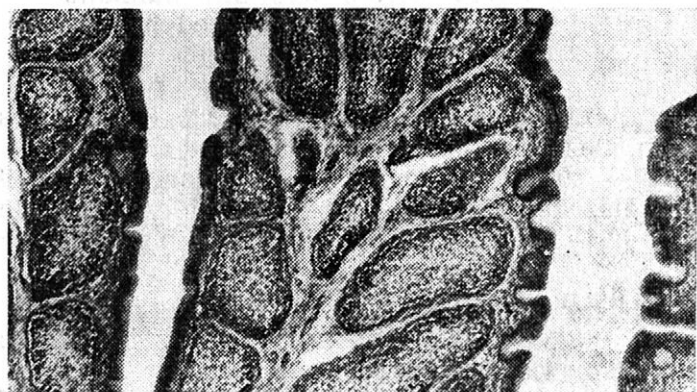
B) DLOUHODOBÉ PODÁVÁNÍ NÍZKÝCH A STŘEDNÍCH DÁVEK DELORU 103

6. týden věku:

1. skupina — makroskopicky orgány bez morfologických změn, mikroskopicky jsme nezjistili žádné změny vyšetřovaných orgánů.

2. skupina — makroskopicky: u všech kuřat jsme zjistili výrazné zaostávání růstu, u pěti kuřat různý stupeň hydroperikardu (5 až 10 ml čirého transudátu), lymfatické orgány nápadně menší velikosti než orgány kontrolních kuřat. Mikroskopicky: BF — pozorovali jsme sporadické intraepiteliální cysty, různý stupeň deplece zárodečných center folikulů s celkovou atrofií (pět kuřat). Téměř u všech kuřat byla evidentní počínající interfolikulární fibróza (obr. 6). Thymus — různý stupeň atrofie kory, někdy hyperémie dřeně, — slezina — bez výrazných změn, thy-

6. Deplece center folikulů BF, reparativní procesy — fibróza, zprohýbání epitelu klků (HE, ok. 10, obj. 6,3) — Depletion of germinal centres of BF follicles, reparative processes — fibrosis, sinuation of villus epithelium (HE, eyepiece 10, lens 6.3)



reoidea — bez výrazných mikroskopických změn. Játra — u všech vyšetřovaných kuřat aktivace RHS, hyperémie, disociace jaterních buněk, ojediněle rezidua embryonální hemopoézy, mírná perivaskulární a peribiliární fibróza. Myokard — edém perivaskulárních prostorů, sporadické petechie u čtyř kuřat.

3. skupina — makroskopicky: u pěti kuřat hydroperikard a sporadické petechie v prsních a běhákových svalech, velikostní nesourodost lymfatických orgánů. Mikroskopicky: BF — různě intenzivní deplece zárodečných center lymfatických folikulů, ojediněle dystrofie FAE buněk, zprohýbání epitelu klků, u jednoho kuřete solitární interfolikulární granulom. Thymus — různý stupeň atrofie kory, slezina — bez morfologických změn, thyreoidea — bez výrazných morfologických změn, játra — u tří kuřat zvýšené množství lymfatických nahloučení v portobiliárních prostorech i mezi jaterními buňkami. Myokard — u pěti kuřat perivaskulární edém různé intenzity, interfibrilární petechie, rozvolněnost vláken a zduření endotelů kapilár.

7. týden věku:

1. skupina — makroskopicky orgány bez morfologických změn, mikroskopicky nezjištěny morfologické změny.

2. skupina — makroskopicky: u všech kuřat různý stupeň hydroperikardu (3 až 10 ml čirého transudátu), u jednoho kuřete generalizovaný edém tkání, dvě kuřata zakrslá, u jednoho kuřete játra tuhé konzistence s nerovným povrchem a žlutohnědou barvou. Kuřata ve srovnání s kontrolami velikostně menší. Mikroskopicky: BF — u čtyř kuřat deplece zárodečných center postihující převážně folikuly lokalizované na vrcholcích klků, zprohýbání povrchového epitelu klků a limitující kortikomedulární membrány, někdy nápadné retikulární elementy ve dřeni, u jednoho kuřete edém interfolikulární tkáně a deskvamace epiteliálních buněk do centra folikulů. Thymus — u jednoho kuřete velmi početná Hassalova tělíska ve dřeni a atrofie kůry, slezina — bez výrazných morfologických změn, thyreoidea — zmenšení folikulů, ojedinělé lymfoidní infiltrace v intersticiu. Játra — u tří kuřat steatóza, u ostatních granulózní dystrofie, disociace jaterních buněk, počínající proliferace vaziva, u jednoho kuřete ložisková dystrofie charakteru vakuolárních změn. Myokard — interfibrilární edém, sporadické petechie a zánětlivá ložiska.

3. skupina — makroskopicky: mírný stupeň hydroperikardu u všech kuřat, u jednoho kuřete enormní kumulace transudátu v perikardu (15 ml), játra tužší konzistence a šedohnědé barvy, šedá ložiska v ledvinách. Mikroskopicky: BF — u všech kuřat různý stupeň postižení, od mírné deplece zárodečných center až po totální atrofii folikulů a výraznou fibroprodukcí (obr. 7). Thymus — bez výrazných morfologických změn, slezina — bez výrazných změn, thyreoidea — bez výrazných změn, játra — různý stupeň přestavby parenchymu a fibrózy s disociací jaterních žlázek, myokard — časté petechie, edém a ložiska zánětlivé reakce, ledviny — výrazná granulózní dystrofie výstelky tubulů.

8. týden věku:

1. skupina — makroskopicky bez morfologických změn, mikroskopicky jsme nezjistili výrazné změny.

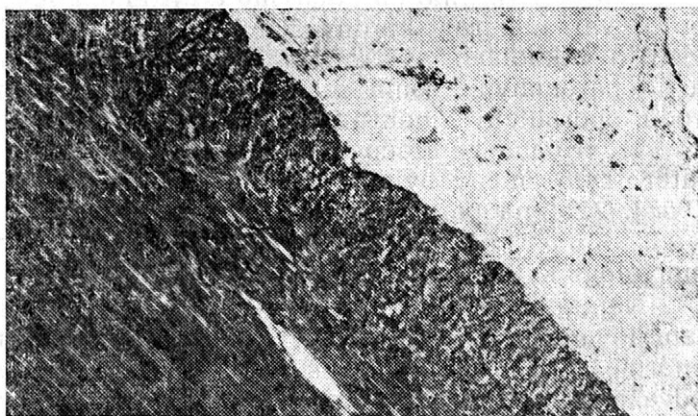
2. skupina — makroskopicky: u čtyř kuřat různý stupeň hydroperi-

7. Atrofie folikulů, výrazná fibroprodukce v interfolikulární tkáni (HE, ok. 10, obj. 16) — Atrophy of follicles, marked fibroproduction in the interfollicular tissue (HE, eyepiece 10, lens 16)



kardu, u jednoho kuřete dystrofické změny myokardu, u dvou kuřat zmenšené Fabriciovy burzy a varlata, sporadické krváceniny ve svalovině běháků a myokardu. Mikroskopicky: BF — u tří kuřat mírná deplece lymfatických folikulů se zesílením kortikomedulární membrány a zprohýbáním klků. Thymus — bez morfologických změn, slezina — u dvou kuřat ložisková proliferace lymfatické tkáně, thyreoidea — u dvou kuřat ložisková fibróza s lymfoidními infiltracemi v interfolikulární tkáni. Játra — u tří kuřat v portobiliárních prostorech lymfoidní infiltrace s proliferací žlučových, ojediněle nekrotické změny epitelu velkých žlučových a známky hyperplazie výstelky žlučových. Myokard — u jednoho kuřete nápadné dystrifické změny vláken s mírnou zánětlivou reakcí, u tří kuřat mírný edém a diskrétní petechiální krváceniny, varle — u dvou kuřat ložiska lymfoidních buněk v intersticiu varletního parenchymu komprimující spermogenní kanálky. Parathyreoidea — bez výrazných morfologických změn, ledviny — sporadická vakuolární dystrofie tubulů.

3. skupina — makroskopicky: u pěti kuřat mírný hydroperikard, ojediněle petechie ve svalovině běháků, u jednoho kuřete dystrofie myokardu a ledvin, zmenšené lymfatické orgány a varlata. Mikroskopicky: BF — u dvou kuřat mírná deplece folikulů a edém interfolikulární tkáně. Thymus — u dvou kuřat atrofie kůry a krváceniny ve dřeni lalůček, slezina — bez morfologických změn, thyreoidea — mírná fibróza interfolikulární tkáně s lymfoidní infiltrací. Játra — u tří kuřat hyperémie,



8. Subepikardiální edém (HE, ok. 10, obj. 6,3) — Subepicardial oedema (HE, eyepiece 10, lens 6.3)

proliferace RHS a počínající proliferace žlučových s dystrofickými a hyperplastickými změnami epitelu. Myokard — u jednoho kuřete výrazná myodystrofie, u ostatních interfibrilární edém, ojediněle s akumulací transudátu pod epikardem (obr. 8). Ledviny — u dvou kuřat dystrofické změny epitelu kanálků v korové části s mírnou dilatací a přítomností eosinofilních válců v lumen kanálků. Varle — sporadická lymfoidní ložiska s dystrofií epitelu přilehlých kanálků.

DISKUSE

Z morfologického vyšetření orgánů experimentálních kuřat, kterým byl krátkodobě podáván Delor 103 ve vysoké dávce (část A) vyplývá, že se u kuřat skupiny 2 a 5 projevil silný cytolytický účinek podané substance na primární lymfatické orgány, Fabriciovu burzu a thymus. Ve slezině se tento účinek tak výrazně neprojevil. Cytolytické změny byly různé intenzity, od nekrotizace individuálních lymfocytů a retikulárních buněk až po totální depleci zárodečných center folikulů burzy a korových částí thymu s následnými sekundárními změnami. Tento náález potvrzuje zjištění i jiných autorů (Safe aj., 1987) o supresorickém účinku PCB na lymfatické orgány savců a ptáků.

Přídavek hormonu štítné žlázy kuřatům skupiny 2 neměl vliv na kvantitu ani kvalitu patologických změn lymfatických orgánů ve srovnání se skupinou 5.

Přídavek Thyreoidinu (skupina 2 a 4) a Carbimazolu (skupina 3) byl veden snahou ovlivnit funkci a případné morfologické změny štítné žlázy, neboť bylo prokázáno (Piskač, Ruprich, Halouzka, 1990), že Delor 103 má inhibiční vliv na koncentrace T_4 a T_3 v séru. U kuřat skupiny 2, 3 a 5 jsme pozorovali různý stupeň atrofie štítné žlázy, sporadicky i s lymfoidními infiltracemi v interfolikulárních prostorech. Tyto změny nejsou po aplikaci PCB v literatuře popisovány a jejich interpretace je obtížná. Z našeho pozorování se zdá, že Delor 103 má v etiopatogenezi patologických změn ve štítné žláze určitý význam, což odpovídá i našim šetřením hladin T_4 a T_3 v séru kuřat intoxikovaných Delorem 103 (Piskač, Ruprich, Halouzka, 1990). Tyreostatický účinek Carbimazolu se projevil i ojedinělými změnami štítné žlázy, podobnými jako po intoxikaci Delorem 103, ale tyto změny byly méně intenzivní.

Změny jaterního parenchymu a intrahepatických žlučových cest jsme pozorovali u kuřat skupiny 2 a 5. Změny byly charakterizovány granulární a vakuolární dystrofií až výraznou steatózou. U výrazněji postiženého parenchymu jsme současně pozorovali hyperplazii epitelu žlučových, sporadicky i nekrotické změny výstelky. Cholestáze ve formě žlučových trombů ve žlučových kapilárách svědčí o silně narušené funkci jater. Tyto změny byly již také u intoxikací PCB popsány (Safe aj., 1987). Zjištěná porucha mechanismu přeměny hormonu T_4 na T_3 (Piskač, Ruprich, Halouzka, 1990) bude zřejmě následkem těchto morfologických změn jater.

Nejnápadnějším patologickým nálezem u kuřat krmených směsí kontaminovanou Delorem 103 byl hydroperikard různého stupně, někdy až enormní (10 až 15 ml transudátu) u kuřat skupiny 2 a 5. U drůbeže je považován za specifický pro intoxikaci halogenovými aromatickými uhlo-

vodíky, u savců se nezjišťuje (Safe aj., 1987) a je důkazem kvalitativně odlišných reakcí různých druhů na intoxikaci. Vzhled transudátu (bez fibrinu) a vlastního perikardu svědčí o rychlém vzniku následkem poruchy permeability krevních kapilár srdečního svalů. Kromě ojedinělých petechií ve svalovině břišních a sporadicky i v prsní svalovině a u několika kuřat cekového hydropsu jsme v jiných orgánech tak výrazně narušenou propustnost cév nepozorovali. V praxi často pozorovaná edémová choroba je kromě hydroperikardu, jaterních lézí a dalších změn charakterizována někdy ascitem a podkožními edémy. Záleží zde zřejmě na době přijímání látek této skupiny. Hydroperikard se nevyskytuje u transudativní diatézy, která reaguje na podání selénu a vitamínu E u drůbeže (Hofstad aj., 1984), což opět dokazuje jeho speciitu u studované intoxikace. Zjištěné změny kardiovaskulárního aparátu mohou být zřejmě odrazem porušeného metabolismu iontů Ca^{++} indukovaného Delorem 103 společně s hormony štítné žlázy (Piskač, Ruprich, Halouzka, 1990).

U kuřat, kterým byl Delor 103 podáván dlouhodobě a v nižších dávkách (část B) byly změny analogické jako u krátkodobého podání vysoké dávky, lišily se pouze kvantitativně. Intenzita změn v centrálních lymfatických orgánech byla nejvýraznější u kuřat utracených ve věku šesti týdnů, u kuřat utracených ve věku osmi týdnů byla nejméně výrazná. Reparativní procesy v orgánech byly u těchto kuřat výraznější, což svědčí o časovém faktoru nutném pro náhradu tkáňových škod. Totéž platí i o změnách v játrech a myokardu. Výsledky našeho pozorování ve druhé části také ukazují na to, že škála postižených tkání se u déletrvajících podávání PCB rozšiřuje. Zjištěné změny v ledvinách a varlatech potvrzují i dřívější šetření (Safe aj., 1987) o různorodosti postižených orgánů.

Na základě morfologického vyšetření můžeme konstatovat, že Fabriciova burza a thymus patří mezi velmi citlivé orgány k účinkům PCB. Tyto změny však nepovažujeme za specifické. Jsme toho názoru, že se jedná o obecné projevy cytolýzy indukované jakýmkoliv agens. Podobné změny jsme zjišťovali po infekci geneticky vnímavých linií kuřat patogenním kmenem viru Markovy nemoci (Halouzka a Jurajda, 1986). Přesná patogeneze intoxikace PCB není jasná, budou zde významné i další faktory, jako je interakce s hormony, minerálním metabolismem, imunitním systémem a určitým stupněm adaptace zvířat.

Literatura

- ADAMEC, O.: Biologické účinky organochlórovaných insekticidů u hydiny. Poľnohosp. veda, 1977, s. 1-124.
- FUKANO S. — DOGUCHI, M.: PCT, PCB and pesticide residues in human fat and blood. Bull. Envir. Contam. Toxicol., 17, 1977, s. 613-617.
- HALOUZKA, R. — JURAJDA, V.: Atypické morfologické změny ve Fabriciově burze kuřat po infekci virem Markovy nemoci. In: Sbor. Ref., II. Veterinární onkologické dny, Brno 1986, s. 47-48.
- HERZIG, I.: Nutriční faktory v etiologii edémové nemoci drůbeže. [Výzkumná zpráva.] Brno, Výzkumný ústav veterinárního lékařství 1984. 42 s.
- HERZIG, I.: Cizorodé látky v krmivu. Bull. ČSVTS VŠV Brno, 1, 1987, s. 1-22.
- HOFSTAD, M. S. — BARNES, H. J. — CALNEK, B. W. — REID, W. M. — YODER, H. W.: Diseases of Poultry. 8th ed., Iowa State Univ. Press, Ames, Iowa, USA, 1984. 831 s.
- KOŠUTZKÝ, J. — ADAMEC, O. — BOBÁKOVÁ, E. — ŠARNÍKOVÁ, B.: Pokles biologickej účinnosti estrogénov u F₁ generácie sliepok exponovaných polychlórovaným bifenylnom. Veter. Med. (Praha), 22, 1977, s. 441-447.

KOŠUTZSKÝ, J. — ADAMEC, O. — BOBÁKOVÁ, E. — ŠÁRNIKOVÁ, B.: Biologické zmeny u kurčiat F₁ generácie od nosníc exponovaných polychlórovaným bifenylom. *Živočiš. Výr.*, 24, 1979, s. 659-664.

LILLIE, R. J. — CECIL, H. C. — BITMAN, J. — FRIES, F. — VERRET, J.: Toxicity of certain polychlorinated and polybrominated biphenyls and reproductive efficiency of caged chickens. *Poult. Sci.* 54, 1975, s. 1550-1555.

PISKAČ, A. — RUPRICH, J. — HALOUZKA, R.: Účinek polychlorovaných bifenylů (PCB) na organismus kuřat: vliv krátkodobého příjmu vysokých dávek Deloru 103 na koncentraci thyroxinu, trijodthyroninu, sodíku, draslíku a vápníku v krevním séru. *Veter. Med. (Praha)*, 35, 1990, s. 237-246.

SAFE, S. — HUTZINGER, O. a kol.: Polychlorinated Biphenyls (PCBs): Mammalian and Environmental Toxicology. In: *Envir. Toxin, Ser. 1*. Berlin-Heidelberg, Springer-Verlag 1987, 152 s.

Došlo dne 1. 3. 1989

ГАЛОУЗКА, Р. — РУПРИХ, Й. — ПИСКАЧ, А. (Ветеринарный институт, Брно; Институт гигиены и эпидемиологии, Брно): Действие полихлорированных бифенилов на организм цыплят: патологические изменения органов после краткосрочного и долгосрочного поступления делора 103. *Veter. Med. (Praha)*, 35, 1990 (5) : 303-312.

Подача экспериментально загрязненного корма делором 103 дозой 1000 мг. кг⁻¹ краткосрочно (1 неделя), вызвала свыше чем 30 % смертность цыплят, отчетливые цитолитические изменения в центральных лимфатических органах, атрофию щитовидной железы, дистрофию печени и гиперплазию эпителия интрагепатических желчных путей и гидроперикард. Дозы 150 мг и 75 мг делора 103 на 1 кг корма подаваемого долгосрочно (4 недели) не проявились отчетливыми взаимными различиями в патологических изменениях. В сравнении с повреждениями, установленными после применения высокой дозы краткосрочно, повреждения фабрициевой сумки и вилочковой железы были аналогичными, но менее интенсивными. Они состояли в разной степени истощения зародышевых центров и начиная с седьмой и восьмой недели наблюдали и дистрофические изменения почек и яичек. Одновременно были очевидны, во всех обследуемых органах с седьмой недели, признаки репаративных процессов. Регулярно появляющиеся морфологические изменения при интоксикации PCB (полихлорированными бифенилами) у птицы считают цитолиз центральных лимфатических органов и гидроперикард.

PCB; птица; патологические изменения

HALOUZKA, R. — RUPRICH, J. — PISKAČ, A. (University of Veterinary Medicine, Brno; Institute of Hygiene and Epidemiology, Brno): *The effects of polychlorinated biphenyls on chick organisms: pathological changes in the organs after a short-time or long-time intake of Delor 103*. *Veter. Med. (Praha)*, 35, 1990 (5) : 303-312.

Short-time administration (for a week) of feed experimentally contaminated by Delor 103 at a rate of 1000 mg per kg resulted in chick mortality higher than 30 %, in great cytological changes in the central lymphatic organs, thyroid atrophy, liver dystrophy with hyperplasia of the epithelium of intrahepatic bile ducts and hydropericardium. Delor 103 rates of 150 mg and 75 mg per 1 kg feed administered for a long time (four weeks) did not induce any great mutual differences in pathological changes. In comparison with lesions found after the administration of the high rate for a short time, the lesions in bursa Fabricii and thymus were analogical, but less intensive, and they were manifest in a different degree of the depletion of germinal centres, and dystrophic changes were also observed in kidneys and testicles since the seventh and eighth week. Signs of reparative processes were observed at the same time in all examined organs since the seventh week. The cytolysis of central lymphatic organs and hydropericardium are being considered as regular morphological changes accompanying PCB intoxication in domestic fowl.

PCB; domestic fowl; pathological changes

Adresy autorů:

MVDr. Roman Halouzka, CSc., prof. MVDr. Alois Piskač, DrSc., Vysoká škola veterinární, Palackého 1—3, 612 42 Brno

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

M. Prašovská, P. Turek, J. Pleva, J. Pažáková

PRAŠOVSKÁ, M. — TUREK, P. — PLEVA, J. — PAŽÁKOVÁ, J. (Vysoká škola veterinárska, Košice): *Mikrobiológia hovädzieho separovaného mäsa*. Veter. Med. (Praha), 35, 1990 (5) : 313-320.

V období šiestich mesiacov sme vyšetrili 45 vzoriek hovädzieho separovaného mäsa (HSM) získavaného vo Východoslovenskom mäso priemysle, závod Košice na hydraulickom separátore Inject Star typ P 60 S rakúskej fy Laska. Mikrobiologicky bolo vyšetrené zvlášť HSM obidvoch stupňov kvality, ako aj priemerná vzorka z každej zbernej nádoby. Sledoval sa celkový počet mikroorganizmov, počet koliformných mikroorganizmov, počet stafylokokov, počet enterokokov a zárodkov rodu *Proteus*. Vzorky HSM druhého stupňa kvality mali v sledovanom období výsledky vo všetkých uvedených mikrobiologických ukazovateľoch signifikantne horšie ako HSM prvého stupňa kvality. Z hľadiska zdravotnej nezávadnosti tohto produktu bol závažný predovšetkým vysoký počet izolovaných kmeňov *Staphylococcus aureus*. Zároveň sme v porovnaní s výsledkami zo zimného obdobia predchádzajúceho roka zistili vzostup počtu všetkých skupín mikroorganizmov v letnom období.

mechanicky separované mäso; mikrobiológia; koliformné mikroorganizmy; enterokoky; stafylokoky; *Proteus*

Donedávna sa kosti jatočných zvierat považovali za neoceniteľný vedľajší produkt používaný na výrobu želatíny, kostnej múčky a loja. Mäso, ktoré na kostiach zostávalo, sa nevyužívalo. Situácia sa však zmenila v dôsledku neustále rastúcich cien mäsa a v súčasnosti nadobúda čoraz väčší význam mechanická separácia mäsitých kostí. Týmto procesom sa získavajú zvyšky mäsa, ktoré zostávajú na kostiach po ručnom vykosení a predstavujú spolu s kostnou dreňou rúrovitých kostí významný doplnkový zdroj bielkovín (Anonym, 1980).

Veľmi rané formy mechanického získavania zbytkového mäsa — mechanické nože — sú známe už niekoľko desaťročí, zatiaľ čo novšie technologické zariadenia boli vyvinuté koncom 40-tych a začiatkom 50-tych rokov. Hoci mechanické separátory sa od doby ich zavedenia do výroby značne zdokonalili, spôsob činnosti raných strojov je ešte stále základom mnohých moderných zariadení (Newman, 1981). V roku 1980 bolo rozhodnuté o dovoze separátorov Inject Star pre potreby mäsového priemyslu v SR (Hruška, 1984). Tieto zariadenia pracujú na princípe diskontinuálneho lisovania mäsitých kostí maximálnym tlakom 31,5 MPa.

Limitujúcim faktorom hygienickej akosti každej potraviny je jej mikrobiálny status. Povolný prídavok mechanicky separovaného mäsa (MSM) do diela vybraných mäsových výrobkov môže do značnej miery ovplyvniť mikrobiologický obraz finálneho produktu. Je totiž známe, že

pasterizačný efekt tepelného ošetrovania takto vyrobených výrobkov je okrem iného závislý od východiskového stavu mikrobiálneho znečistenia surovín. Napriek tomu, že otázka mikrobiologických limitov pre MSM nie je ani u nás ani vo svete zatiaľ doriešená, musí tento produkt určený pre výživu ľudí zodpovedať určitým všeobecne platným kritériám hygienickej akosti.

MATERIÁL A METÓDY

HSM sa získava vo Východoslovenskom mäso priemysle, n. p. Prešov, závod Košice na hydraulickom separátore Inject Star typ P 60 S rakúskej firmy Laska, a to lisovaním mäsitých kostí (krky, roštené) vysokým tlakom. Získaná mäsová pasta sa vypúšťa dvomi otvormi umiestnenými blízko pri sebe ako HSM prvého stupňa kvality (špičkovej kvality) a HSM druhého stupňa kvality (normálnej kvality) a zachytáva sa do jednej zbernej nádoby. Vzorky HSM sme odoberali bezprostredne po separácii zo šiestich rôznych miest zbernej nádoby tak, aby štyri vzorky boli z HSM prvého stupňa kvality a dve vzorky z HSM druhého stupňa kvality. Po prenesení do laboratória sme vzorky okamžite podrobili mikrobiologickému vyšetreniu.

Pri odbere vzoriek a ich mikrobiologickom vyšetrení sme postupovali podľa ČSN 56 0100 Mikrobiologické zkoušení poživatin, predmetů běžného užívání a prostředí potravinářských provozoven a ČSN 57 0155, Mikrobiologické zkoušení masa, masných výrobků a masových konzerv.

Stanovovali sme celkový počet mikroorganizmov (CPM) zalievaním mäso-peptónovým agarom s glukózou, počet koliformných mikroorganizmov zalievaním Mac Conkeyho agarom (v porovnávanom zimnom období zalievaním agarom s brómtymolovou modrou a trypaflavínom), počet stafylokokov (rozterom na agar podľa Baird-Parkera), počet enterokokov (rozterom na agar Slanetz-Bartley) a počet mikroorganizmov rodu *Proteus* (rozterom na dezoxycholátcitrátový agar). Aby sme zistili, či sa rozdielny separačný postup vo dvoch častiach, na ktoré je rozdelený vlastný lisovací priestor separátora odrazí v zmene kvantít prítomnej mikroflóry HSM, vyšetrovali sme zvlášť HSM oboch stupňov kvality a tiež priemerné vzorky zo všetkých šiestich miest zbernej nádoby.

VÝSLEDKY

Výsledky kvantitatívnych mikrobiologických vyšetrení sú uvedené v tab. I až V. Prvé tri tabuľky sú rozdelené na dve časti — zimné a letné obdobie — zvlášť pre HSM prvého stupňa kvality (H I), druhého stupňa kvality (H II) a pre priemerné denné vzorky zo šiestich miest jednej zbernej nádoby (H Ø). V zimnom období sme vyšetrili spolu 15 vzoriek. Tieto údaje už boli publikované podrobne (Prašovský a Turek 1988) a sú uvedené za účelom porovnania počtu mikroorganizmov v závislosti od ročného obdobia. V letnom období sme stanovovali CPM a počet koliformných mikroorganizmov u 30 vzoriek (tab. I a II), počet stafylokokov u 15 vzoriek (tab. III), počet enterokokov u 12 vzoriek (tab. IV) a počet mikroorganizmov rodu *Proteus* u 13 vzoriek (tab. V).

Priemerné vzorky HSM obsahovali v zimnom období v $1\text{ g } 5,2 \cdot 10^6$ mikroorganizmov a $4,7 \cdot 10^4$ koliformných mikroorganizmov. V letnom období tieto počty vzrástli u CPM o jeden rád (na $2,9 \cdot 10^7$) a u koliformných mikroorganizmov až o dva rády (na $1,9 \cdot 10^6$). Spôsobili to pravdepodobne vyššie vonkajšie teploty, nedostatočne rýchlo a hlboko ochladené suroviny i finálny produkt a v niekoľkých prípadoch tiež problémy s dodávkami šupinového ľadu. Kvantifikáciu koliformných mikroorganizmov sme v zimnom období vykonávali na agare s brómtymolovou modrou a trypaflavínom a v letnom období sme prešli na Mac Conkeyho agar.

I. Celkový počet mikroorganizmov v HSM prvého stupňa kvality (H I), druhého stupňa kvality (H II) a v priemerných vzorkách (H Ø) — Total counts of microorganisms in quality I comminuted beef (H I), quality II comminuted beef (H II) and in average samples (H Ø)

Celkový počet mikroorganizmov CFU . g ⁻¹			
	november 1987 — február 1988		
	H I	H II	H Ø
Minimum	1 250 000	1 825 000	1 933 300
Maximum	9 166 600	12 233 300	11 666 600
Priemer $\bar{x}$	3 715 200	5 060 600	5 208 950
	máj — október 1988		
	H I	H II	H Ø
Minimum	1 480 000	2 963 300	1 887 500
Maximum	32 400 000	62 800 000	52 600 000
Priemer $\bar{x}$	17 767 200	38 356 100	28 724 000

Keďže sme vzorky paralelne nevyšetrovali na obidvoch pôdach, nemôžeme vylúčiť skutočnosť, či k zvýšeniu počtov v letnom období nemohlo dôjsť aj v dôsledku vyššej záchytnosti Mac Conkeyho agaru. Za povšimnutie stojí tiež ten fakt, že počty mikroorganizmov vo vzorkách odoberaných v pondelok boli stále vyššie v porovnaní so vzorkami z ostatných dní v týždni, čo možno s najväčšou pravdepodobnosťou pripísať 72-ho-

II. Počet koliformných mikroorganizmov v HSM prvého stupňa kvality (H I), druhého stupňa kvality (H II) a v priemerných vzorkách (H Ø) — The counts of coliform microorganisms in quality I comminuted beef (H I), quality II comminuted beef (H II) and in average samples (H Ø)

Počet koliformných mikroorganizmov v 1 g			
Agar s brómtymolovou modrou a trypaflavínom	november 1987 — február 1988		
	H I	H II	H Ø
Minimum	1 000	5 000	2 500
Maximum	156 000	515 000	263 800
Priemer $\bar{x}$	25 700	52 400	47 200
Mac Conkey agar	máj — október 1988		
	H I	H II	H Ø
Minimum	58 000	205 600	103 000
Maximum	3 945 000	6 550 000	3 948 000
Priemer $\bar{x}$	1 580 000	3 867 000	1 867 000

III. Počet stafylokokov v HSM prvého stupňa kvality (H I), druhého stupňa kvality (H II) a v priemerných vzorkách (H Ø) — The counts of staphylococci in quality I comminuted beef (H I), quality II comminuted beef (H II) and in average samples (H Ø)

Počet stafylokokov v 1 g			
	november 1987 — február 1988		
	minimum	maximum	priemer $\bar{x}$
H Ø	21 000 (0)	1 392 000 (14 000)	261 420 (5 550)
	máj — október 1988		
	H I	H II	H Ø
Minimum	40 000 (0)	90 000 (0)	18 000 (0)
Maximum	872 500 (22 000)	816 000 (150 000)	647 000 (200 000)
Priemer $\bar{x}$	370 350 (6 690)	428 170 (39 200)	343 640 (17 285)

V zátvorkách je uvedený počet *Staphylococcus aureus* — Number of specimens of *Staphylococcus aureus* is given in parentheses

IV. Počet enterokokov v HSM prvého stupňa kvality (H I), druhého stupňa kvality (H II) a v priemerných vzorkách (H Ø); máj až október 1988 — The counts of enterococci in quality I comminuted beef (H I), quality II comminuted beef (H II) and in average samples (H Ø); May to October 1988

Počet enterokokov v 1 g			
	H I	H II	H Ø
Minimum	5 000	30 000	15 000
Maximum	305 000	2 407 500	1 060 000
Priemer $\bar{x}$	136 650	399 800	304 300

V. Počet mikroorganizmov rodu *Proteus* v HSM prvého stupňa kvality (H I), druhého stupňa kvality (H II) a v priemerných vzorkách (H Ø); máj až október 1988 — The counts of microorganisms of the *Proteus* genus in quality I comminuted beef (H I), quality II comminuted beef (H II) and average samples (H Ø); May to October 1988

Počet mikroorganizmov rodu <i>Proteus</i> v 1 g			
	H I	H II	H Ø
Minimum	10 000	60 000	35 000
Maximum	4 500 000	4 250 000	4 750 000
Priemer $\bar{x}$	399 400	674 200	451 900

dinovému skladovaniu mäsitých kostí v chladiarni (od piatkovej výroby do pondelňajšieho spracovania) a teda pomnoženiu prítomnej mikroflóry. Bolo by zrejme žiadúce, aby sa kosti určené na mechanickú separáciu až po dlhšom skladovaní aspoň v letnom období ihneď po vyťažení zmrazili a aby sa tak zabránilo zvýšeniu množstva mikroorganizmov.

Porovnaním HSM oboch stupňov kvality sme zistili, že v zimnom období bol u mäsa druhého stupňa kvality vyšší CPM o 36,2 % a počet koliformných mikroorganizmov o 104 % v porovnaní s HSM prvého stupňa kvality. V letnom období sa CPM zvýšil o 115,9 % a počet koliformných mikroorganizmov o 144,7 % (tu však treba brať do úvahy aj zmenu živnej pôdy).

V tab. III sú uvedené počty stafylokokov v 1 g HSM. V zimnom období sme počet stafylokokov sledovali len v priemerných vzorkách, v letnom období navyše zvlášť u oboch stupňov kvality. Stredná hodnota za zimné obdobie predstavovala $2,6 \cdot 10^5$ v 1 g a za letné obdobie $3,4 \cdot 10^5$ v 1 g u priemerných vzoriek; $3,7 \cdot 10^5$ u HSM prvého stupňa kvality a $4,3 \cdot 10^5$ u HSM druhého stupňa kvality v letnom období. Maximálna nameraná hodnota bola $1,4 \cdot 10^6$ v 1 g. Počty mikroorganizmov *Staphylococcus aureus* (údaje v zátvorkách) sme stanovili na základe charakteru rastu a tvorby zóny vyjasnenia Baird-Parkerovej pôdy. Skúšky patogenity izolovaných kmeňov sme nevykonávali. Priemerná hodnota u zimných vzoriek bola $5,5 \cdot 10^3$ v 1 g a u letných vzoriek $1,7 \cdot 10^4$ v 1 g (u HSM prvého stupňa kvality $6,7 \cdot 10^3$ a u druhého stupňa kvality $3,9 \cdot 10^4$). Pokiaľ by sa jednalo o kmene s produkciou enterotoxínu, mohli by už tieto počty predstavovať určité zdravotné riziko.

Výsledky kvantitatívneho stanovenia enterokokov a mikroorganizmov rodu *Proteus* sú zhrnuté v tab. IV a V. Priemerné vzorky HSM obsahovali v priemere $3,0 \cdot 10^5$ enterokokov a $4,5 \cdot 10^5$ proteov v 1 g. Vzorky HSM normálnej kvality mali vyšší obsah enterokokov o 192,6 % a proteov o 68,8 % než vzorky HSM špičkovej kvality.

Celkovo možno zhrnúť, že vzorky HSM druhého stupňa kvality mali v sledovanom období vo všetkých zisťovaných mikrobiologických ukazovateľoch výsledky signifikantne horšie ako vzorky HSM prvého stupňa kvality.

DISKUSIA

V podmienkach ČSFR nie sú stanovené mikrobiologické limity pre MSM. Pokyny MP GRT SR z roku 1981 uvádzajú, že mäso získané mechanickou separáciou musí zodpovedať mikrobiologickým požiadavkám uvedeným v dodatku k ČSN 57 6099 Mäsové výrobky. Spoločné ustanovenie. Pod týmito požiadavkami sa však rozumie len to, že separované mäso (podobne ako všetky potraviny) nesmie obsahovať patogénne, podmienené patogénne mikroorganizmy, ani ich toxíny. Podľa literárnych údajov aj v ostatných štátoch predstavuje mikrobiologická kontaminácia separovaného mäsa legislatívne nedoriešený problém. Len vo Francúzsku a v USA bol vypracovaný návrh tolerovaných mikrobiálnych hodnôt pre mechanicky vykostené hydinové mäso (G o l a, 1976).

Naše výsledky svedčia o tom, že počty sledovaných mikroorganizmov — najmä indikátorovej skupiny koliformných mikroorganizmov a enterokokov — sú vysoké a v letnom období dochádza vo vzorkách HSM

oboch stupňov kvality k ďalšiemu signifikantnému zvýšeniu (CPM o jeden rád, koliformných mikroorganizmov o dva rády a *S. aureus* o jeden rád).

Z hľadiska hygienickej akosti mäsovej pasty je závažný tiež vysoký počet stafylokokov ($3,0 \cdot 10^5$ v 1 g HSM), pričom maximálne hodnoty dosahujú až 10^6 . Naše vyšetrenia naznačili, že z tohto počtu pripadá rádovo $10^4 \cdot g^{-1}$ na *S. aureus*. Bisping a Amtsberg (1988) uvádzajú, že v potravine s počtom mikroorganizmov *S. aureus* 10^5 až 10^6 v 1 g (čo je i prípad nami vyšetrovaného HSM) je už možné počítať s produkciou termostabilného enterotoxínu.

Výsledky dosiahnuté v našej práci sú porovnateľné s výsledkami iných autorov. Zwingmann (1980) zistil v priemere v 1 g HSM $2,0 \cdot 10^8$ mikroorganizmov; $2,2 \cdot 10^6$ koliformných mikroorganizmov; $4,4 \cdot 10^5$ enterokokov a zanedbateľné množstvo stafylokokov. Baláž a i. (1985) uvádzajú u HSM CPM v rozmedzí $1,0$ až $1,5 \cdot 10^6$, počet koliformných mikroorganizmov $1,0$ až $2,0 \cdot 10^5$ a počet proteov $2,6$ až $2,8 \cdot 10^3$ v 1 g. Naproti tomu Wittmann (1977) uvádza hodnotu CPM $5,4 \cdot 10^5$ a koliformných mikroorganizmov len $4,0 \cdot 10^4$ v 1 g. Taktiež vyšetrením 177 vzoriek separovaného mäsa z ôsmich mäso spracujúcich závodov v Austrálii sa zistilo, že 85 % vzoriek malo CPM nižší než 10^6 v 1 g, 13 % medzi 10^6 až 10^7 a iba 2 % vykazovali CPM vyšší ako 10^7 v 1 g (Krautl a Tulloch, 1987). Výsledky vyšetrenia vzoriek HSM v Mäsokombináte Bratislava-Rača vykazovali hodnoty CPM v priemere 10^7 , koliformných mikroorganizmov 10^6 a proteov 10^4 až 10^5 v 1 g (Jacková a Čeppanová, 1985). Podobne Bijker a i. (1987) zistili za použitia rovnakých živných pôd ako v našej práci v 1 g HSM 10^5 až 10^6 koliformných mikroorganizmov a 10^4 až 10^5 mikroorganizmov *S. aureus*. Izolovali 136 kmeňov *S. aureus*, ktoré podrobili biotypizácii, fagotypizácii a vyšetreniu na produkciu enterotoxínu.

Mikrobiálna kontaminácia MSM závisí predovšetkým od mikrobiologickej akosti mäsitých kostí a od spôsobu ich skladovania a dopravy k separačnému zariadeniu. Ak sa má MSM používať pre výživu ľudí, kosti určené na mechanickú separáciu musia byť ošetrené rovnakým spôsobom ako mäso samotné. Z hľadiska mikrobiologického je dôležité dôsledné dodržiavanie hygienických zásad pri ťažení kostí, ich dostatočné vychladenie pred separáciou (týka sa to najmä prípadov, keď sa surovina nespracuje v ten istý deň, ale po dlhšom skladovaní), udržiavanie nízkej teploty v miestnosti, kde oddeľovanie zbytkového mäsa prebieha a zabránenie vzostupu teploty mäsovej pasty počas separácie. Viaceré zahraničné literárne pramene uvádzajú, že kosti určené na mechanickú separáciu (pokiaľ sa nespracujú ihneď po získaní v teplom stave) sa okamžite zmrazujú pri teplotách -18 až -25° a v takomto stave sa potom skladujú 7 až 21 dní (Zwingmann, 1980; Anhalt, 1981; Wittmann, 1977; Newman, 1981). Anhalt (1981) okrem toho ešte uvádza, že mäsité kosti pri použití moderných separačných postupov v NSR prechádzajú bezprostredne pred separáciou tunelmi, v ktorých sa opália plameňom, čím sa zredukuje počet mikroorganizmov na povrchu kostí až o dva rády.

Podobne ako v ostatných štátoch aj u nás treba MSM považovať za nezanedbateľný zdroj bielkovín živočíšneho pôvodu. Nakoľko ide o surovinu s výskytom pomerne vysokých mikrobiálnych nálezov, podstatne

vyplývajúcných ľudským činiteľom v technologickom procese, akcentuje sa potreba doriešenia štandardizácie mikrobiologických ukazovateľov. Tento postulát neznižuje ani argument, že MSM je smerované výlučne do výrobkov tepelne opracovaných, najmä ak berieme v úvahu možnosť produkcie stafylokokových enterotoxínov.

Literatúra

- ANONYM: Mechanical recovery of meat from bones. Brit.Fd J., 82, 1980, č. 896, s. 82-83.
- ANHALT, G.: Maschinelle Fleisch-Knochen-Separation, Technologie und Anforderungen. Arch. Lebensm.-Hyg., 31, 1980, č. 1, s. 12-16.
- BALÁŽ, V. — KADLECOVÁ, O. — RAJNIAKOVÁ, A. — VOŠKO, L.: Hygienická problematika mäsa získaného mechanickou separáciou mäsitých kostí v závodoch mäsiarstva. Českoslov. Hyg., 30, 1985, č. 10, s. 543-555.
- BIJKER, P. G. H. — LOGTESTIJN, J. G. van — MOSSEL, D. A. A.: Bacteriological quality assurance (BQA) of mechanically deboned meat (MDM). Meat Sci., 20, 1987, s. 237-252.
- BISPING, W. — AMTSBERG, G.: Colour atlas for the diagnosis of bacterial pathogens in animals. Paul Parly Scientific Publishers, Berlin — Hamburg 1988, s. 23.
- GOLA, J.: Hygienické aspekty produkce a zpracování mechanicky vykostovaného masa. Zprav. mas. Prům. ČSSR, 1976, č. 3-4, s. 38-45.
- HRUŠKA, P.: Separátory masa v ČSSR. Prům. Potrav., 35, 1984, č. 11, s. 609-612.
- JACKOVÁ, S. — ČEPPANOVÁ, E.: Mikrobiologická problematika mechanicky separovaného mäsa. In: Zbor. Ref. Mikroflóra masných, drúbežárskych a jiných výrobků a novinky v taxonomii, Liblice, 1985, s. 12-16.
- KRAUTIL, F. L. — TULLOCH, J. D.: Microbiology of mechanically recovered meat. J. Food Protect., 50, 1987, č. 7, s. 557-561.
- NEWMAN, P. B.: The separation of meat from bone — a review of the mechanics and the problems. Meat Sci., 14, 1981, č. 5, s. 171-200.
- PRAŠOVSKÁ, M. — TUREK, P.: Mikrobiologická kvalita a prítomnosť inhibičných látok v hovädzom mäse získanom mechanickou separáciou. Veterinárství, 38, 1988, č. 11, s. 515-517.
- WITTMANN, M.: Zur maschinellen Trennung von Fleisch und Knochen. Fleischwirtschaft, 57, 1977, č. 7, s. 1261-1273.
- ZWINGMANN, W.: Lebensmittelhygienische und -rechtliche sowie chemisch-analytische Beurteilung von mit ambulant eingesetzten Separatorenanlagen gewonnenem Restfleisch. Fleischwirtschaft, 60, 1980, č. 1, s. 65-71.
- ČSN 56 0100 Mikrobiologické zkoušení potravin, předmětů běžného užívání a prostředí potravinářských provozoven. 1968.
- ČSN 57 0155 Mikrobiologické zkoušení masa, masných výrobků a masových konzerv. 1964.
- ČSN 57 6099 Masné výrobky. Společná ustanovení. 1976a.
- Pokyny pre získavanie a spracovanie mechanicky separovaných mias. Mäsový priemysel, Generálne riaditeľstvo trustu, Bratislava, 1981.

Došlo dňa 6. 4. 1989

ПРАШОВСКА, М. — ТУРЕК, П. — ПЛЕВА, Я. — ПАЖАКОВА, Я. (Ветеринарный институт, Кошице): Микробиология сепарированной говядины. Veter. Med. (Praha), 35, 1990 (5) : 313-320.

В периоде шести месяцев обследовали 45 образцов сепарированной говядины (СГ), получаемой в Восточнословацкой мясной промышленности, завод Кошице на гидравлическом сепараторе Инъект Стар тип П 60 С австрийской фирмы ЛАСКА. Микробиологически обследовали отдельно СГ обоих классов качества, как и средний образец из каждого приемника. Изучали общее число микроорганизмов, количество колиформных микроорганизмов, количество стафилококков, энтерококков и зародышей рода *Proteus*. Образцы СГ второго класса качества за изучаемый период имели результаты по всем указанным микробиологическим показателям значительно более худшие, чем СГ первого класса качества. С точки зрения гигиенической безвредности данного продукта было важно прежде всего высокое количество изолированных штаммов

Staphylococcus aureus. Одновременно в сравнении с результатами из зимнего периода предыдущего года установили увеличение числа всех групп микроорганизмов в летнем периоде.

механически сепарируемое мясо; микробиология; колиформные микроорганизмы; энтерококки; стафилококки; *Proteus*

PRAŠOVSKÁ, M. — TUREK, P. — PLEVA, J. — PAŽÁKOVÁ, J. (University of Veterinary Medicine, Košice): *The microbiology of comminuted beef*. Veter. Med. (Praha), 35, 1990 (5) : 313-320.

During six months, forty-five samples of comminuted beef were investigated, coming from the East Slovakian Meat Processing Corporation, plant at Košice; the meat was processed by an Inject Star hydraulic mincer, P 60 S type, mfd by the Laska Austrian firm. Comminuted meat of the two qualities was subjected to a separate microbiological investigation; average samples from all tanks were also investigated. The characteristics as follows were studied: total microorganism counts, coliform microorganism counts, counts of staphylococci, enterococci and germs of the *Proteus* genus. The samples of quality II comminuted meat gave the significantly worse results of all above-mentioned microbiological characteristics, in comparison with the samples of quality I comminuted meat. First of all the high number of isolated strains of *Staphylococcus aureus* was an important shortcoming in view of the safety of this product. A comparison with the results obtained in the winter period of the last year revealed an increase in the counts of microorganisms of all groups in the course of summer period.

mechanically comminuted meat; microbiology; coliform microorganisms; enterococci; staphylococci; *Proteus*

PRAŠOVSKÁ, M. — TUREK, P. — PLEVA, J. — PAŽÁKOVÁ, J. (Veterinärmedizinische Hochschule, Košice): *Mikrobiologie separierten Rindfleisches*. Veter. Med. (Praha), 35, 1990 (5) : 313-320.

In einem Zeitraum von 6 Monaten untersuchten wir 45 Proben separierten Rindfleisches (HSM), das aus dem Ostslowakischen Fleischkombinat, Betrieb Košice, kam und mittels hydraulischen Separators Inject Star Typ P 60 S der österreichischen Firma Laska aufbereitet wurde. Mikrobiologisch wurde insbesondere HSM der beiden Qualitätsklassen, sowie auch Durchschnittsproben aus jedem Sammelbehälter, untersucht. Verfolgt wurde die Gesamtzahl der Mikroorganismen, die Zahl der coliformen Mikroorganismen, der Staphylokokken und Enterokokken sowie die Zahl der Keime der Gattung *Proteus*. HSM-Proben der zweiten Qualitätsklasse wiesen während der testungsperiode signifikant schlechtere Werte in allen angeführten mikrobiologischen Parametern auf als das HSM der ersten Qualitätsklasse. Vom Gesichtspunkt des gesundheitlichen einwandfreien Zustandes dieses Produkts war vor allem die hohe Zahl der isolierten Stämme *Staphylococcus aureus* schwerwiegend. Gleichzeitig mußten wir im Vergleich mit Ergebnissen aus der Winterperiode des vorhergegangenen Jahres einen Anstieg sämtlicher Mikroorganismengruppen in der Sommerperiode verzeichnen.

mechanisch separiertes Fleisch; Mikrobiologie; coliforme Mikroorganismen; Enterokokken; Staphylokokken; *Proteus*

Adresa autorov:

MVDr. Monika Prašovská, MVDr. Peter Turek, CSc., prof. MVDr. Ján Pleva, DrSc., MVDr. Jana Pažáková, Vysoká škola veterinárská, Komenškého 73, 041 81 Košice

CONTENTS

Šťavíková M., Lojda L., Žáková M., Mach P., Přikryl S., Pospíšil J.: Genetic contribution of dams to the prevalence of mastitis in a successive generation	264
Mazura F.: Determination of beta-lactamase production in <i>Staphylococcus aureus</i> strains isolated from cow's milk	274
Kudweis M., Lojda Z., Juliš I., Vítovec J., Koudela B.: Alkaline phosphatase activity in goblet cells of the small intestine of piglets experimentally infected by <i>Isospora suis</i> coccidia	283
Tokoš M., Tokošová M.: Euperoovulation induction in ewes by means of PMSG	289
Rajtová V.: Ependymal epithelium of <i>eminentia mediana</i> in goats	301
Halouzka R., Ruprich J., Piskač A.: The effect of polychlorinated biphenyls on chick organisms; pathological changes in the organs after a short-time or long-time intake of Delor 103	312
Prašovská M., Turek P., Pleva J., Pažáková J.: The microbiology of comminuted beef	320

INHALT

Šťavíková M., Lojda L., Žáková M., Mach P., Přikryl S., Pospíšil J.: Genetischer Beitrag der Mutterkühe zum Vorkommen von Euterentzündungen in der nachfolgenden Generation	265
Mazura F.: Ermittlung der Beta-Laktamase-Produktion bei aus Kuhmilch isolierten Stämmen des <i>Staphylococcus aureus</i>	274
Kudweis M., Lojda Z., Juliš I., Vítovec J., Koudela B.: Alkaliphosphatase-Aktivität in Becherzellen des Dünndarms von durch Kokzidien <i>Isospora suis</i> experimentell infizierten Ferkeln	284
Tokoš M., Tokošová M.: Auslösen einer Superovulation bei Schafen durch Anwendung von PMSG	289
Rajtová V.: Ependymepithel der <i>eminentia mediana</i> bei der Ziege	302
Halouzka R., Ruprich J., Piskač A.: Einwirkung polychlorierter Biphenyle auf den Organismus von Küken; pathologische Organveränderungen nach kurz- und langfristiger Aufnahme von Delor 103 (E)	312
Prašovská M., Turek P., Pleva J., Pažáková J.: Mikrobiologie separierten Rindfleisches	320



Rukopisy odevzdány k tisku 27. 9. 1989 — Podepsáno k tisku 3. 6. 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.