

VĚDECKÝ ČASOPIS



VETERINÁRNÍ MEDICÍNA

12

ROČNÍK 29 (LVII)
PRAHA
PROSINEC 1984
CENA 10 Kčs
CS ISSN 0590-5214

ČESKOSLOVENSKÁ AKADEMIE ZEMĚĚLSKÁ
ÚSTAV VĚDECKOTECHNICKÝCH INFORMACÍ
PRO ZEMĚĚLSTVÍ

Rídí redakční rada:

akademik Otto Jaroslav Vrtiak (předseda), akademik Koloman Boda, MVDr. Miroslav Dvořák, CSc., prof. MVDr. Ján Elečko, CSc., MVDr. Miloš Halaša, CSc., prof. MVDr. Jozef Hrušovský, DrSc., prof. MVDr. Dagmar Ježková, DrSc., doc. MVDr. Evžen Jurák, CSc., prof. MVDr. Ladislav Polák, CSc., MVDr. Josef Straka, CSc., prof. MVDr. Bohumil Ševčík, DrSc.

Za vedení časopisu odpovídá akademik Otto Jaroslav Vrtiak

Redaktorka ing. Jovanka Václavíková

© Ústav vědeckotechnických informací pro zemědělství,
Praha 1984

■

Vědecký časopis VETERINÁRNÍ MEDICÍNA uveřejňuje studie, rozbor a vědecká pojednání o vyřešených úkolech výzkumu z oboru veterinární medicíny. Vydává Československá akademie zemědělská — Ústav vědeckotechnických informací pro zemědělství. Vychází měsíčně. Redakce: 120 56 Praha 2, Slezská 7, telefon 257541. Celoroční předplatné Kčs 120,—.

■

Научный журнал VETERINÁRNÍ MEDICÍNA публикует обзоры, анализы и научные статьи о решенных задачах по научному исследованию в области ветеринарии. Издает Чехословацкая сельскохозяйственная академия — Институт научно-технической информации по сельскому хозяйству. — Выход в свет ежемесячно. Редакция 120 56 Прага 2, Слезска 7.

■

The scientific journal VETERINÁRNÍ MEDICÍNA publishes studies, analyses and scientific treatises about the solved research tasks in the line of the veterinary medicine. Published by the Czechoslovak Academy of Agriculture — Institute of Scientific and Technical Information for Agriculture. Issued monthly. Editorial office 120 56 Prague 2, Slezská 7.

VPLYV DLHODOBÉHO OBMEDZENIA POHYBU DOJNÍC NA BIOCHEMICKÉ UKAZOVATELE

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

BROUČEK, J. — GAJDOŠÍK, D. — KOVALČÍK, K. — BRESTENSKÝ, V. (Výskumný ústav živočíšnej výroby, Nitra; Štátny veterinárny ústav, Nitra): *Vplyv dlhodobého obmedzenia pohybu dojníc na biochemické ukazovatele*. Veter. Med. (Praha), 29, 1984 (12) : 705-712.

U 33 dojníc — prvôstok sme v priebehu troch laktácií hodnotili vplyv hypokinézy na biochemické ukazovatele. Kravy pokusnej skupiny ($n = 15$) boli chované v oceľových klietkach, v ktorých mali minimalizovaný pohyb. Zvieratá kontrolnej skupiny ($n = 18$) boli ustajnené voľne. Zistili sme, že u kráv s trvale obmedzeným pohybom sa štatisticky signifikantne znížila koncentrácia hemoglobínu a hematokritu a aktivita aspartátaminotransferázy. V porovnaní s kontrolnou skupinou bol pokles výrazný aj v lipidickej oblasti — u cholesterolu, triglyceridov a celkových lipidov. Zistili sme aj zníženie tyroxínu a celkovej proteinémie.

dojnice; hypokinéza; biochemické ukazovatele

Cieľom našej práce bolo získať poznatky o dlhotrvajúcom vplyve hypokinézy na zmeny biochemických ukazovateľov kráv.

V predchádzajúcich pokusoch sme zistili, že nedostatok pohybu vyvoláva u jalovic zníženie intenzity rastu živej hmotnosti (Kovalčík a Brouček, 1982). Tento trend pokračoval aj po otelení (Kovalčík a i., 1983). Mliečna úžitkovosť bola u kráv ustajnených od 30. dňa po pôrode v klietkach výrazne nižšia v porovnaní s kontrolnou skupinou z voľného ustajnenia (Kovalčík a i., 1983). Od začiatku týchto dlhodobých experimentov sme sledovali aj vplyv hypokinézy na biochemické a hematologické ukazovatele (Brouček a Kovalčík, 1981). Už od veku šiestich mesiacov mali jalovice odchovávané v klietkach štatisticky preukazne nižšiu koncentráciu hemoglobínu v krvi a nižší hematokrit než zvieratá z voľného ustajnenia. Podobne aj aktivita aspartátaminotransferázy a obsah cholesterolu a draslíka v sére boli nižšie u jalovic pokusnej skupiny.

Vo vedeckej literatúre sme údaje o vplyve hypokinézy našli iba u laboratórnych zvierat a človeka. Michaleva a i. (1978) zistili pri obmedzení motility zmeny vodného a minerálneho metabolizmu, prejavujúce sa v zväčšení diurézy a vo zvýšení vylučovania draslíka, sodíka a vápnika z organizmu. Považujú to za jeden z prejavov „hypokinetického syndrómu“. Zníženie hladiny kálie v sére popisujú Kakurin a i. (1978) pri dlhobodej hypokinéze potkanov. Negatívne výsledky s hypokinézou laboratórnych cicavcov uvádzajú Trávníček a i. (1977)

Ukazovateľ	Štádium laktácie			
	1. – 3. mesiac			
	klietky	voľné ustajnenie	d	
Hemoglobín (mmol/l)	7,47	7,54	–0,07	6,99
Hematokrit (l/l)	0,347	0,360	–0,013	0,334
Glukóza (mmol/l)	3,02	3,19	–0,17	2,80
Alkalická fosfatáza (μ kat/l)	1,14	1,33	–0,19	1,15
Aspartátaminotransferáza (μ kat/l)	0,46	0,52	–0,06	0,44
Cholesterol (mmol/l)	3,60	4,02	–0,42	3,86
Celkové lipidy (g/l)	4,18	4,33	–0,15	4,31
Celkové bielkoviny (g/l)	63,80	64,70	–0,90	65,70
Sodík (mmol/l)	132,70	130,40	2,30	120,40
Draslík (mmol/l)	4,17	4,04	0,13	4,12
Vápnik (mmol/l)	2,53	2,48	0,05	2,36

Klietky: $n = 15$

Voľné ustajnenie: $n = 18$ + – $P < 0,05$ ++ – $P < 0,01$ +++ – $P < 0,001$

a ďalší autori [cit. Nvota a i., 1977]. Pařízková (1973) zistila, že hypokinézou je možné vyvolať najvýraznejší efekt v období pohlavného dospievania. Podľa Lamošovej (1977) sú mnohé funkčné a metabolické poruchy vznikajúce v organizme pri hypokinéze dôsledkom zníženia svalovej činnosti, ako aj súčasne prebiehajúcich biochemických zmien v samotných svaloch. Hypokinéza vyvoláva zmeny tak v metabolizme kostného svalstva, ako aj v jeho štrukturálnej organizácii, čo vedie k atrofii a dystrofii [Portugalov, 1971].

Zusmanovskij a i. (1978) zaznamenali u dojnic chovaných v ustajnení s priväzovaním v porovnaní s voľným ustajnením zníženie koncentrácie hemoglobínu a zníženie aktivity aspartátaminotransferázy. Burlačenko (1979) zistil, že býčky chované väzne mali významne nižšiu koncentráciu tyroxínu v krvi oproti zvieratám z voľného ustajnenia a ďalšej skupine s núteným každodenným pohybom.

MATERIÁL A METÓDA

Ako pokusný materiál sme použili kravy-prvôstky, krížanky slovenského strakatého plemena s nížinným čiernostrakatým plemenom, F_1 generácie, ktoré sme sledovali v priebehu troch laktácií. Zvieratá pokusnej skupiny ($n = 15$) boli už od veku 90 dní ustajnené v oceľových klietkach, kde mali minimálny pohyb. Priestor bol regulovaný v priebehu rastu tak, aby zvieratá mohli pohodlne ležať, vstávať a žrať. Pri tomto spôsobe fixácie sa vylúčil negatívny vplyv priväzovania. Rozmery klietky boli vo veku zvierat 90 dní 1,45 m X 0,6 m, postupne sa zväčšovali až na 2,2 m X 1,05 m u dojnic. Kravy boli dojené v klietkach zozadu. Zvieratá kontrolnej skupiny boli stále umiestnené vo voľnom ustajnení. Počas pôrodného a popôrodného obdobia (14 dní pred otelením a 30 dní po otelení) boli kravy obidvoch skupín ustajnené v teľatníku väzne na stredne dlhom stojisku s podstielením. V priebehu troch laktácií boli z pokusnej skupiny vyradené štyri zvieratá

Štádium laktácie

4. – 6. mesiac		7. – 9. mesiac			nad 9 mesiacov		
voľné ustajnenie	d	klietky	voľné ustajnenie	d	klietky	voľné ustajnenie	d
7,33	–0,34	7,21	7,72	–0,51	7,32	7,66	–3,04
0,354	–0,020	0,335	0,355	–0,020	0,334	0,362	–0,028+
2,78	0,02	2,88	2,59	0,29	2,70	2,55	0,15
1,52	–0,37	1,61	1,17	0,44	1,74	1,13	0,61
0,52	–0,08++	0,41	0,49	–0,08++	0,40	0,47	–0,07++
4,77	–0,91++	3,78	4,92	–1,14+++	3,50	4,14	–0,64+
4,62	–0,31	4,51	4,62	–0,11	4,34	4,48	–0,14
71,40	–5,70++	67,00	70,80	–3,80+	69,50	72,20	–2,70
123,60	–3,20	120,60	126,20	–5,60	129,20	129,10	0,10
4,15	–0,03	4,17	4,40	–0,23	4,35	4,72	–0,37+
2,41	–0,05	2,29	2,28	0,01	2,38	2,44	–0,06

a z kontrolnej sedem zvierat pre neplodnosť a zdravotné poruchy. Každé tri mesiace sme odoberali krv a stanovili tieto ukazovatele: v krvi hematokrit odstredovaním na mikrocentrifúge TH-12, hemoglobín a glukózu pomocou Bio-La-testov, v krvnom sére aktivitu alkalické fosfatázy a aspartátaminotransferázy, cholesterol, triglyceridy, celkové lipidy a celkové bielkoviny Bio-La-testmi, tyroxín kitom ÚVRJT RIA-T₄, trijódtrionín súpravou Thyro-Cap-T₃, draslík, sodík a vápnik plameňofotometricky. Pre štatistické vyhodnotenie rozdielov medzi skupinami sme použili Studentov T-test.

VÝSLEDKY

PRVÁ LAKTÁCIA

Pri sledovaní metabolických ukazovateľov sme na začiatku prvej laktácie zaznamenali temer rovnaké koncentrácie hemoglobínu (tab. I) u skupiny prvôtok odchovaných v klietkach a u skupiny prvôtok z voľného ustajnenia. V štvrtom až šiestom mesiaci sme zistili rozdiel udržiavajúci sa počas celej laktácie. Podobne tomu bolo aj u hematokritu.

Aktivita aspartátaminotransferázy bola vo všetkých sledovaniach preukazne nižšia u pokusnej skupiny. Z lipidového metabolismu sme v prvej laktácii sledovali cholesterol a celkové lipidy. Z tab. I vidno, že tendencia je jednoznačná: zníženie cholesterolemie a lipémie u zvierat chovaných bez možnosti pohybu, pričom hypocholesterolemia je výraznejšia.

Hypokinéza mala vplyv aj na koncentráciu celkových bielkovín v sére. Proteinémia sa v priebehu laktácie mierne zvyšovala, u kontrolnej skupiny zo 64,7 g/l na 72,2 g/l, u skupiny pokusnej zo 63,8 g/l na 69,5 g/l. Počiatočný rozdiel v kalémii 0,13 mmol/l v prospech pokusnej

II. Hematologické a biochemické ukazovatele kríženík plemien slovenské strakaté meters in the crossbreds of Slovakian Pied cattle and Black Pied Lowland cattle

Ukazovateľ	Štádium laktácie			
	1. – 3. mesiac			
	klietky	voľné ustajnenie	d	
Hemoglobín (mmol/l)	7,17	7,06	0,11	6,88
Hematokrit (l/l)	0,310	0,328	–0,018 ⁺	0,312
Glukóza (mmol/l)	2,25	2,74	–0,49 ⁺	2,35
Alkalická fosfatáza (μkat/l)	0,87	0,97	–0,10	0,86
Aspartátaminotransferáza (μkat/l)	0,41	0,45	–0,04	0,38
Cholesterol (mmol/l)	3,75	3,86	–0,11	3,97
Triglyceridy (mmol/l)	0,353	0,347	0,006	0,282
Celkové lipidy (g/l)	3,59	3,69	–0,10	4,60
Celkové bielkoviny (g/l)	71,70	73,40	–1,70	71,50
Tyroxín (nmol/l)	49,60	58,50	–8,90	50,20
Sodík (mmol/l)	129,60	123,50	6,10	139,90
Draslík (mmol/l)	4,11	4,13	–0,02	4,72
Vápník (mmol/l)	2,41	2,44	–0,03	2,70

Klietky: $n = 13$

Voľné ustajnenie: $n = 16$

+ – $P < 0,05$ ++ – $P < 0,01$ +++ – $P < 0,001$

skupiny sa od štvrtého mesiaca laktácie obrátil a v štádiu nad deväť mesiacov už predstavoval 0,37 mmol/l.

DRUHÁ LAKTÁCIA

V prvých troch mesiacoch druhej laktácie (tab. II) sme zistili, podobne ako v predchádzajúcej laktácii, vyrovnanjší obsah hemoglobínu v krvi kríženík, u pokusnej skupiny dokonca o 0,11 mmol/l vyšší. V ďalších obdobiach sa situácia zmenila a diferencia v neprospech skupiny chovanej v klietkach narastala až na 0,51 mmol/l v období nad deväť mesiacov laktácie. Podobný priebeh vykazoval aj hematokrit, len s tým rozdielom, že už v prvom sledovanom období bol podiel, ktorým sa červené krvinky zúčastňujú na celkovom objeme krvi, nižší u kráv odchovaných v klietkach.

Aktivita alkalickéj fosfatázy a aspartátaminotransferázy bola u dojnic chovaných v klietkach s obmedzeným pohybom mierne nižšia než u dojnic z voľného ustajnenia.

Koncentrácie významných ukazovateľov lipidového metabolizmu, cholesterolu, neutrálnych tukov a celkových lipidov v sére obidvoch sledovaných skupín sa diferencovali so zvyšujúcim sa štádiom laktácie. V siedmom až deviatom mesiaci bol obsah cholesterolu u pokusnej skupiny nižší o 0,58 mmol/l, obsah triglyceridov o 0,093 mmol/l a celkových lipidov o 0,95 g/l. U hypokinetických zvierat došlo k zníženiu

a čiernostrakaté nížinné v druhej laktácii — Hematological and biochemical parameters in the second lactation

Štádium laktácie

4. — 6. mesiac		7. — 9. mesiac			nad 9 mesiacov		
voľné ustajnenie	<i>d</i>	klietky	voľné ustajnenie	<i>d</i>	klietky	voľné ustajnenie	<i>d</i>
7,10	−0,22	7,07	7,44	−0,37	7,03	7,54	−0,51 ⁺
0,325	−0,013	0,313	0,338	−0,025 ⁺	0,317	0,344	−0,027 ⁺
2,94	−0,59 ⁺⁺	2,25	2,54	−0,29	2,46	2,35	0,11
0,87	−0,01	0,63	0,70	−0,07	0,58	0,64	−0,06
0,43	−0,05	0,33	0,36	−0,03	0,33	0,36	−0,03
4,48	−0,51	3,63	4,21	−0,58 ⁺⁺	3,57	4,07	−0,50 ⁺
0,326	−0,044	0,264	0,357	−0,093 ⁺⁺	0,270	0,352	−0,082 ⁺
5,17	−0,57	4,25	5,20	−0,95 ⁺	3,88	4,88	−1,00 ⁺
76,70	−5,20 ⁺	72,80	75,70	−2,90	72,60	75,70	−3,10 ⁺
64,00	−13,80	57,00	54,40	2,60	47,00	54,80	−7,80
140,80	−0,90	143,20	143,20	0,00	140,10	144,00	−3,90
4,79	−0,07	4,97	5,26	−0,29	4,93	5,06	−0,13
2,65	0,05	2,70	2,79	−0,09	2,64	2,64	0,00

celkovej proteinémie. Najväčší rozdiel oproti kravám z voľného ustajnenia sme zaznamenali v štvrtom až šiestom mesiaci.

Koncentrácia tyroxínu v sére bola okrem siedmeho až deviatego mesiaca nižšia u dojnic chovaných v klietkach. Najväčší rozdiel bol v štvrtom až šiestom mesiaci — 13,8 nmol/l. V natrémii ani v kalcinémii sme nezistili výraznejšie rozdiely. Naproti tomu obsah draslíka bol u pokusnej skupiny od siedmeho mesiaca nižší než u kontrolnej skupiny z voľného ustajnenia.

TRETIA LAKTÁCIA

Od prvého sledovania sme zaznamenali zníženie obsahu hemoglobínu u kráv z klietkového ustajnenia (tab. III). Rozdiel sa zväčšoval z 0,30 mmol/l v prvom sledovaní až na 0,41 mmol/l v štvrtom až šiestom mesiaci. Podobne aj v prípade hematokritu bola diferencia najvyššia na začiatku laktácie.

Aktivita aspartátaminotransferázy bola po celý čas temer rovnaká u obidvoch skupín, výrazný rozdiel sme zaznamenali až v období nad deväť mesiacov. K zmenám došlo opäť v oblasti lipidov. Cholesterolémia zvierat chovaných bez pohybu bola nižšia vo všetkých sledovaniach, podobne aj triglyceridonémia. Hladiny celkových lipidov boli spočiatku len mierne nižšie v porovnaní so zvieratami z voľného ustajnenia, ale od siedmeho mesiaca sa diferencie preukazne zvýraznili. Aj obsah celkových bielkovín a hormónov tyreoidy bol nižší.

III. Hematologické a biochemické ukazovatele kríženík plemien slovenské strakate meters in the crossbreds of Slovakian Pied cattle and Black Pied Lowland cattle

Ukazovateľ	Štádium laktácie			
	1. – 3. mesiac			klietky
	klietky	voľné ustajnenie	d	
Hemoglobín (mmol/l)	6,78	7,08	–0,30	6,88
Hematokrit (l/l)	0,318	0,353	–0,036 ⁺	0,331
Glukóza (mmol/l)	3,09	2,53	0,56 ⁺	3,04
Alkalická fosfatáza (μ kat/l)	0,70	0,57	0,13	0,74
Aspartátaminotransferáza (μ kat/l)	0,36	0,35	0,01	0,32
Cholesterol (mmol/l)	3,68	4,16	–0,48	3,54
Triglyceridy (mmol/l)	0,312	0,367	–0,055	0,277
Celkové lipidy (g/l)	3,72	3,83	–0,11	4,03
Celkové bielkoviny (g/l)	71,30	75,40	–4,10	71,60
Tyroxín (nmol/l)	48,00	61,50	–13,50 ⁺	49,80
Trijódtyronín (nmol/l)	0,955	0,956	–0,001	0,901
Sodík (mmol/l)	139,60	141,00	–1,40	138,20
Draslík (mmol/l)	4,68	4,73	–0,05	4,65
Vápnik (mmol/l)	2,62	2,46	0,16	2,64

Klietky: $n = 11$

Voľné ustajnenie: $n = 11$

+ – $P < 0,05$ ++ – $P < 0,01$

DISKUSIA

Na základe výsledkov z odchovu jalovic sme predpokladali, že vplyvom obmedzeného pohybu sa znižuje rýchlosť priebehu metabolických zmien v organizme. Veď poznatky o znížení rastovej úrovne a o dlhodobom znižovaní hladín hemoglobínu, cholesterolu, draslíka a aktivity aspartátaminotransferázy boli preukazné (Kovalčík a Brouček, 1982; Brouček a Kovalčík, 1981). Práve toto bola príčina, prečo sme sa detailnejšie zaoberali štúdiom biochemických ukazovateľov dojnic. U kráv pokusnej skupiny, ustajnených v klietkach, sme zistili nižšiu koncentráciu hemoglobínu a znížený hematokrit v krvi, čo je zhodné s výsledkami, ktoré uverejnili Zusanovskij a i. (1978). Svedčí to o znížení úrovne oxidačných procesov. Ďalší ukazovateľ, ktorý sa modifikoval u kráv chovaných s obmedzeným pohybom a ktorého zníženie malo trvalý charakter po celú dobu sledovania, bol enzým aspartátaminotransferáza. Súvisí to opäť so spôsobom ustajnenia, pretože akýkoľvek zásah do energetického metabolizmu bunky vedie k zvýšeniu priepustnosti membrány a k možnosti penetrácie enzýmu do krvi. Výrazné boli aj zmeny metabolizmu lipidov. Na rozdiel od našich starších poznatkov (Brouček a Kovalčík, 1981) a údajov Michalevy a i. (1978) a Kakurina a i. (1978) koncentrácie minerálnych látok kolísali a ani sérová kalémia nevykazovala jednoznačný trend. Na druhej strane však hladina celkových bielkovín bola u zvierat odchová-

Štádium laktácie							
4. — 6. mesiac		7. — 9. mesiac			nad 9 mesiacov		
voľné ustajnenie	d	klietky	voľné ustajnenie	d	klietky	voľné ustajnenie	d
7,29	—0,41 ⁺	6,74	7,07	—0,33	6,95	7,16	—0,21
0,341	—0,010	0,324	0,333	—0,009	0,329	0,343	—0,014
2,42	0,62 ⁺	2,88	2,97	—0,09	3,00	3,04	—0,04
0,65	0,09	0,74	0,71	0,03	0,86	0,90	—0,04
0,33	—0,01	0,33	0,35	—0,02	0,29	0,40	—0,11 ⁺⁺
4,00	—0,46	3,06	3,76	—0,70 ⁺	3,24	3,69	—0,45
0,366	—0,089	0,334	0,362	—0,028	0,330	0,374	—0,044
4,18	—0,15	3,70	4,48	—0,78 ⁺	3,39	4,52	—1,13 ⁺
74,60	—3,00	70,20	75,10	—4,90	70,70	75,10	—4,40
51,80	—2,00	44,70	52,30	—7,50	55,70	60,20	—4,50
0,930	—0,029	1,022	0,985	0,037	1,024	1,041	—0,017
138,90	—0,70	133,00	138,50	—5,50	140,10	138,90	1,20
4,72	—0,07	4,77	4,59	0,18	4,44	4,62	—0,18
2,59	0,05	2,43	2,85	—0,42	2,47	2,70	—0,23

vaných v klietkach stále nižšia ako u kráv z voľného ustajnenia. Predpokladáme, že ide o narušenie proteosyntetických procesov vplyvom hypokinézy (Portugalov, 1971; Lamošová, 1977). Koncentrácia hormónov štítnej žľazy, ktorá súvisí s intenzitou metabolizmu, zaznamenala v priebehu pokusu trvalé zníženie, podobne ako to popisuje Burlačenko (1979). Zmeny nami stanovených biochemických ukazovateľov, ale aj výrazné zníženie produkcie mlieka (Kovalčík a i., 1983), boli zrejme zapríčinené dlhodobým nedostatkom pohybu. Obmedzenie svalovej činnosti spôsobuje prudké zníženie stimulov, nasleduje oslabenie funkcie hypofýzy a ostatných endokrinných žliaz, čo je spojené so znížením úrovne všetkých životných funkcií.

Literatúra

- BROUČEK, J. — KOVALČÍK, K.: The influence of hypokinesia on physiological indices of heifers from the age of 3 to 21 months. *Physiol. bohemoslov.*, 30, 1981, č. 3, s. 165.
- BURLAČENKO, L. V.: Uroveň tiroksina v syvorotke krvi teliat pri gipodinamiji. *Probl. molekul. Biol., Sbor. nauč. Tr.*, Moskva, 1979, č. 106, s. 41-44.
- KAKURIN, L. I. — ARMAZOV, G. S. — GRIGORJEV, A. I.: Kalijuretičeskaja funkcia poček u čeloveka pri različnoj stepeni dvigatelnoj aktivnosti. *Kosm. Biol.*, 12, 1978, č. 4, s. 13-17.
- KOVALČÍK, K. — BROUČEK, J.: Vplyv odchovu jalovičiek-dvojičiek v klietkach a voľnom ustajnení na rast a vývin. *Živoč. Výr.*, 27, 1982, č. 1, s. 41-50.

- KOVALČIK, K. — BRESTENSKÝ, V. — BROUČEK, J.: Hodnotenie dlhodobého vplyvu obmedzeného pohybu na rast živej hmotnosti, plodnosť a zdravotný stav kráv. Poľnohospodárstvo, 29, 1983, č. 11, s. 1016-1023.
- KOVALČIK, K. — BROUČEK, J. — BRESTENSKÝ, V.: Evaluation of a long term influence of hypokinesia on milk efficiency in dairy cows. Sci. Agric. bohemoslov., 15, 1983, č. 4, s. 267-272.
- LAMOŠOVÁ, D.: Vplyv hypokinézie na fyziologické funkcie kura domáceho. [Kandidátska dizertačná práca.] Ivanka pri Dunaji 1977. — Ústav fyziológie hospodárskych zvierat.
- MICHALEVA, V. P. — JEFIMENKO, G. D. — BOBROVNICKIJ, I. P.: Soderžaniye elektrolitov v krovi krysa pri dlitelnoy gipokineziji. Kosm. Biol., 12, 1978, č. 4, s. 80-81.
- NVOTA, J. — LAMOŠOVÁ, D. — TESAŘOVÁ, D. — ČIERNA, V. — VÝBOH, P.: Vplyv hypokinézie na fyziologické funkcie u kury. Veter. Med. (Praha), 22, 1977, č. 7, s. 425-432.
- PAŘÍZKOVÁ, J.: Složení těla a lipidový metabolismus za různého pohybového režimu. Praha, Avicenum 1973.
- PORTUGALOV, V. V.: Strukturnye i citochimicheskiye izmeneniya skeletnykh myšc krysa pri ograničeniji podvizhnosti. Arch. Anat. Gistol. Embriol., 11, 1971, s. 83-90.
- TRÁVNÍČEK, T. a kol.: Obecná patologická fyziologie. Praha, Avicenum 1977.
- ZUSMANOVSKIY, A. G. — PIMENOV, P. K. — SILANTJEVA, V. D.: Izmeneniye pokazatelej krovi pri gipodinamiji. Profilaktika i lečeniye boleznej sel'sko-choz-jeystvennykh životnykh. Uljanovsk 1978, s. 56-60.

Došlo dňa 12. 3. 1984

БРОУЧЕК, Я. — ГАЙДОШИК, Д. — КОВАЛЧИК, К. — БРЕСТЕНСКИ, В.: (Научно-исследовательский институт животноводства, Нитра; Государственный институт ветеринарии, Нитра): Влияние длительного ограниченного движения на биохимические показатели у коров. Veter. Med. (Praha), 29, 1984 (12) : 705-712.

У 33 коров-первотелок в ходе 3 лактаций оценивали влияние гипокинеза на их биохимические показатели. Коров подопытной группы (15) содержали в стальных клетках, где их движения были минимальны. А коров контрольной группы (18 гол.) — свободно. У коров в клетках отмечено значительное понижение концентрации гемоглобина и гематокрита, а также активности аспаратаминотрансферазы. По сравнению с контролем заметное понижение отмечено и в липидной области — у холестерина, триглицеридов и общего содержания липидов. Отмечено также понижение тироксина и общей протеинемии.

коровы; гипокинез; биохимические показатели

BROUČEK, J. — GAJDOŠÍK, D. — KOVALČIK, K. — BRESTENSKÝ, V. (Research Institute of Animal Production, Nitra; State Veterinary Institute, Nitra): *The Influence of Prolonged Movement Restriction on Biochemical Parameters of Dairy Cows.* Veter. Med. (Praha), 29, 1984 (12) : 705-712.

In thirty-three dairy cows — first calvers, the influence of hypokinesia on biochemical parameters was studied over three lactation periods. The cows of the experimental group ($n = 15$) were reared in steel cages enabling only minimum movement, whereas the control group ($n = 18$) was housed loosely. It was found out that the permanent movement restriction led to a statistically significant decrease in hemoglobin and hematocrit concentrations, as well as in aspartate aminotransferase activity. In comparison with the control group, a significant decrease was also observed in substances of the lipid group — cholesterol, triglycerides and total lipids. Similarly, thyroxine and total proteinemia were lower.

dairy cows; hypokinesia; biochemical parameters

Adresy autorov:

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

VÝSKYT PROTILÁTEK PROTI LEPTOSPIRÁM V KREVNÍM SÉRU CHOVNÝCH PRASNIC

F. Tremel, K. Hejlíček, M. Soukup

TREML, F. — HEJLÍČEK, K. — SOUKUP, M. (Vysoká škola veterinární, Brno; Okresní veterinární zařízení, Strakonice): *Výskyt protilátek proti leptospirám v krevním séru chovných prasnic*. Veter. Med. (Praha), 29, 1984 (12) : 713-718.

Sérologicky reakcí mikroaglutinace lýze (RMAL) s 12 kmeny leptospir bylo v průběhu jednoho roku vyšetřeno 4438 krevních sér prasnic pocházejících z 25 zemědělských závodů okresu Strakonice. U vyšetřovaného souboru krevních sér byla RMAL pozitivní v 3,22 %. Samostatné signifikantní titry byly prokázány v reakci s leptospirami čtyř sérologických skupin, a to: *Grippytyphosa*, *Icterohaemorrhagiae*, *Hebdomadis* a *Australis*. Reakce s leptospirami sérologické skupiny *Canicola* byly prokázány ojediněle jako koaglutinace za současného výskytu protilátek na leptospiry sérologické skupiny *Grippytyphosa*. Nejvíce reakcí bylo prokázáno v titru 400, a to 119 (75,8 %).

leptospiróza; prase; výskyt protilátek; reakce mikroaglutinace lýze-RMAL

Leptospiróza prasat je závažné infekční onemocnění, které v chovech zvířat způsobuje hospodářské a ekonomické ztráty. Infekce prasat leptospirami může probíhat inaparentně, nebo se může projevovat horečkou, žloutenkou, potraty a porody mrtvých selat. Promořenost prasat leptospirózou, zjišťovaná sérologickým vyšetřováním, v jednotlivých státech kolísá. Tak např. Babudieri [1957] uvádí promořenost v Itálii až 66%, Mitov a Jankov [1959] v BLR do 75 %, Ljubasenko [1967] v jednotlivých oblastech SSSR od 3,5 % do 58,0 %. Jak uvádějí Halaša aj. [1969], v ČSSR se pozitivní sérologické nálezy pohybují okolo 34,0 % z počtu vyšetřovaných prasat. Kromě hlavních sérovarů leptospir *L. pomona* a *L. tarassovi*, u kterých jsou prasata považována za hlavní rezervoár, bylo prokázáno, že infekce mohou vyvolávat i leptospiry jiných sérologických skupin. Kmetý aj. [1956] izolovali z prasat v našich podmínkách mimo jiné leptospiry sérologických skupin *Grippytyphosa*, *Canicola*, *Icterohaemorrhagiae*, *Ballum* a *Hebdomadis* (*L. sejroe*).

V naší práci jsme se zaměřili na sérologické vyšetření chovných prasnic pocházejících ze stejného územního celku, abychom zjistili promořenost chovů dané oblasti a etiologickou strukturu vyvolávajících leptospir. Záměrem práce bylo ověřit u většího souboru zvířat sérologický výskyt protilátek proti leptospirám a zjistit, zda se tato zvířata nepodílejí na vytváření antropourgických ohnisek leptospirózy, a to především sérovarů *L. pomona* a *L. tarassovi*.

MATERIÁL A METODA

V průběhu jednoho roku jsme na přítomnost protilátek proti leptospirám sérologicky vyšetřili 4438 krevních sér chovných prasnic pocházejících z 25 zemědělských závodů okresu Strakonice. Jednalo se o chovy zdravé, bez klinických příznaků leptospirozy i jiných infekčních onemocnění. Sérologické vyšetření reakcí mikroaglutinace lýze (RMAL) bylo provedeno s 12 kmeny leptospir patřících do deseti sérologických skupin: 1. *L. grippotyphosa* P 125; 2. *L. icterohaemorrhagiae* Fryšava; 3. *L. sejroae* M 84; 4. *L. canicola* Canis 7; 5. *L. pomona* Šimon; 6. *L. bratislava* Jež Bratislava; 7. *L. arboreae* M 7; 8. *L. bataviae* Moldava; 9. *L. tarassovi* S 42; 10. *L. bulgarica* Nicolaev; 11. *L. sorex jalna* Sorex Jalna; 12. *L. pyrogenes* Salinem. Séra zvířat reagujících při základním vyšetření v ředění 1:100 byla vyšetřována do titru se všemi pozitivně reagujícími sérovary, popřípadě i s dalšími sérovary téže sérologické skupiny. Za pozitivní byla považována reakce v titru 400 a výše.

VÝSLEDKY

Výsledky vlastních vyšetření jsou shrnuty v tabulkách. K vyšetření byla získána krevní séra chovných prasnic z 25 zemědělských závodů na okrese Strakonice (tab. I). Protilátky proti leptospirám různých sérologických skupin byly prokazovány v 21 zemědělském závodě (tj. 84 %). U chovných prasnic ze čtyř zemědělských závodů byl výsledek vyšetření krevních sér negativní. Nejvyšší procento reagujících zvířat (od 6,35 % do 9,19 %) bylo zjištěno rovněž ve čtyřech zemědělských závodech. Ve zbývajících závodech se výskyt protilátek pohyboval od 0,47 % do 5,6 %. Z celkového počtu 4438 vyšetřovaných sér chovných prasnic byly protilátky proti různým sérovarům leptospir prokázány ve 143 případech (tj. 3,22 %). Samostatné signifikantní titry byly zjištěny 128 X (tj. 83,51 %) a reakce dvou a více sérovarů 15 X (tj. 10,49 %). Ve sledovaném souboru byly prokazovány reakce s leptospirami pěti sérovarů (tab. II). Protilátky proti leptospirám *L. grippotyphosa* byly zjištěny 63 X (tj. 40,13 %), proti *L. icterohaemorrhagiae* 32 X (20,38 %), proti *L. sejroae* 12 X (7,64 %), proti *L. bratislava* 48 X (30,58 %), proti *L. canicola* dvakrát (1,27 %). Vyšetřovaná séra reagovala v ředění od 1:400 do 1:3200. Nejvíce reakcí bylo zaznamenáno v titru 400, a to 119 (75,8 %). V nejvyšším ředění séra byly zjištěny reakce čtyřikrát, a to pouze s leptospirami sérovaru *L. grippotyphosa*.

DISKUSE

V rámci sérologické depistáže byl zjišťován výskyt protilátek proti leptospirám a jejich etiologická struktura v krevních sérech chovných prasnic ze zemědělských závodů okresu Strakonice. Protilátky proti leptospirám byly zjištěny v krevních sérech prasnic pocházejících z 21 zemědělského závodu. Výsledky svědčí o značném plošném rozšíření leptospirozních protilátek mezi prasaty. Etiologická struktura je tvořena především leptospirami sérovaru *L. grippotyphosa* (40,13 %), *L. bratislava* (30,58 %), *L. icterohaemorrhagiae* (20,38 %) a *L. sejroae* (7,64 %). V 10,49 % případů byly prokazovány spoluaglutinace, popřípadě koaglutinace dvou a více sérovarů. Literatura o problematice leptospirozy prasat je velmi bohatá a co do etiologické struktury značně rozmanitá. Malachov a Alechin (1976) ve své práci uvádějí, že nezávisle na místě šetření mají největší význam v etiologii leptospirozního one-

I. Výsledky sérologického vyšetření prasnic na přítomnost leptospirových protilátek
 — The results of the serological examination of sows for the presence of *Leptospira* antibodies

Zemědělský závod	Vyšetře- no sér	+	%	G	Ic	H	A	Sm
CH	185	17	9,19	3	5	—	6	3
K	98	8	8,16	7	—	1	—	—
H	77	5	6,49	2	—	2	1	—
HO	63	4	6,35	—	—	—	4	—
P	125	7	5,60	3	1	2	1	—
V	254	14	5,51	4	2	5	3	—
T	351	19	5,41	18	1	—	—	—
Č	222	9	4,05	1	3	—	4	1
K	127	5	3,94	—	3	—	—	2
S	133	5	3,76	—	—	—	4	1
Z	91	3	3,30	1	—	—	—	2
N	156	5	3,20	1	—	—	3	1
M	263	8	3,04	4	—	—	3	1
D	293	8	2,73	3	3	—	2	—
R	445	11	2,47	2	6	2	1	—
B	104	2	1,92	1	—	—	—	1
P	52	1	1,92	—	—	—	1	—
Pa	217	3	1,38	—	1	—	—	2
B	416	5	1,20	4	—	—	1	—
Čc	296	3	1,01	1	—	—	1	1
M	213	1	0,47	—	1	—	—	—
D	87	—	—	—	—	—	—	—
SH	85	—	—	—	—	—	—	—
L	66	—	—	—	—	—	—	—
P	19	—	—	—	—	—	—	—
Celkem	4438	143	3,22	55	26	12	35	15

Výsvětlivky: G: *L. grippotyphosa*
 H: *L. sejroe*
 SM: smíšené reakce

Ic: *L. icterohaemorrhagiae*
 A: *L. bratislava*

mccnění prasat leptospiry sérologické skupiny *Pomona* a *Tarassovi*. Stejně tak většina (kolem 85 %) izolovaných kmenů leptospir z prasat náleží k těmto sérologickým skupinám. Ve Slovenské socialistické republice dospěli při vyšetřování prasat na leptospirozu k podobným výsledkům Halaša (1962) a Halaša aj. (1981). O tom, že však tyto sérovary nemusí být při infekci prasat vždy na prvním místě, svědčí práce jiných autorů. Tak například na Ostravsku prokazoval Ašmera (1963) u prasat nejčastěji protilátky proti leptospirám sérovaru *L. icterohaemorrhagiae*, stejně jako Šebek aj. (1979) při vyšetřování pra-

II. Výskyt sérovarů a výška titru zjišťovaná při sérologickém vyšetření na leptospirózu chovných prasnic — The occurrence of serovars and the level of titre determined at the serological examination for leptospirosis in the breeding sows

Sérovary leptospir	Počet pozitivních	Titry			
		400	800	1600	3200
<i>L. grippotyphosa</i>	63	38	13	8	4
%	40,13	60,30	20,65	12,70	6,35
<i>L. icterohaemorrhagiae</i>	32	25	6	1	—
%	20,38	78,13	18,75	3,12	—
<i>L. sejroe</i>	12	11	1	—	—
%	7,64	91,67	8,33	—	—
<i>L. bratislava</i>	48	43	4	1	—
%	30,58	89,58	8,33	2,09	—
<i>L. canicola</i>	2	2	—	—	—
%	1,27	100	—	—	—
Celkem	157	119	24	10	4
%	100	75,79	15,28	6,39	2,54

sat v ČSR. Tento autor ve své práci mimo jiné poukazuje na sníženou promořenost hospodářských zvířat leptospirózou v posledních letech. P r o k o p č á k o v á aj. (1981) při vyšetřování prasat ve Východoslovenském kraji prokazovala převahu reakcí s leptospirami sérovaru *L. bratislava* a teprve na druhém místě s leptospirami sérovaru *L. icterohaemorrhagiae*.

Průkaz celé řady sérovarů leptospir u prasat potvrzuje mínění našich i zahraničních autorů o tom, že prase může být širokým rezervoárem leptospir, a to nejen leptospir sérovaru *L. pomona* a *L. tarassovi*. Tuto skutečnost je možné vysvětlit jak na podkladě zhodnocení epizootologické situace v chovu, tak především výskytem a přítomností hlodavců — hlavních rezervoárů některých patogenních leptospir — ve sledovaných oblastech. V našem případě lze převahu reakcí s leptospirami sérovaru *L. grippotyphosa* u prasat strakonického okresu do jisté míry vysvětlit tím, že se zvířata dostala do přímého či nepřímého kontaktu s přírodním ohniskem leptospirózy typu *Grippotyphosa*, jež zde bylo již dříve prokázáno (P o k o r n ý aj., 1964) a jež je tvořeno hrabošem polním (*Microtus arvalis*). K infekci leptospirami sérovaru *L. icterohaemorrhagiae* i *L. sejroe* dochází ve stájích přímým či nepřímým kontaktem prasat s hlavními rezervoáry těchto leptospirových sérovarů — potkanem (*Rattus norvegicus*) a myší domácí (*Mus musculus*), kteří v našich podmínkách vytvářejí ohniska synantropního typu. Zvláštní postavení má výskyt protilátek proti leptospirám sérovaru *L. bratislava*. V přírodě se jako hlavní rezervoár leptospir tohoto sérovaru označuje ježek (*Erinaceus europaeus*), z něhož byly také izolovány. Je dost nepravděpodobné, že by v chovech docházelo ke kontaktu prasat s ježky tak často, aby to způsobovalo vysokou promořenost prasat tímto sérovarem. Spíše se tedy přikláníme k názorům, které vyslovili W e b e r

a Fenske [1978], Prokopčáková aj. [1981] i další autoři. Podle nich se leptospiry sérovaru *L. bratislava* udržují latentně v chovech zvířat, přičemž prase se pravděpodobně stává jedním z jeho druhotných rezervoárů.

Leptospirozní onemocnění vyvolané leptospirami sérovaru *L. grippotyphosa* v chovech prasat nezpůsobuje závažné zdravotní problémy ani ekonomické ztráty. O infekci se často přesvědčujeme až při sérologickém vyšetření průkazem specifických protilátek. To tedy svědčí o nízké patogenitě leptospir uvedeného sérovaru pro prasata, podobně jako pro skot, u kterého na sníženou patogenitu v našich podmínkách již dříve upozornil Šebek [1972]. Našimi šetřeními v oblasti Strakonice nebyl prokázán výskyt ohnisek leptospirózy typu *Pomona* a *Tarassovi*, která jsou jinde vázána na chovy prasat, a to má mimořádný význam nejen z hlediska epizootologického, ale i epidemiologického.

Literatura

- AŠMERA, J.: Výsledky výzkumu leptospiros v oblasti Ostravy. Českoslov. Parasit., 10, 1963, č. 8, s. 13-22.
- BABUDIERI, B.: Über Leptospiren und Leptospirose in Italien. Sc. med. ital., 5, 1957, s. 676.
- HALAŠA, M.: Sérologické a kultivačné leptospirologické nálezy u ošípaných v chovech na Slovensku. [Kandidátska dizertačná práca.] Bratislava 1962. 256 s.
- HALAŠA, M. — PLEŠLO, I. — HRUŽÍK, J.: Leptospirózy zvierat a ľudí. Bratislava 1969. 169 s.
- HALAŠA, M. — MRÁZ, A. — HAMMELOVÁ, E.: Latentná forma leptospirózy ošípaných — závažný epizootologický a epidemiologický problém. Veterinárství, 36, 1981, č. 6, s. 271-272.
- KMETY, E. — CHYLO, E. — PLEŠKO, I.: Epidemiologický význam ošípaných ako rezervoárov leptospiroz. Českoslov. Epidem. Mikrobiol. Imunol., 5, 1956, č. 6, s. 301-304.
- LJUBAŠENKO, S. Ja.: Epizootologia i epidemiologia leptospiroza v SSSR. In: Leptospiroza. Moskva 1967, s. 152.
- MALACHOV, Ju. A. — ALECHIN, R. M.: Leptospiroz sviněj. Moskva, Kolos 1976. 144 s.
- MITOV, A. — JANKOV, N.: Leptospirenerkrankungen in Bulgarien. Zbl. Bakt. I. Orig., 175, 1959, s. 437-444.
- POKORNÝ, B. — LEHKÝ, F. — ŠEBEK, Z. — VOŠTA, J.: Leptospirosennaturherde und Leptospirenreservoir in Böhmen in den Jahren 1955—1960. Z. ges. Hyg., 10, 1964, s. 345-356.
- PROKOPČÁKOVÁ, H. — POSPÍŠIL, R. — ČISLÁKOVÁ, L. — KOZÁK, M.: Dôkaz protilátok voči leptospirám u zvierat a ľudí vo Východoslovenskom kraji za posledných desať rokov. Veterinárství, 31, 1981, č. 6, s. 275-277.
- ŠEBEK, Z.: Leptospiróza u skotu na Českomoravské vysočině. Vlastiv. Sbor. Vysočiny, Odd. Věd. přír., 7, 1972, s. 147-156.
- ŠEBEK, Z. — ROSICKÝ, B. — TREML, F.: Snížení promořenosti leptospirozou u skotu a prasat v důsledku velkokapacitní technologie chovu. In: Hygienická problematika zemědělství, Chlum u Třeboně, 1979, s. 171-180.
- WEBER, B. — FENSKE, G.: Untersuchungen zur Leptospira-bratislava-Infektionen beim Schwein. Mh. Veter.-Med., 33, 1978, č. 17, s. 652-656.

Došlo dne 7. 3. 1984

ТРЕМЛ, Ф. — ГЕЙЛИЧЕК, К. — СОУКУП, М. (Ветеринарный институт, Брно; Районная ветеринарная станция, Страконице): Появление антител против лептоспир в сыворотке крови племенных свиноматок. *Veter. Med. (Praha)*, 29, 1984 (12): 713-718.

Путем серологической реакции микроагглютинации лизиса (РМАЛ) с 12 лептоспирозными штаммами в течение одного года было обработано 4438 сывороток крови свиноматок, происходящих из 25 сельскохозяйственных предприятий района Страконице. У обработанной совокупности сывороток крови РМАЛ была положительной у 3,22 %. Самостоятельные достоверные титры были доказаны в реакции с лептоспирами четырех серологических групп, а именно: *Grippotyphosa*, *Icterohaemorrhagiae*, *Hebdomadis* и *Australis*. Реакции с лептоспирами серологической группы *Canicola* были доказаны изредка, как коаггутинация, при одновременном наличии антител на лептоспиры серологической группы *Grippotyphosa*. Больше всего реакций было доказано в титре 400, а именно 119 (75,8 %).

лептоспироза; свинья; появление антител; реакция микроагглютинации лизис-РМАЛ

TREML, F. — HEJLIČEK, K. — SOUKUP, M. (University of Veterinary Medicine, Brno; District Veterinary Centre, Strakonice): *The Occurrence of Leptospira Antibodies in the Blood Serum of Breeding Sows*. *Veter. Med. (Praha)*, 29, 1984 (12): 713-718.

Within a year, 4438 blood sera of sows coming from 25 farms of the Strakonice district were subjected to serological examination by the reaction of microagglutination lysis (RMAL) with 12 strains of *Leptospira*. The reaction was positive in 3.22 % of all the blood sera. Separate significant titres were demonstrated in the reaction with the *Leptospira* organisms of four serological groups, including *Grippotyphosa*, *Icterohaemorrhagiae*, *Hebdomadis* and *Australis*. The reactions with the *Leptospira* of the *Canicola* serological group were observed only individually as coagglutination with a simultaneous occurrence of antibodies to *Leptospira* of the *Grippotyphosa* serological group. The highest number of reactions 119 (75.8 %) was demonstrated in titre 400.

leptospirosis; pig; occurrence of antibodies; reaction of microagglutination lysis — RMAL

Adresy autorů:

Doc. MVDr. František Trem l, CSc., prof. MVDr. Karel Hej l i č e k, DrSc., Vysoká škola veterinární, Palackého 1-3, 612 42 Brno

MVDr. M. Soukup, Okresní veterinární zařízení, 386 00 Strakonice

POSTVAKCINAČNÍ VIRÉMIE V ROZMNOŽOVACÍCH CHOVECH NOSNÝCH A MASNÝCH PO VAKCINACI PROTI MARKOVĚ NEMOCI DRŮBEŽE

V. Jurajda, J. Salaj, Z. Pospíšil

JURAJDA, V. — SALAJ, J. — POSPÍŠIL, Z. (Vysoká škola veterinární, Brno; Bioveta, n. p., Nitra; Výzkumný ústav veterinárního lékařství, Brno): *Postvakační virémie v rozmnožovacích chovech nosných a masných po vakcinaci proti Markově nemoci drůbeže*. Věter. Med. (Praha), 29, 1984 (12) : 719-728.

Stav imunity po vakcinaci proti Markově nemoci (MN) jsme zkoumali ve třech rozmnožovacích chovech nosných (RCHN), pěti rozmnožovacích chovech masných (RCHM) a v jednom užitkovém chovu nosnic (UCH). Kritériem imunity byly výskyt a průměrné titry postvakační virémie u výběrových souborů kuřat z těchto chovů, vyšetřovaných ve věku tři týdny nebo 20 týdnů. Současně jsme v laboratorních podmínkách sledovali dynamiku postvakační virémie po aplikaci vakcíny MARVAK v dávkách 100 a 1000 PFU na kuře u nosného hybrida HX-SL a Shaver. U kuřat vyšetřovaných v třetím týdnu věku a pocházejících z RCHN vakcinovaných doporučenou dávkou vakcíny MARVAK (100 PFU na kuře) bylo zjištěno 64,3 % kuřat viremických, průměrný titr virémie byl 12 PFU/10⁷ leukocytů. Po aplikaci čtyřnásobné dávky vakcíny MARVAK bylo zjištěno 57,1 % kuřat viremických, průměrný titr virémie byl 3,2 PFU/10⁷ leukocytů. Po aplikaci desetinásobné dávky vakcíny MARVAK bylo 80 % kuřat viremických a průměrný titr virémie byl 8 PFU/10⁷ leukocytů. V RCHM vakcinovaných doporučenou dávkou vakcíny MARVAK byl počet viremických kuřat 48,3 %, průměrný titr virémie byl 6,5 PFU/10⁷ leukocytů. U kuřic vyšetřovaných ve 20. týdnu věku se počet viremických kuřic pohyboval od 20 do 50 %, průměrné titry virémie od 3,8 do 13,1 PFU/10⁷ leukocytů. V chovu postiženém akutní MN nebyla zjištěna postvakační virémie u klinicky nemocných kuřat. U kuřat HX-SL vakcinovaných doporučenou dávkou vakcíny MARVAK vrcholila virémie ve třetím týdnu po vakcinaci (31,5 PFU/10⁷ leukocytů) a po aplikaci desetinásobné dávky vakcíny MARVAK o týden později (47 PFU/10⁷ leukocytů). U kuřat Shaver vakcinovaných doporučenou dávkou nebo desetkrát vyšší dávkou vakcíny MARVAK vrcholila postvakační virémie ve čtvrtém týdnu po vakcinaci (94,9 a 116,8 PFU/10⁷ leukocytů). Precipitační postvakační protilátky byly poprvé detekovány v osmém týdnu po vakcinaci.

nosný hybrid HX-SL a Shaver; postvakační precipitační protilátky; vakcína MARVAK; Riemser Marekvakzine; vakcína CVI 988

Stanovení příčin snížené chráněnosti kuřat vakcinovaných proti Markově nemoci (MN), v současné době u nás ojediněle zjišťované, není jednoduché. Doposud známé příčiny selhání účinnosti vakcinace tvoří celý komplex zahrnující jak kvalitu vakcín samé, tak i hostitelské a ekologické faktory (Jurajda, 1982). Navíc se může jednat i o faktory zatím nepoznané.

Účinnost vakcinace proti MN se nejčastěji kontroluje zjišťováním postvakcinační virémie u kuřat anebo čelenžními pokusy. Těmito metodami lze zjišťovat infekciozitu vakcinačního viru pro kuřata (kvantitativně i kvalitativně sledovat jeho replikační vlastnosti) i schopnost chránit kuřata před vznikem nádorů po infekci patogenním virem MN.

Pro objasnění příčin nedostatečné chráněnosti kuřat po vakcinaci v našich chovech považujeme za nezbytné studium těchto parametrů i u československé vakcíny MARVAK. Úroveň imunity proti MN jsme sledovali určováním postvakcinační virémie v několika rozmnožovacích chovech nosných a masných. Replikační vlastnosti vakcinačního viru THV-BIO-I jsme studovali v laboratorních podmínkách.

MATERIÁL A METODY

Způsoby detekce pasivních a aktivních protilátek proti viru Markovy nemoci (MN) a krůtímu herpetickému viru (HVT) v agarovém gelu, včetně stanovování postvakcinační virémie, byly již popsány (Jurajda aj., 1984).

Z parametrů postvakcinační imunity jsme sledovali výskyt a průměrné titry virémie u výběrových souborů kuřat. Titr virémie je uváděn jako počet plakovitých jednotek (PFU) v přepočtu na 10^7 leukocytů v periferní krvi.

URČOVÁNÍ POSTVAKCINAČNÍ VIRÉMIE V CHOVECH

Náhodně vybrané skupiny jednodenních kuřat z rozmnožovacích chovů nosných (RCHN) a masných (RCHM) jsme po sérologickém vyšetření na pasivní protilátky proti VMN a HVT ustájili v experimentálních boxech. Za tři týdny jsme od těchto kuřat odebrali krev pro stanovení virémie a kuřata jsme utratili.

Většina vyšetřovaných souborů kuřat byla vakcinována v líhních vakcínou MARVAK obvyklým způsobem a v doporučené dávce (tj. 100 PFU/ kuře *i. m.*) nebo dávkou čtyřikrát až desetkrát vyšší. V několika chovech byla kuřata vakcinována vakcínou vyráběnou v NDR (dávka 1000 PFU/kuře) nebo v případě kuřat importovaných z Holandska přímo dodavatelem vakcínou, která obsahuje apatogenní kmen CVI 988 viru MN (obsah PFU ve vakcinační dávce neznáme).

Některé chovy byly vyšetřovány opakovaně v různých časových obdobích, jiné pouze jednorázově.

K výskytu klinického onemocnění MN dochází u vakcinované drůbeže nejčastěji na konci odchovu anebo na začátku snáškového období. Sledovali jsme proto také úroveň postvakcinační virémie i u kuřic ve věku 20 týdnů. Kuřice jsme vyšetřili na přítomnost aktivních protilátek proti VMN a HVT a po odběru krve pro stanovení virémie jsme kuřice utratili a patomorfologicky vyšetřili.

DYNAMIKA POSTVAKCINAČNÍ VIRÉMIE

Z rozmnožovacích chovů v P. a N. jsme získali jednodenní kuřata nosných hybridů HX-SL (60 ks) a Shaver (60 ks). Z každé skupiny jsme dekapitací utratili 20 kuřat a jejich krevní séra jsme vyšetřili na pasivní protilátky proti VMN a HVT. Polovinu zbývajících kuřat od každého hybridu jsme imunizovali vakcínou MARVAK v doporučené dávce a druhou polovinu kuřat dávkou desetkrát vyšší. Vytvořené čtyři skupiny kuřat jsme ustájili v experimentálních boxech. Ve druhém, třetím, čtvrtém, šestém, osmém a desátém týdnu po vakcinaci jsme vždy pět kuřat z každé skupiny vyšetřili na hladinu postvakcinační virémie a protilátek. Pokus byl ukončen v desátém týdnu věku kuřat.

VÝSLEDKY

Celkový přehled výsledků získaných u výběrových skupin kuřat z rozmnožovacích chovů (RCH) je shrnut v tab. I.

Z RCHN-1 jsme vyšetřili třetí týden po vakcinaci celkem sedm různých velkých souborů kuřat, která byla vakcinována doporučenou dávkou vakcíny MARVAK. Ze 112 vyšetřovaných kuřat byla 72 kuřata viremická (tj. 64,3 %). Průměrný titr postvakcinační virémie u pozitivních kuřat z těchto souborů byl 12 PFU/10⁷ leukocytů. Jednotlivé titry virémie u pozitivních kuřat se pohybovaly od 1 do 83 PFU/10⁷ leukocytů. Pasivní protilátky proti HVT byly zjištěny u tří výběrových souborů a proti VMN ve dvou souborech, a to vždy u poměrně malého počtu kuřat.

Čtyřnásobné zvýšení vakcinační dávky MARVAKU v RCHN-2 se neprojevalo ani v počtu viremických kuřat, ani ve zvýšení průměrné hodnoty postvakcinační virémie. U tohoto souboru kuřat byl zjištěn relativně vysoký počet kuřat s mateřskými protilátkami proti HVT (64 %).

U tří vyšetřovaných skupin kuřat HX-SL, pocházejících z RCHN-1 a vakcinovaných desetkrát vyšší dávkou vakcíny MARVAK, bylo celkem ze 45 vyšetřovaných kuřat 36 viremických (80 %) a průměrný titr postvakcinační virémie u pozitivních kuřat byl 8 PFU/10⁷ leukocytů. Přítomnost pasivních protilátek jsme u těchto kuřat nezjišťovali. Statistickým vyhodnocením obou sledovaných parametrů (procento viremických kuřat a průměrný titr virémie) nebyly prokázány rozdíly mezi soubory kuřat HX-SL vakcinovanými doporučenou nebo desetkrát vyšší dávkou vakcíny MARVAK.

Ve třech RCHM (1—3) s masným hybridem Ross se pozitivita viremických kuřat pohybovala v rozmezí od 35 do 70 % a průměrný titr virémie od 2,2 do 9,2 PFU/10⁷ leukocytů. Celkem z 60 vyšetřovaných kuřat bylo 29 viremických (48,3 %) a průměrný titr virémie u pozitivních kuřat byl 6,5 PFU/10⁷ leukocytů. Pasivní protilátky proti HVT byly zjištěny pouze u jednoho souboru kuřat (u 20 % kuřat v souboru).

U importovaných kuřat masného hybridu Hybro (Euribrid Holandsko, RCHM-4), vakcinovaných dodavatelem vakcínou CVI 988, bylo 35 % kuřat viremických a průměrný titr virémie u pozitivních kuřat byl 4,3 PFU/10⁷ leukocytů. Pasivní protilátky proti VMN byly zjištěny u 40 % z vyšetřovaných kuřat.

Kuřice vyšetřované ve 20. týdnu věku pocházely ze čtyř různých chovů. V chovech UCH-1, RCHN-1 a RCHN-3 nebylo v době odběru kuřic zjištěno klinické onemocnění. Procento viremických kuřat z vyšetřovaných se v našich souborech pohybovalo od 20 do 50 % a průměrný titr virémie u pozitivních kuřic od 3,8 do 13,1 PFU/10⁷ leukocytů. Poslední vyšetřovaný chov (RCHM-5) byl v době odběru kuřic postižen akutní Markovou nemocí. Z 11 odebraných kuřic uhynuly během převozu čtyři kusy a u všech byly zjištěny viscerální lymfoidní nádory. U zbývajících sedmi kuřic nebyla ani v jednom případě zjištěna postvakcinační virémie a u jedné kuřice byly po zabití nalezeny lymfoidní nádory ve viscerálních orgánech.

Ani u jedné kuřice z vyšetřovaných souborů nebyly detekovány postvakcinační protilátky, ale ve všech případech byly zjišťovány postinfekční protilátky proti VMN (v rozmezí od 20,0 do 71,0 %).

Výsledky získané při studiu dynamiky postvakcinační virémie u ku-

I. Virémie HVT u kuřat z rozmnožovacích chovů ve třetím a dvacátém týdnu věku — Viraemia of HVT in the chickens of multiplier flocks in the third and twentieth week of age

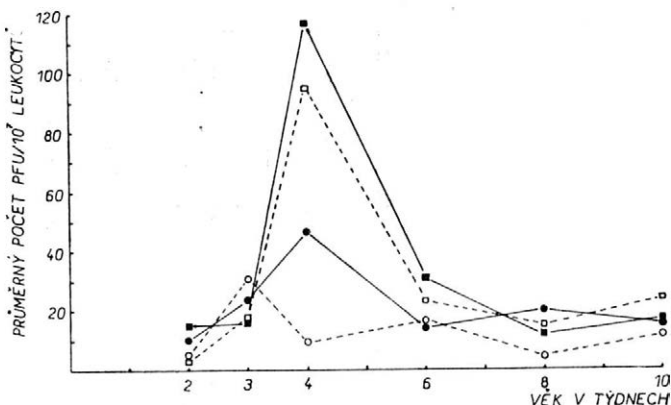
Věk kuřat (týden)	Chov	Vakcína	Dávka PFU/kuře	Hybrid	Protilátky ¹⁾		Virémie (%)		Ø PFU/10 ⁷ leukocytů u viremických kuřat (min. a max. hodnoty)	
					HVT	VMN				
3.	RCHN-1	MARVAK	100	HX-SL	0/10 ²⁾	0/10	5/10	(50,0)	7,6	(3,5—16,9)
					4/16	0/16	10/16	(62,5)	14,5	(1,4—62,5)
					0/16	0/16	9/16	(56,2)	9,7	(1,9—44,3)
					2/16	1/16	10/16	(62,5)	9,6	(1,8—47,1)
					0/16	0/16	11/16	(68,8)	12,8	(3,6—29,7)
					1/33	4/33	23/33	(69,7)	10,1	(1,0—31,6)
	RCHN-2	MARVAK	400	HX-SL	0/ 5	0/ 5	4/ 5	(80,0)	31,5	(6,0—83,0)
					9/14	0/14	8/14	(57,1)	3,2	(0,9— 5,9)
					NT	NT	14/20	(70,0)	8,8	(0,8—25,9)
	RCHN-1	MARVAK	1000	HX-SL	NT	NT	17/20	(85,0)	2,6	(0,4—10,2)
					NT	NT	5/ 5	(100,0)	24,2	(7,1—46,9)
					NT	NT	5/20	(35,0)	2,2	(1,3— 6,4)
	RCHM-1	MARVAK	100	Ross	0/20	0/20	7/20	(35,0)	2,2	(1,3— 6,4)
	RCHM-2	MARVAK	100	Ross	0/20	0/20	8/20	(40,0)	5,5	(3,9— 8,2)
	RCHM-3	MARVAK	100	Ross	4/20	0/20	14/20	(70,0)	9,2	(1,5—27,3)
	RCHM-4	CVI988	?	Hybro	0/20	8/20	7/20	(35,0)	4,3	(2,0—11,0)
20.	UCH-1	MARVAK	100	HX-SL	0/10	4/10	5/10	(50,0)	13,1	(2,1—25,5)
	RCHN-1	NDR	1000	HX-SL	0/10	3/10	2/10	(20,0)	3,8	(2,6— 5,1)
	RCHN-3	CVI988	?	Hisex	0/10	2/10	5/10	(50,0)	4,3	(1,6— 9,4)
	RCHM-5	NDR	1000	Ross	0/ 7	5/ 7	0/ 7	—	—	—

¹⁾ U kuřat testovaných v třetím týdnu věku jsou uvedeny mateřské pasivní protilátky; u kuřic testovaných ve 20. týdnu věku pak aktivní postinfekční a postvakcinační protilátky

²⁾ Počet pozitivních/počet vyšetřovaných kuřat

NT = netestováno; HVT = krůtí herpetický virus; VMN = virus Markovy nemoci; RCHN = rozmnožovací chov nosný; RCHM = rozmnožovací chov masný; UCH = užitkový chov nosnic

1. Dynamika postvakcinační virémie u kuřat HX-SL a Shaver po aplikaci vakcíny MARVAK — The pattern of post-vaccination viraemia in the HX-SL and Shaver chickens after the application of the MARVAK vaccine



kuřat HX-SL a Shaver po aplikaci vakcíny MARVAK v doporučené a desítkrát vyšší dávce jsou shrnuty v tab. II a znázorněny na obr. 1.

Precipitační pasivní protilátky u dvoudenních kuřat byly zjištěny u kuřat HX-SL u 85 % proti HVT a u 5 % proti VMN z 20 vyšetřovaných. U kuřat Shaver byly protilátky proti HVT zjištěny u 60 % a proti VMN u 30 % z 20 vyšetřovaných.

U kuřat HX-SL vakcinovaných vakcínou MARVAK v doporučené dávce (1. skupina) byla 100% reaktivita vyšetřovaných kuřat zaznamenána pouze v šestém týdnu po vakcinaci; v ostatních obdobích se procento viremických kuřat z vyšetřovaných pohybovalo od 40 do 80 %. Ve druhé a čtvrté skupině byla všechna kuřata trvale viremická od třetího týdne po vakcinaci, ve třetí skupině již od druhého týdne po vakcinaci.

Maximální titry postvakcinační virémie byly pozorovány u první skupiny ve třetím týdnu po vakcinaci (31,5 PFU/10⁷ leukocytů), u ostatních skupin o týden později (47,0, 94,9 a 116,8 PFU/10⁷ leukocytů). Potom titry virémie postupně klesaly ve všech skupinách (obr. 1).

Precipitační postvakcinační protilátky byly poprvé detekovány v osmém týdnu po vakcinaci u kuřat HX-SL (1. a 2. skupina) u dvou kusů z pěti vyšetřovaných a u kuřat Shaver (4. skupina) u čtyř kusů z pěti vyšetřovaných. V desátém týdnu po vakcinaci byly postvakcinační protilátky prokázány pouze u jednoho kuřete ze čtyř vyšetřovaných ve čtvrté skupině; u ostatních skupin nebyly detekovány.

DISKUSE

Stupeň chráněnosti kuřat po vakcinaci krůtím herpetickým virem (HVT) je v úzké korelaci se vznikem a výší virémie (Okazaki aj., 1972; Patrascu aj., 1972; Churchill aj., 1973; Riddell aj., 1978 a jiní).

Vzhledem k výskytu nedostatečné chráněnosti kuřat proti MN v některých našich vakcinovaných chovech jsme provedli průzkum stavu postvakcinační virémie ve třech rozmnožovacích chovech nosných (RCHN), v pěti rozmnožovacích chovech masných (RCHM) a v jednom užitkovém chovu nosnic (UCH). Kritériem imunity byly výskyt a průměrné titry virémie u výběrových souborů kuřat vyšetřovaných ve třech a ve dvaceti týdnech věku.

II. Dynamika virémie u kuřat HX-SL a Shaver po vakcinaci vakcínou MARVAK v prvním dnu života — Viraemia pattern in the HX-SL and Shaver chickens after application of the MARVAK vaccine on the first day of life

Skupina kuřat	Hybrid	Dávka vakcíny (PFU)	Virémie u kuřat (věk v týdnech)												
			2.		3.		4.		6.		8.		10.		
1.	HX-SL	1 (100)	2/5 ¹⁾	5,3 ²⁾	4/5	31,5	4/5	9,5	4/4	16,6	4/5	4,7	4/5	11,6	
2.		10 (1000)	4/5	10,1	5/5	24,2	5/5	47,0	4/4	14,2	5/5	20,5	5/5	15,5	
3.		Shaver	1 (100)	5/5	2,9	5/5	18,1	5/5	94,9	4/4	23,7	4/4	15,0	5/5	23,8
4.			10 (1000)	4/5	15,1	5/5	17,7	5/5	116,8	4/4	31,1	5/5	12,9	4/4	16,9

¹⁾ Počet pozitivních/počet vyšetřovaných kuřat

²⁾ Ø počet PFU/10⁷ leukocytů u viremických kuřat

Výskyt pasivních mateřských protilátek u dvoudenních kuřat: HX-SL — 85 % HVT a 5 % VMN; Shaver — 60 % HVT a 30 % VMN

V RCHN vakcinovaných vakcínou MARVAK a vyšetřovaných ve třetím týdnu věku se sledované hodnoty virémie pohybovaly na nižší úrovni (64,3 % viremických kuřat a průměrný titr virémie 12 PFU/10⁷ leukocytů), než udává literatura po použití vakcín obsahujících HVT (Calnek a Smith, 1972; Patrascu aj., 1972; Zanella aj., 1973; Zygraich a Huygelen, 1973; Riddell aj., 1978; Witter aj., 1979; Sharma a Burmester, 1982 a jiní). Příčiny tohoto stavu zatím nejsou jasné.

Neutralizační vliv homologních mateřských pasivních protilátek na vznik virémie po aplikaci buněčné vakcíny HVT je považován za nepodstatný (Calnek a Smith, 1972), což potvrzují i výsledky našeho průzkumu. V porovnání s výsledky replikačních schopností vakcinačního titru THV-BIO-I (tab. II) však nelze vyloučit možnost, že nízká úroveň virémie po vakcinaci vakcínou MARVAK mohla být způsobena nesprávnou aplikací vakcíny nebo nedostatky při jejím skladování či transportu (Okazaki aj., 1973; Colwell aj., 1975), což jsme zatím nesledovali.

Čtyřnásobné zvýšení vakcinační dávky vakcíny MARVAK se neprojevalo (57,1 % viremických kuřat) a ani desetkrát vyšší dávka vakcíny výrazněji neovlivnila množství viremických kuřat (80 %) v porovnání s kuřaty vakcinovanými doporučenou dávkou vakcíny MARVAK (64,3 %).

Hodnoty postvakcinační virémie u kuřat z RCHM (48,3 % viremických kuřat a průměrný titr virémie 6,5 PFU/10⁷ leukocytů) se podstatně nelišily od nálezů z RCHN. V RCHM-4 použitá vakcína VCI 988 obsahuje buněčný atenuovaný virus MN, který podle Rispense aj. (1972) má mít imunizační vlastnosti lepší než HVT. To jsme při našem vyšetření nepotvrdili.

Postvakcinační virémie po aplikaci HVT i vakcín z atenuovaného VMN přetrvává dlouhodobě (Calnek, 1982). To potvrzují i naše výsledky získané při vyšetření 20týdenních kuřic z různých chovů a po aplikaci různých vakcín. Jenom počet zjištěných viremických kuřic byl opět nižší (20–50 %), než udává literatura. Např. Riddell aj. (1978) popisují 80 až 90% pozitivitu ve 20. až 30. týdnu věku kuřat po vakcinaci HVT.

Nepřítomnost postvakcinační virémie v RCHM-5, v němž došlo k akutnímu výskytu MN, odpovídá nálezům, podle nichž se v chovech vakcinovaných a postižených MN při vyšetření klinicky nemocné drůbeže zjišťuje nižší počet viremických kuřat v porovnání se zdravou drůbeží téhož chovu (Okazaki aj., 1973; Cho aj., 1976).

Witter aj. (1976) prokázali maximální hodnoty virémie po aplikaci HVT v dávkách od 7 do 70 000 PFU na kuře v rozmezí mezi osmým až patnáctým dnem po vakcinaci. Titry virémie byly vyšší po aplikaci vyšších dávek HVT a u kuřat bez mateřských protilátek proti VMN (94–457 PFU/10⁷ leukocytů) než titry u kuřat s protilátkami (20–99 PFU/10⁷ leukocytů). V porovnání s těmito údaji se vakcinační virus THV-BIO-I replikuje *in vivo* pomaleji a v nižších titrech.

Rozdílná reaktivita kuřat HX-SL a Shaver na aplikaci HVT odpovídá údajům o odlišné vnímavosti kuřat různých genetických linií k infekci HVT (Cho, 1977; Gavora aj., 1977).

Literatura

- CALNEK, B. W.: Marek's disease vaccines. *Dev. biol. Stand.*, 52, 1982, s. 401-405.
- CALNEK, B. W. — SMITH, M. W.: Vaccination against Marek's disease with cell-free turkey herpesvirus: interference by maternal antibody. *Avian Dis.*, 16, 1972, s. 954-957.
- COLWELL, W. M. — SIMMONS, D. G. — HARRIS, J. R. — FULP, T. G. — CARROZZA, H. J. — MAAG, T. A.: Influence of some physical factors on Marek's disease vaccine virus. *Avian Dis.*, 19, 1975, s. 781-790.
- GAVORA, J. S. — GOWE, R. S. — McALLISTER, A. J.: Vaccination against Marek's disease: efficacy of cell-associated and lyophilized herpesvirus of turkeys in nine strains of Leghorns. *Poult. Sci.*, 56, 1977, s. 846-853.
- CHO, B. R.: Studies of turkey herpesvirus viremia in two strains of vaccinated chickens: strain difference and effects of vaccine dose. *Avian Dis.*, 21, 1977, s. 394-401.
- CHO, B. R. — BALCH, R. K. — HILL, R. W.: Marek's disease vaccine breaks: differences in viremia of vaccinated chickens between those with and without Marek's disease. *Avian Dis.*, 20, 1976, s. 496-503.
- CHURCHILL, A. E. — BAXENDALE, W. — CARRINGTON, G.: Viraemia and antibody development in chicks following the administration of turkey herpesvirus. *Veter. Rec.*, 92, 1973, s. 327-334.
- JURAJDA, V.: Problematika specifické imunoprofylaxe u Markovy nemoci drůbeže. *Imunoprofylaxe*, 1982, č. 4, s. 37-44.
- JURAJDA, V. — POSPÍŠIL, Z. — POKORNÁ, B. — SALAJ, J.: Chráněnost kuřat proti Markově nemoci v laboratorních podmínkách po aplikaci čs. vakcíny MARVAK a vakcíny dovážené z NDR. *Veter. Med. (Praha)*, 29, 1984, č. 3, s. 171-180.
- OKAZAKI, W. — PURCHASE, H. G. — BURMESTER, B. R.: Vaccination against Marek's disease: possible causes of failure of herpesvirus of turkeys (strain FC 126) to protect chickens against Marek's disease. *Amer. J. veter. Res.*, 34, 1973, s. 813-817.
- OKAZAKI, W. — PURCHASE, H. G. — GARRIDO, C.: The *in vitro* assay of herpesvirus of turkeys. *Progr. immunobiol. Stand.*, 5, 1972, s. 126-131.
- PATRASCU, I. V. — CALNEK, B. W. — SMITH, M. W.: Vaccination with lyophilized turkey herpesvirus (HVT): minimum infective and protective doses. *Avian Dis.*, 16, 1972, s. 86-93.
- RIDDELL, C. — MILNE, B. S. — BIGGS, P. M.: Herpes virus of turkey vaccine: viraemias in field flocks and in experimental chickens. *Veter. Rec.*, 102, 1978, s. 123-126.
- RISPENS, B. H. — VLOTEN, von H. — MASTENBROEK, N. — MAAS, H. J. L. — SCHAT, K. A.: Control of Marek's disease in the Netherlands. II. Field trials on vaccination with an avirulent strain (CVI 988) of Marek's disease virus. *Avian Dis.*, 16, 1972, s. 126-138.
- SHARMA, J. M. — BURMESTER, B. R.: Resistance to Marek's disease at hatching in chickens vaccinated as embryos with the turkey herpesvirus. *Avian Dis.*, 26, 1982, s. 134-149.
- WITTER, R. L. — LEE, L. F. — BACON, L. D. — SMITH, E. J.: Repression of vaccinal immunity to Marek's disease by infection with reticuloendotheliosis virus. *Infect. and Immun.*, 26, 1979, s. 90-98.
- WITTER, R. L. — SHARMA, J. M. — OFFENBECKER, L.: Turkey herpesvirus infection in chickens: induction of lymphoproliferative lesion and characterization of vaccinal immunity against Marek's disease. *Avian Dis.*, 20, 1976, s. 676-692.
- ZANELLA, A. — GRANELLI, G. — BETTONI, V.: Marek's disease: experimental and field research on the lyophilized HVT vaccine. *Clin. veter.*, 96, 1973, s. 83-92.
- ZYGRAICH, N. — HUYGELEN, C.: Inoculation of one-day-old chicks with different strains of turkey herpesvirus. II. Virus replication in tissues of inoculated animals. *Avian Dis.*, 16, 1972, s. 793-798.

Došlo dne 26. 3. 1984

ЮРАЙДА, В. — САЛАЙ, Ю. — ПОСПИШИЛ, З. (Ветеринарный институт, Брно; Биовета нац. предпр., Нитра; Научно-исследовательский институт ветеринарии, Брно): *Послевакцинационная виремия в восстановительно-племенных стадах яйценоских и мясных типов после вакцинации против болезни Марка у птицы*. Veter. Med. (Praha), 29, 1984 (12) : 719-728.

Положение иммунитета после вакцинации против болезни Маркова (БМ) мы исследовали у трех восстановительно-племенных яйценоских стадах (ВПС), пяти восстановительно-племенных стад мясного типа (ВПСМ) и в одном продуктивном разведении несушек (ПРН). Критерием иммунитета были появление и титры послевакцинационной виремии у выбранных групп цыплят из тех разведений, обрабатываемых в трехнедельном или 20-недельном возрасте. Одновременно мы в лабораторных условиях исследовали динамику послевакцинационной виремии после применения вакцинации Марвак в дозах 100 и 1000 ПФУ на цыпленка у яйценоского гибрида НХ-СЛ и Шавер. У цыплят обработанных в трехнедельном возрасте и происхождением из ВПС вакцинированных рекомендованной дозой вакцины МАРВАК (100 ПФУ на цыпленка) было установлено 64,3 % цыплят виремических, средний титр виремии составлял 12 ПФУ/10⁷ лейкоцитов. После применения четырехкратной вакцины МАРВАК было установлено 57,1 % виремических цыплят, средний титр виремии составлял 3,2 ПФУ/10⁷ лейкоцитов. После применения десятикратной дозы вакцины МАРВАК 80 % цыплят было виремических и средний титр виремии составлял 8 ПФУ/10⁷ лейкоцитов. В ВПСМ вакцинированных рекомендованной дозой вакцины МАРВАК число виремических цыплят составляло 48,3 %, средний титр виремии — 6,5 ПФУ/10⁷ лейкоцитов. У корочек молодок, обрабатываемых в 20 недельном возрасте число виремных курочек колебалось от 20 до 50 %, средние титры от 3,8 до 13,1 ПФУ/10⁷ лейкоцитов. У стада заболевшего БМ не была установлена послевакцинационная виремия у клинически больных курочек. У цыплят НХ-СЛ вакцинированных рекомендованной дозой вакцины МАРВАК виремия достигла высшей точки на третьей неделе после вакцинации (31,5 ПФУ/10⁷ лейкоцитов) и после применения десятикратной дозы вакцины МАРВАК на неделю позднее (47 ПФУ/10⁷ лейкоцитов). У цыплят Шавер вакцинированных рекомендуемой дозой или десятикратно высшей дозой вакцины МАРВАК послевакцинационная виремия достигла кульминационной точки на четвертой неделе после вакцинации (94,9 и 116,3 ПФУ/10⁷ лейкоцитов). Препrecipитационные послевакцинационные антивещества были впервые детектированы на восьмую неделю после вакцинации.

яйценоский гибрид НХ-СЛ и Шавер; послевакцинационные препrecipитационные антивещества; вакцина МАРВАК; Риемсер Мареквазина; вакцина CVI 988

JURAJDA, V. — SALAJ, J. — POSPÍŠIL, Z. (University of Veterinary Medicine, Brno; Biověta, n. corp. Nitra; Veterinary Research Institute, Brno): *Post-Vaccination Viraemia in the Multiplier Flocks of Broiler and Layer Fowl after Vaccination against Marek's Disease*. Veter. Med. (Praha), 29, 1984 (12) : 719-728.

The immunity state after vaccination against Marek's disease (MD) was studied in three multiplier flocks of laying fowl (MFL), five multiplier flocks of broiler fowl (MFB), and one commercial layer flock (CLF). The occurrence and average titres of post-vaccination viraemia in the selected sets of chickens from these flocks, examined at the age of three or twenty weeks, were used as the immunity criterion. The development of post-vaccination viraemia, following the administration of the MARVAK vaccine at the doses of 100 and 1000 PFU per bird in the HX-SL and Shaver layer hybrids, was examined under laboratory conditions at the same time. In the group of birds examined in the third week of age and coming from the MFL vaccinated with the recommended MARVAK vaccine (dose 100 PFU per bird), 64.3 % of the chicks were viraemic, the average viraemia titre being 12 PFU/10⁷ leucocytes. After the administration of a four-fold vaccine dose, 57.1 % of the chicks were viraemic, the average titre being 3.2 PFU/10⁷ leucocytes. After the administration of a ten-fold dose of MARVAK vaccine, 80 % of the chicks were viraemic and the average titre of viraemia was 8 PFU/10⁷ leucocytes. In the MFB vaccinated with the recommended dose of the MARVAK vaccine, the percentage of viraemic chickens was 48.3 % and the average titre of viraemia was 6.5 PFU/10⁷ leucocytes. In the pullets examined at the age of 20 weeks the number of viraemic birds ranged from 20 to 50 % and the average viraemia titres were from 3.8 to 13.1 PFU/10⁷ leucocytes. In the flock affected by acute MD, no post-vaccination viraemia was found in the clinically diseased pullets. In the chickens of the HX-SL line vaccinated with the recommended MARVAK vaccine dose,

viraemia culminated in the third week after vaccination (31.5 PFU/10⁷ leucocytes), and after the use of the dose ten times as high as the recommended one the culmination came a week later (47 PFU/10⁷ leucocytes). In the Shaver chicks vaccinated with the recommended dose or with the ten-fold dose of the MARVAK vaccine, the post-vaccination viraemia culminated in the fourth week after vaccination (94.9 and 116.8 PFU/10⁷ leucocytes). The post-vaccination precipitation antibodies were first detected in the eighth week after vaccination.

HX-SL and Shaver layer hybrids; post-vaccination precipitation antibodies; MARVAK vaccine; Riemser Marekvakzine; CVI 988 vaccine

Adresy autorů:

MVDr. Vladimír Jurajda, CSc., Vysoká škola veterinární, Palackého 1-3, 612 42 Brno

MVDr. Juraj Salaj, Bioveta, n. p., 949 91 Nitra

MVDr. Zdeněk Pospíšil, CSc., Výzkumný ústav veterinárního lékařství, Hudcova 70, 621 32 Brno

DYNAMIKA BÍLÉHO KREVNIHO OBRAZU V PRŮBĚHU DLOUHODOBÉ VÝCVIKOVÉ ZÁTĚŽE U PSA

J. Konrád, M. Cupák, J. Hrušovský, S. Husák

KONRÁD, J. — CUPÁK, M. — HRUŠOVSKÝ, J. — HUSÁK, S. (Vysoká škola veterinární, Brno; Vojenský veterinární doškolovací a výzkumný ústav, Košice): *Dynamika bílého krevního obrazu v průběhu dlouhodobé výcvikové zátěže u psa*. Veter. Med. (Praha), 29, 1984 (12) : 729-737.

U 30 klinicky zdravých psů dvou věkových kategorií jsme studovali vliv dlouhodobé výcvikové zátěže na dynamiku jednotlivých složek bílého krevního obrazu. Bílý krevní obraz je charakterizován řadou změn — leukocytózou, elevací neutrofilních granulocytů, depresí lymfocytů a eozinofilních granulocytů. Tyto změny jsou rozdílné podle věku psů. Lze je považovat za projevy myogenní reakce při fyzické zátěži i stresových stavech a za projevy postupně se uplatňujícího adaptačního procesu v průběhu výcviku. Výsledky lze zařadit do komplexních testů vědeckého řízení výcviku psa.

leukocytóza; elevace neutrofilních granulocytů; deprese lymfocytů; deprese eozinofilních granulocytů

V předchozím sdělení jsme podali výsledky studia dlouhodobé fyzické a psychické zátěže při výcviku psů na jednotlivé složky jejich červeného krevního obrazu (Konrád aj., 1984). Naše další studie se zabývá obdobnou problematikou ve vztahu k bílé krevní složce, a má tak kompletovat vliv výcvikové zátěže na celkovou hemopoézu pro využití realizačních výsledků v kynologii.

Literární údaje zaměřené na červený a bílý krevní obraz psů se netýkají přímého ovlivnění pracovním zatížením, ale vlivu fyzické zátěže v průběhu transportu, při němž se předpokládá i zátěž psychická.

U psů přepravovaných na vzdálenost 300 km na nákladním automobilu prokázali Dobšínská a Lehký (1973) za 12 hodin a za 8 až 15 dní po transportu určitý posun v počtu leukocytů i v leukogramu. Při prvním odběru se projevila určitá leukopenie, nesignifikantní vzestup neutrofilů a relativní i absolutní deprese lymfocytů. Osmý den byl zaznamenán zvýšený počet leukocytů, při třetím odběru byl počet neutrofilů nejvyšší a relativní i absolutní počet lymfocytů nejnižší. Současně signifikantně stoupl počet eozinofilů a naopak poklesl relativní počet monocytů.

Podobné výsledky zaznamenala Pokorná (1972) u beagů, u nichž sledovala změny v bílém krevním obraze bezprostředně po transportu a potom ještě v dalších šesti odběrech v různém intervalu mezi 2. až 28. dnem. Po skončení přesunu bylo u leukocytů zjišťováno jen nevýrazné kolísání, po 15. dnu mírné zvýšení. Neutrofilní tyčky

vykazovaly v prvním odběru signifikantní vzestup z 54,1 % na 70,9 %, druhý a pátý den již pokles blízko k výchozím hodnotám s dalším vzestupem po 15 dnech a pak návrat k normě. Deprese lymfocytů až o 50 % byla zjištěna druhý den, potom již následoval návrat ke klidovým hodnotám.

U koní je uváděna tzv. pracovní leukocytóza, která je závislá na intenzitě práce [Verter aj., 1966; Dušek, 1973]. U trénovaných koní se cituje i klidová lymfocytóza (tréninková parasympatikotonie). Leukocytóza s neutrofilii a relativní lymfopenií a eozinopenií je přímo závislá na intenzitě zátěže.

Také u lidí je známa pracovní leukocytóza závislá na intenzitě práce. U trénovaných osob se leukocyty zvyšují méně než u netrénovaných a leukocytóza je uváděna jako měřítko zatížení organismu [Horský a Záhla, 1959].

MATERIÁL A METODY

Do sledování bylo zařazeno celkem 30 psů, u nichž bylo v průběhu výcviku trvajících 130 dnů uskutečněno osm odběrů krevních vzorků. První odběr se konal před zahájením výcviku, další odběry po 14 dnech (2. odběr), 30 dnech (3. odběr), 38 dnech (4. odběr), 51 dnu (5. odběr), 71 dnu (6. odběr), 93 dnech (7. odběr) a 120 dnech (8. odběr).

Hodnoty počtu leukocytů jsou zpracovány za celé toto období, rozpočet bílých krvinek (leukogram) za období 51 dnů trvání výcviku, tj. včetně pátého odběru krevních vzorků.

Charakteristika fyzické zátěže v průběhu výcviku i další údaje o pracovním postupu jsou zcela obdobné jako u vyhodnocení červeného krevního obrazu při fyzické a psychické zátěži vyvolané dlouhodobým výcvikem psů [Konrád aj., 1984].

VÝSLEDKY

Hodnocení výsledků dlouhodobého vlivu výcvikové zátěže na bílý krevní obraz u psa poskytuje důležité poznatky, významné pro fyziologii výcviku psa.

LEUKOCYTY

Počty bílých krvinek vykazují významný nárůst od začátku výcviku s vrcholem ve 30. dnu. Toto statisticky vysoce významné zvýšení trvá až do 38. dne, kdy je střídáno poklesem, bez statistické průkaznosti vůči výchozí hodnotě. Tento pokles je vystřídán dalším vzestupem, který však nedosahuje prvního vrcholu elevace. U psů starší věkové kategorie není toto zvýšení statisticky průkazné (tab. I, obr. 1).

NEUTROFILNÍ SEGMENTY

Vzestup neutrofilních segmentů je patrný v průběhu výcviku až do 51. dne a představuje jednovrcholovou křivku s maximem ve 30 dnech výcviku. Zvláště nápadná je tato elevační křivka u psů věkové kategorie do dvou let (tab. I, obr. 2).

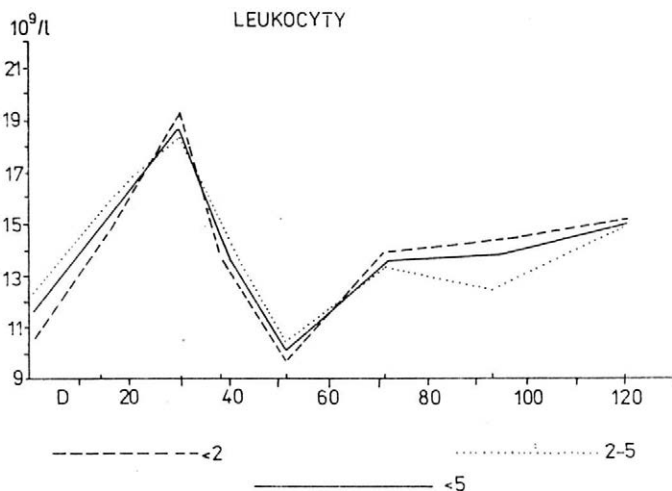
I. Výsledné hodnoty jednotlivých složek bílého krevního obrazu při dlouhodobém psychickém a fyzickém zatížení psů tréninkem — Resultant values of the components of white blood picture at a long-term psychical and physical load of training in dogs (Praha), 29, 1984, s. 659-668.

Odběr	$\bar{x}$	1. <i>s</i>	<i>P</i>	$\bar{x}$	2. <i>s</i>	<i>P</i>	$\bar{x}$	3. <i>s</i>	<i>P</i>	$\bar{x}$	4. <i>s</i>	<i>P</i>	$\bar{x}$	5. <i>s</i>	<i>P</i>
Lcs. 10 ⁹ /l (tis./mm ³)															
G < 2	10,70	2,28	—	14,26	2,39	0,01	19,34	6,28	0,01	13,70	2,49	0,05	9,60	1,99	0
G 2—5	12,46	3,33	—	15,54	2,93	0,01	18,43	4,10	0,01	14,92	4,40	0	10,53	4,61	0
G < 5	11,96	3,13	—	15,20	2,81	0,01	18,67	4,68	0,01	14,59	3,98	0,01	10,14	4,26	0
Odběr	$\bar{x}$	6. <i>s</i>	<i>P</i>	$\bar{x}$	7. <i>s</i>	<i>P</i>	$\bar{x}$	8. <i>s</i>	<i>P</i>						
G < 2	13,88	2,22	0,05	14,42	1,57	0,01	15,57	5,33	0,05						
G 2—5	13,32	3,44	0	14,25	3,23	0	14,84	4,64	0						
G < 5	13,40	3,18	0	14,28	2,85	0,01	14,97	4,71	0,01						
Odběr	$\bar{x}$	1. <i>s</i>	<i>P</i>	$\bar{x}$	2. <i>s</i>	<i>P</i>	$\bar{x}$	3. <i>s</i>	<i>P</i>	$\bar{x}$	4. <i>s</i>	<i>P</i>	$\bar{x}$	5. <i>s</i>	<i>P</i>
Neutrofilní segmenty %															
G < 2	56,87	6,53	—	56,62	8,63	0	67,75	11,08	0,05	64,59	11,67	0	60,85	8,19	0
G 2—5	57,00	10,57	—	61,59	12,33	0	65,36	8,52	0,01	64,90	13,97	0,05	58,13	8,60	0
G < 5	56,96	9,51	—	60,60	11,43	0	66,00	9,13	0,01	64,70	12,93	0,05	58,79	8,44	0
Neutrofilní tyčky %															
G < 2	1,25	1,28	—	0,00	0,00	0,05	1,75	1,38	0	0,37	0,51	0	0,00	0,00	0,05
G 2—5	0,90	1,44	—	0,22	0,42	0,05	1,72	1,66	0	0,50	0,74	0	0,72	1,24	0
G < 5	1,07	1,28	—	0,11	0,00	0,05	1,73	1,42	0	0,43	0,42	0	0,36	1,22	0

Pokračování tab. I

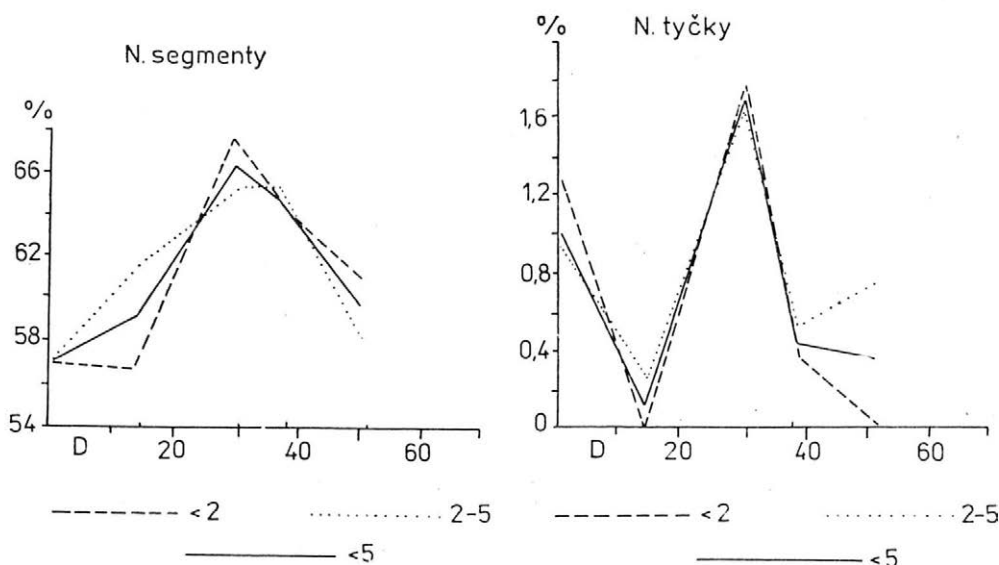
Odběr	$\bar{x}$	1. <i>s</i>	<i>P</i>	$\bar{x}$	2. <i>s</i>	<i>P</i>	$\bar{x}$	3. <i>s</i>	<i>P</i>	$\bar{x}$	4. <i>s</i>	<i>P</i>	$\bar{x}$	5. <i>s</i>	<i>P</i>
Eozinofily %															
G < 2	12,62	8,08	—	11,00	7,59	0	6,45	4,33	0	10,50	6,14	0	8,42	4,61	0
G 2—5	14,45	7,70	—	11,95	7,19	0	8,86	6,88	0,05	10,81	8,98	0	14,63	10,44	0
G < 5	13,53	3,84	—	11,47	6,95	0	8,31	5,42	0	10,65	8,15	0	13,60	9,51	0
Bazofily %															
G < 2	0,00	0,00	—	0,00	0,00	0	0,00	0,00	0	0,00	0,00	0	0,00	0,00	0
G 2—5	0,25	0,63	—	0,09	0,42	0	0,04	0,21	0	0,18	0,39	0	0,22	0,61	0
G < 5	0,12		—	0,05			0,02			0,09			0,11		
Lymfocyty %															
G < 2	27,00	10,21	—	29,00	6,56	0	22,37	11,22	0	22,87	13,09	0	28,71	9,56	0
G 2—5	27,47	8,20	—	24,72	8,99	0	22,40	6,54	0,05	21,22	12,31	0	23,77	7,86	0
G < 5	27,48	8,61	—	25,86	8,52	0	22,38	7,82	0,05	21,40	12,30	0,05	24,96	8,40	0
Monocyty %															
G < 2	1,62	1,18	—	2,12	2,69	0	1,37	1,68	0	2,37	2,82	0	1,00	1,41	0
G 2—5	1,50	1,50	—	2,50	6,30	0	1,50	2,15	0	1,95	1,91	0	2,22	2,72	0
G < 5	1,56	1,22	—	2,33	1,90	0	1,43	2,09	0	2,15	1,91	0	1,61	2,36	0

1. Dynamika počtu leukocytů — The changes in leucocyte number



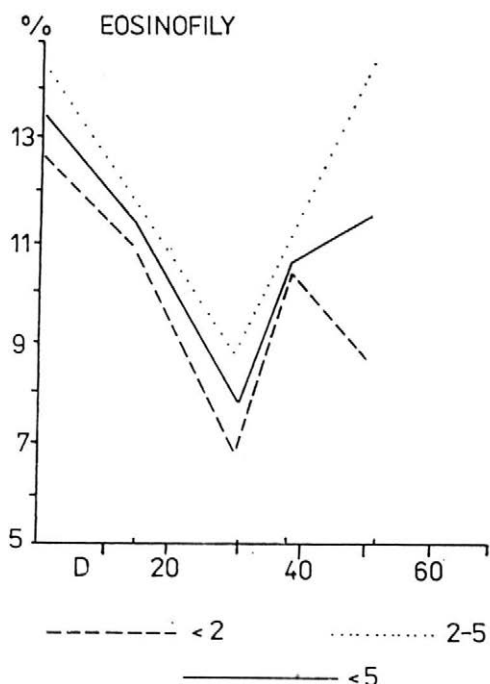
NEUTROFILNÍ TYČKY

Výsledky šetření prokazují u obou věkových skupin v prvních 14 dnech výcviku nápadný pokles neutrofilních granulocytů s tyčkovitým jádrem, který je pak sledován jejich vzestupem s maximem ve 30. dnu. V tomto období nastupuje opět pokles, který po 38 dnech u mladých psů trvá, zatímco u starších se blíží k výchozí hodnotě. Statisticky průkazný je pokles pouze v první a poslední fázi u mladých psů. Vzestup hodnot ve 30. dnu není statisticky průkazný (tab. I, obr. 3).

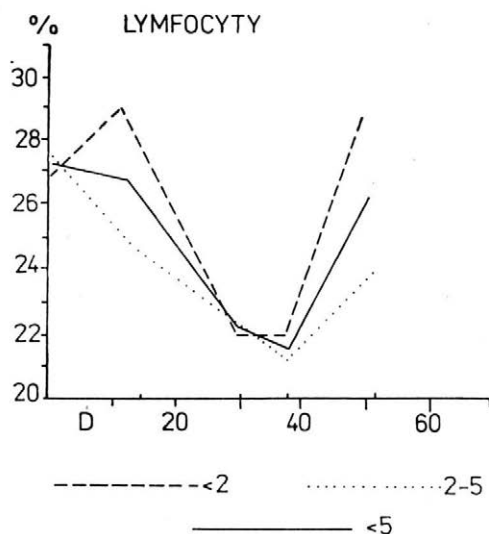


2. Hodnoty neutrofilních segmentů — The values of neutrophil segments

3. Hodnoty neutrofilních tyček — The values of neutrophil rods



4. Hodnoty eozinofilních granulocytů — The values of eosinophil granulocytes



5. Dynamika počtu lymfocytů — The changes in the number of lymphocytes

EOZINOFILNÍ GRANULOCYTY

U eozinofilů se jednoznačně projevuje v obou věkových kategoriích prudký pokles, vrcholící ve 30. dnu výcviku. Je však průkazný pouze u starších psů. Potom se počet eozinofilů opět zvyšuje až ke zlomu ve 38. dnu, kdy u mladých psů dochází znovu k neprůkaznému poklesu a u psů starších k vzestupu až k výchozím hodnotám (tab. I, obr. 4).

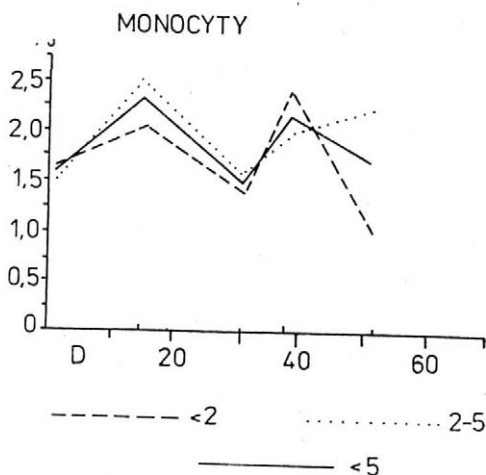
BAZOFILNÍ GRANULOCYTY

Bazofilní granulocyty nedosáhly u sledovaných skupin psů takových počtů výskytu, aby je bylo možné zpracovat graficky. Ani jejich tabulkové uspořádání neumožňuje statistické vyhodnocení (tab. I).

LYMFOCYTY

Lymfocyty vykazují počáteční odchylky rozdílné podle věkových skupin. U mladších psů je zjišťován mírný, statisticky neprůkazný vzestup z počátečních 27 % na 29 %, pak dochází k prudkému poklesu až na 21,87 %. Naproti tomu u starších psů klesá počet lymfocytů již od začátku výcviku bez jakékoliv předchozí lymfocytózy. Od 38. dne výcviku se potom počet lymfocytů zvyšuje u obou skupin, nápadněji u mladších psů (tab. I, obr. 5).

6. Dynamika počtu monocytů — The changes in the number of monocytes



MONOCYTY

Podobně jako u počtu bazofilních granulocytů, také u monocytů jsou počty nízké (kolem 2 %). I když z obr. 6 jsou patrné dva vrcholy nad výchozí hodnoty (14. a 38. den), nejedná se ani v jednom případě o změny statisticky průkazné (tab. I).

DISKUSE

Fyzická i psychická zátěž dlouhodobého výcviku vyvolává u cvičných psů různé změny v bílém krevním obraze, které se do značné míry shodují s poznatky o podobné zátěži u lidí a koní. V počtu leukocytů sledovaných až po dobu 120 dnů výcviku zjišťujeme nápadný vzestup s vrcholem ke 30. dni, tedy na začátku fyzické zátěže i psychického stresu psů. Tento vzestup je znám i u sportovců. Počáteční vysoký vzestup, tzv. „pracovní leukocytóza“, je zdůvodňován drážděním sympatiku a vyplavováním leukocytů ze sleziny, lymfatických uzlin, dalších orgánů RES a kostní dřeně [Seliger aj., 1966]. Mezi další vyvolávající podněty lze počítat i kyselé meziprodukty svalové činnosti, které se zde uplatňují toxicky, podobně jako je tomu při infekčních chorobách.

Nápadný pokles leukocytů až pod výchozí hodnotu 50. den výcviku není objektivně zdůvodněn. V červeném krevním obraze s ním plně korelují nejnížší hodnoty barevné koncentrace erytrocytu — MCHC [Konrád aj., 1984]. U koní je deprese leukocytů dávana kromě jiného do souvislosti s chronickou únavou a přetrénováním [Hanák, 1982]. Další mírná leukocytóza je hodnocena jako odpověď na svalovou zátěž po nástupu adaptace organismu. To je plně ve shodě s poznatky u netrénovaných lidí, u nichž je leukocytóza výraznější než u osob trénovaných.

Také u jednotlivých druhů bílých krvinek je patrná shoda s výsledky sportovního lékařství. Neutrofilní segmenty se zvyšují, u kategorie do dvou let věku dosahují až 67,7 %. Pokles lymfocytů společně s neutrofilii trvající až do 40. dne výcviku je v souladu s poznatkem, že kterým dospěl Dušek (1973) při zkoumání intenzivní až submaximální zátěže u koní. V souladu s depresí lymfocytů klesá i počet eozino-

filů jako důsledek fyzického stresu, při němž se uplatňuje zvýšená hladina kortikosteroidů a katecholaminů (Schalm a Hughes, 1979). Podobné změny jsou pozorovány i u sportovců při vytrvalostních výkonech střední intenzity (Seliger aj., 1966).

Nápadný pokles eozinofilních granulocytů v první fázi výcviku (do 30 dnů) je možné považovat za reakci organismu na stresovou fyzickou i psychickou zátěž. Nastupující vyrovnávání eozinofilů u psů starší věkové kategorie (2—5 let) považujeme již za projev stabilizace funkce nadledvinek. Nevyrovnaný průběh eozinofilní křivky u psů ve věku do dvou let je možné vysvětlit větší labilitou fyzicky i psychicky nevyzrálých jedinců. Kolem 40. dne výcviku je patrné postupné vyrovnávání předchozích úchylek v leukogramu a návrat k normě. Tento stav lze charakterizovat jako adaptaci na fyzickou a psychickou zátěž během výcviku.

Výsledky získané na úseku sledování vlivu dlouhodobé výcvikové zátěže na bílý krevní obraz u psa a dynamiku jeho změn dávají možnosti (i v souladu s obdobnými výsledky ve sportovním lékařství) využít jich jako testů pro sledování vlivu fyzické a psychické zátěže a postupu adaptačního procesu v průběhu nastupující stabilizace organismu při výcviku.

Literatura

DOBŠINSKÁ, E. — LEHKÝ, F.: Vliv transportu jako stresového faktoru na krevní obraz psa — německého ovčáka. *Veter. Med. (Praha)*, 18, 1973, s. 499-506.

DUŠEK, J.: Veränderungen im Differentialbild der Leukozyten bei Pferden durch Arbeit. *Arch. exp. Veter. Med.*, 5, 1973, s. 729-739.

HANÁK, J.: Základy diagnostiky u koní z aspektu sportovní veterinární medicíny. Praha, TURF, SSM 1982.

HORSKÝ, J. — ZÁHLAVA, I.: Dynamika změn krevního obrazu při sportovním výkonu. *Tělových. Sbor.*, 4, 1959, s. 321.

KONRÁD, J. — CUPÁK, M. — HRUŠOVSKÝ, J. — HUSÁK, S.: Vliv dlouhodobé fyzické a psychické výcvikové zátěže na červený krevní obraz psa. *Veter. Med. (Praha)*, 29, 1984, s. 659-668.

POKORNÁ, D.: Vliv transportu na krevní obraz laboratorních zvířat. [Disertační práce.] Praha 1972. — Univerzita Karlova. Fakulta přírodovědecká.

SELIGER, V. a kol.: Přehled fyziologie tělesných cvičení. Praha, Stát. zdravot. nakl. 1966.

SCHALM, O. W. — HUGHES, I. P.: Physiologie leucocytosis. *Calif. Veter.*, 18, 1964, s. 30-32.

VERTER, V. — MIX, B. — MÜLLER, J.: Die Veränderungen der Zellwerte und einigen biochemischen Daten des Blutes bei Sportpferden im Schritt, Trap und Galopp. *Arch. exp. Veter. Med.*, 20, 1966, s. 417-426.

Došlo dne 14. 5. 1984

КОНРАД, Я. — ЦУПАК, М. — ГРУШОВСКИ, Й. — ГУСАК, С. (Ветеринарный институт, Брно; Военный ветеринарный научно-исследовательский институт по повышению знаний, Кошице): Динамика белой картины крови в течение долго продолжающейся загрузки при дрессировке у собаки. *Veter. Med. (Praha)*, 29, 1984 (12): 729-737.

У 30 клинически здоровых собак двух возрастных категорий мы изучали влияние долго продолжающейся загрузки при дрессировке на динамику отдельных составных белой картины крови у собак. Белая картина крови характеризована рядом изменений лейкоцитоза, подъем нейтрофильных гранулоцитов, депрессия лимфоцитов и эозинифильных гранулоцитов. Эти

изменения различны согласно возрасту собак. Их можно считать проявлением миогенной реакции при физической нагрузке и стрессовых положениях и проявлением постепенно внедряющегося адаптивного процесса в период дрессировки. Результаты можно включить в комплексные тесты научного руководства по дрессировке собаки.

лейкоцитоз; подъем нейтрофильных гранулоцитов, депрессия лимфоцитов; депрессия эозинофильных гранулоцитов

KONRÁD, J. — CUPÁK, M. — HRUŠOVSKÝ, J. — HUSÁK, S. (University of Veterinary Medicine, Brno; Military Veterinary Institute for Post-Gradual Studies and Research, Košice): *The White Blood Cell Pattern in Dogs Subjected to Long-Continued Training*. Veter. Med. (Praha), 29, 1984 (12) : 729-737.

Thirty clinically healthy dogs of two age categories were studied for the effect of long-continued training load upon the pattern of the components of the white blood picture of dogs. There is a number of changes — leucocytosis, elevation of the neutrophil granulocytes, depression of lymphocytes and eosinophil granulocytes. These changes vary with the age of the dogs. They can be considered as manifestations of myogenic reaction under physical load and under stress, and as manifestations of a gradual adaptation in the course of training. The results can be included in the set of tests within the scientific system of dog training.

leucocytosis; elevation of neutrophil granulocytes; depression of lymphocytes; depression of eosinophil granulocytes

Adresy autorů:

Prof. MVDr. Jaroslav Konrád, DrSc., MVDr. Miloš Cupák, MVDr. Stanislav Husák, CSc., Vysoká škola veterinární, Palackého 1-3, 612 42 Brno

Gen. prof. MVDr. Jozef Hrušovský, Vojenský veterinárny doškoľovací a výskumný ústav, Kukučínova 2, 041 15 Košice

Upozorňujeme čtenáře, že v čísle 1/85 časopisu

VETERINÁRNÍ MEDICÍNA

mají být uveřejněny články:

- E. Bekeová, I. Maraček, J. Hajurka, L. Lázár, M. Krajničáková: Vplyv veku, hmotnosti a plemennej príslušnosti jalovic na koncentrácie tyroxínu pri inseminácii
- I. Maraček, V. Hendrichovský, L. Lázár, M. Krajničáková, P. Kubis, A. Jušíková: Biometrické parametre vaječníkov oviec plemena cigája a ich zmeny po podaní cloprostenolu
- Š. Paulík, L. Slanina, M. Poláček: Lyzozým v koľostre a krvnom sére teliat a dojníc
- M. Nevoľe, B. Koudela, D. Lukešová, V. Svobodová: Vývoj sarkocystózy u experimentálne invadovaných teliat
- L. Valíček, B. Šmíd, M. Machatková: Elektronová mikroskopie viru bovinní leukózy (BLV) v buněčné línii fetální jehněčí sleziny (FLS)
- A. Staníková, J. Arendarčík, V. Rajtová: Zmeny neurosekrečnej aktivity v hypotalame oviec po podaní PMSG
- L. Němeček, J. Filla, J. Ruml: Antagonistický účinek naloxonu při analgezii a neuroleptanalgezii u psa

VYBRANÉ BIOCHEMICKÉ UKAZOVATELE U PRVOKA *TETRAHYMENA PYRIFORMIS*

F. Ništiar, J. Hrušovský, J. Mojžiš

NIŠTIAR, F. — HRUŠOVSKÝ, J. — MOJŽIŠ, J. (Vojenský veterinárny do-
škoovací a výskumný ústav, Košice): *Vybrané biochemické ukazovatele u prvo-
ka Tetrahymena pyriformis*. Veter. Med. (Praha), 29, 1984 (12) : 739-746.

Pre skvalitnenie screeningu toxických látok v biologických materiáloch a v bio-
logickom prostredí sme pomocou testovacieho objektu — prvoka *Tetrahymena*
pyriformis — študovali vybrané biochemické ukazovatele: celkové proteíny,
celkové lipidy, glukózu, laktát dehydrogenázu (E.C.1.1.1.27.), gama-glutamyl-
transferázu (E.C.2.3.2.2.), aspartát aminotransferázu (E.C.2.6.1.1.), alanín amino-
transferázu (E.C.2.6.1.2.), acetylcholinesterázu (E.C.3.1.1.7.), butyrylcholinesterá-
zu (E.C.3.1.1.8.), alkalickú fosfatázu (E.C.3.1.3.1.), kyslú fosfatázu (E.C.3.1.3.2.)
a alfaamylázu (E.C.3.2.1.1.). Štúdium sme previedli v dobe rastu populácie
v experimentálnom médiu s minimálnym obsahom živín počas 96 hodín kul-
tívácie. Podľa výsledkov sme zistili, že väčšina enzýmov je najaktívnejšia
v ranej fáze rastu, t. j. v období tesne po lag fáze rastu populácie, keď sa
bunky pripravujú na intenzívne delenie a rast, a počas logaritmickkej fázy
rastu, okrem alkalickej a kyslej fosfatázy, ktoré vykazujú najvyššiu aktivitu
v stacionárnej fáze rastu.

proteíny; lipidy; glukóza; enzýmy

V súčasnom období je pri štúdiu v rôznych oblastiach biologických
vied čoraz väčšia pozornosť venovaná jednoduchým biologickým testo-
vacím objektom (Hill, 1972; Elliott, 1973; Beleňskij a i.,
1977; Goodwin, 1977; Ignatev a Šabliij, 1978; Ništiar
a Ništiarová, 1983; Wolf, 1983). V porovnaní s obvyklými la-
boratórnymi modelmi (myši, krysy, psi, opice a pod.) sú pri použití
jednobunkových organizmov výrazne redukované ekonomické nároky,
problémy homogenity testovacieho súboru i manipulačné problémy.

Takým jednoduchým biologickým testovacím objektom je aj *Tetra-
hymena pyriformis*, ktorá je predmetom aj našich štúdií, najmä v súvis-
losti s využitím tohto prvoka ako indikátora na screening škodlivín
v biologických materiáloch, resp. v biologickom prostredí (Németh,
1972; Carter a Cameron, 1973; Moravcová, 1976; Dive
a Leclerc, 1978; Gaborit a Dive, 1979; Ništiar a i., 1981,
1983). Skúsenosti z našich doterajších prác ukázali, že vzhľadom na
skvalitnenie testovania (screeningu) niektorých toxických látok je po-
trebné prehodnotiť doterajšie poznatky o niektoré biochemické ukazo-
vatele, ktoré by mohli byť využité pri zvýšení senzitivity metodiky, resp.
ktoré by dopomohli k hlbšiemu pochopeniu samotného účinku toxických
látok.

Z uvedených dôvodov sme vo svojej práci sledovali niektoré zá-
kladné biochemické ukazovatele počas rastu populácie prvoka *Tetra-*

hymena pyriformis v axenickom médiu. Do štúdia sme zaradili tieto ukazovatele: celkové proteíny, celkové lipidy, glukózu, laktát dehydrogenázu (LD, E.C.1.1.1.27.), gama-glutamyltransferázu (GGT, E.C.2.3.2.2.), aspartát aminotransferázu (AST, E.C.2.6.1.1.), alanín aminotransferázu (ALT, E.C.2.6.1.2.), acetylcholinesterázu (AChE, E.C.3.1.1.7.), butyrylcholinesterázu (BuChE, E.C.3.1.1.8.), alkalickú fosfatázu (ALP, E.C.3.1.3.1.), kyslú fosfatázu (ACP, E.C.3.1.3.2.) a alfa-amylázu (AMS, E.C.3.2.1.1.).

MATERIÁL A METÓDA

Prvoka *Tetrahymena pyriformis*, kmeň W, sme kultivovali v médiu, ktoré bolo zložené z proteózo-peptónu (0,1 %), kvasničného extraktu (0,02 %) a glukózy (0,02 %). Vzorky populácie sme odoberali na vyšetrenie medzi 16. a 96. hodinou rastu kultúry. Kultivačné médium bolo inokulované cca 10^5 bunkami na 1000 ml média. Pred vyšetrením boli bunky prepierané vo fyziologickom roztoku, aby sa odstránili zvyšky kultivačného média, potom boli resuspendované na pôvodný objem zmesou 0,1 % Tritonu X-100 v 0,05 mol.l⁻¹ Tris-HCl pufre, kde došlo k ich úplnej lýze.

V lyzátach boli celkové proteíny stanovené biuretovou metódou. Celkové lipidy, glukóza, LD, GGT, AST, ALT, ALP, ACP a AMS boli stanovené komerčne vyrábanymi testmi fy Boehringer a Bio-La-testom.

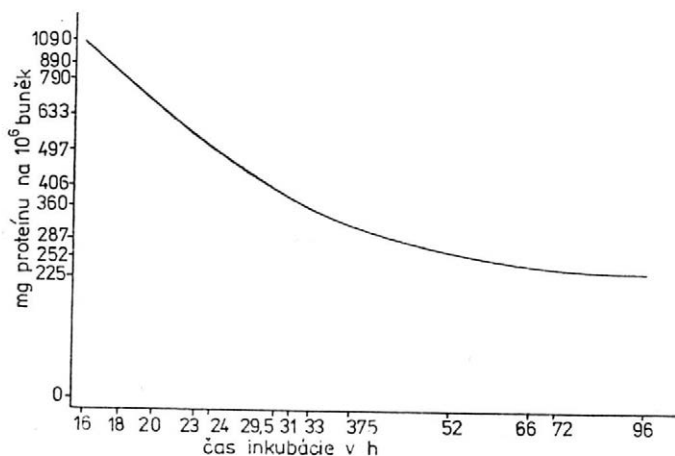
Aktivity AChE a BuChE boli stanovené metódou podľa Tulacha vo vlastnej modifikácii tak, že na lýzu buniek bol použitý roztok 1,0 % Tritonu X-100 v 0,5 mol.l⁻¹ Tris-HCl pufre o pH 7,6. K 0,5 ml uvedeného lyzans bolo pridané 3,5 ml vyšetrovanej kultúry populácie prvoka *Tetrahymena pyriformis*. Ďalší postup bol ako pri Tulachovej metóde, ale pri teplote 25 °C.

Aktivita jednotlivých enzýmov je vyjadrená v nmol.min⁻¹.mg⁻¹ proteínu a 10^6 buniek v ml média. Všetky enzymatické testy boli vykonané pri teplote 25 °C.

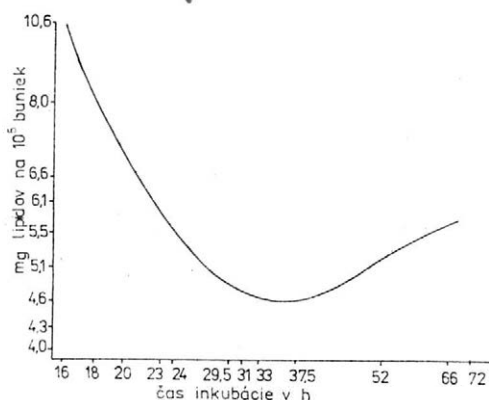
VÝSLEDKY A DISKUSIA

Pri sledovaní celkového proteínu (obr. 1) v populácii TPW sme zistili, že najviac proteínu obsahujú bunky v ranej logaritmickú fáze rastu; množstvo proteínu v bunkách vekom populácie klesá a najnižšie je v stationárnej fáze rastu.

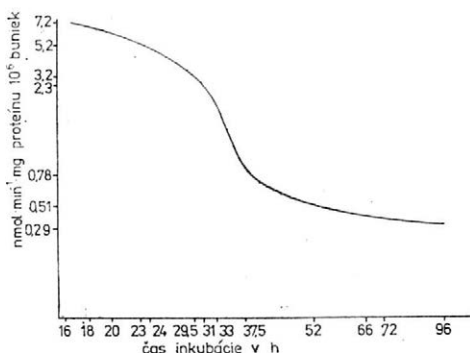
Pri sledovaní celkových lipidov (obr. 2) sme zistili, že v ranej logaritmickú fáze je ich hladina vysoká, potom klesá a najnižšie hodnoty



1. Hladina celkového proteínu počas rastu populácie prvoka *Tetrahymena pyriformis*, kmeň W — The level of total protein during the population growth of the protozoan *Tetrahymena pyriformis*, strain W



2. Hladina celkových lipidov počas rastu populácie prvoka *Tetrahymena pyriformis*, kmeň W — The level of total lipids during the population growth of the protozoan *Tetrahymena pyriformis*, strain W



3. Hladina glukózy počas rastu populácie prvoka *Tetrahymena pyriformis*, kmeň W — The level of glucose during the population growth of the protozoan *Tetrahymena pyriformis*, strain W

boli zaznamenané v období medzi 28. až 40. hodinou, keď je delenie najintenzívnejšie. Na začiatku stacionárnej fázy obsah lipidov v bunkách znovu stúpa.

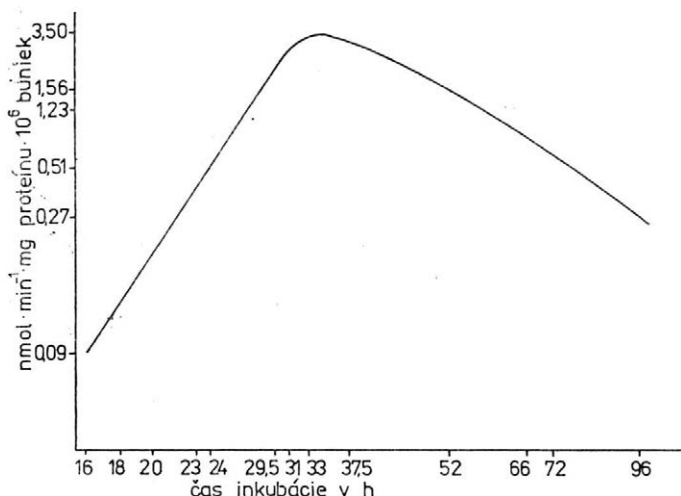
Hladina glukózy (obr. 3) v bunkách je najvyššia na začiatku logaritmického rastu populácie a potom pomaly klesá.

Aktivita LD (obr. 4) na začiatku logaritmického rastu populácie stúpa až do 33. hodiny (3,5 nmol) a potom klesá.

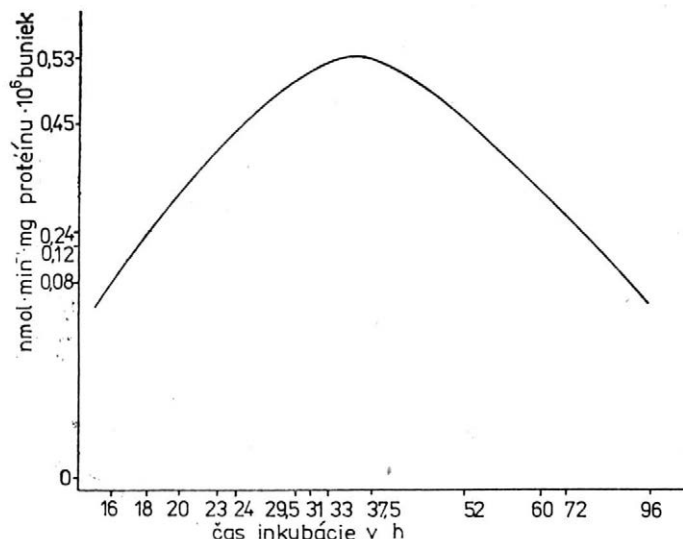
Aktivita GGT (obr. 5) je veľmi nízka. Stúpa do 38. hodiny (0,53 nmol) a potom klesá.

Aktivita AST (obr. 6) stúpa do 24. hodiny (27,2 nmol) a potom klesá.

Aktivita ALT (obr. 7) stúpa do 24. hodiny (38,5 nmol) a na začiatku stacionárnej fázy rastu populácie prudko klesá.



4. Aktivita laktátdehydrogenázy počas rastu populácie prvoka *Tetrahymena pyriformis*, kmeň W — The activity of lactate dehydrogenase during the population growth of the protozoan *Tetrahymena pyriformis*, strain W



5. Aktivita gama-glutamyltransferázy počas rastu populácie prvoka *Tetrahymena pyriformis*, kmeň W — The activity of gamma-glutamyl transferase during the population growth of the protozoan *Tetrahymena pyriformis*, strain W

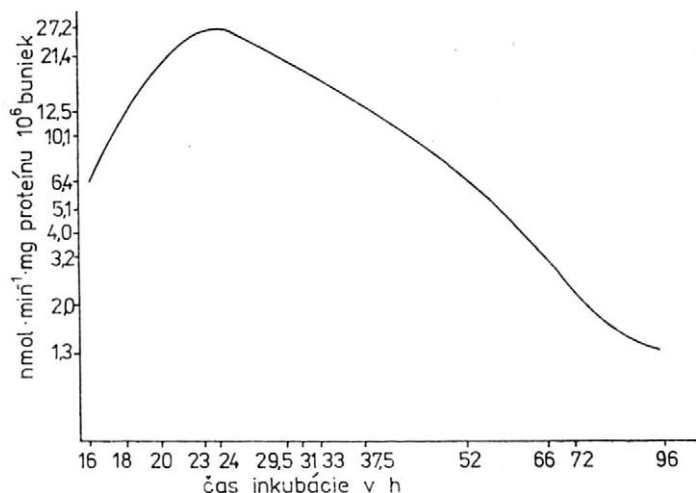
Aktivita AChE (obr. 8) je najvyššia v ranej logaritmickú fáze rastu populácie (34,5 nmol) a potom prudko klesá.

Aktivita BuChE nebola stanoviteľná. Tento poznatok je zhodný s údajmi zo svetovej literatúry (Schuster a Hershenov, 1969), podľa ktorej sa na základe cytochemických metód podarilo dokázať u prvoka *Tetrahymena pyriformis* len acetylcholinesterázu.

Aktivita ALP (obr. 9) stúpa až do 72. hodiny rastu populácie (115,0 nmol), potom len mierne klesá.

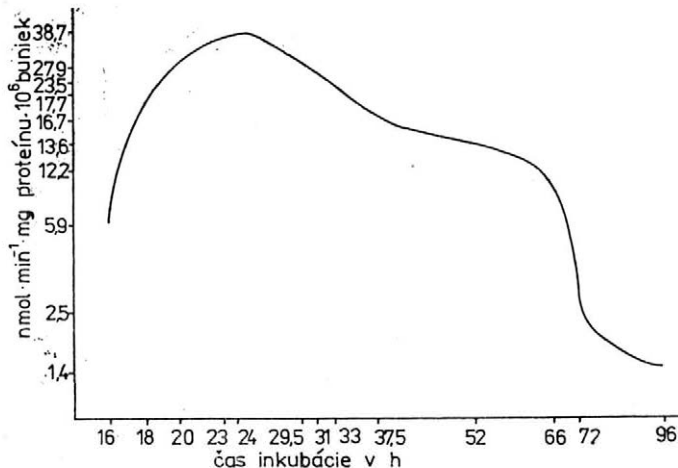
Aktivita ACP (obr. 10) stúpa do 31. hodiny rastu populácie (25,8 nmol), na konci logaritmickú fázy rastu mierne poklesne a potom v stacionárnej fáze znovu stúpa. Táto dynamika je v zhode s výsledkami, ktoré opísali Klammer a Fennel (1963) a Silberstein (1979).

Aktivita AMS (obr. 11) stúpa do 38. hodiny rastu populácie (5,54 nmol), potom klesá.

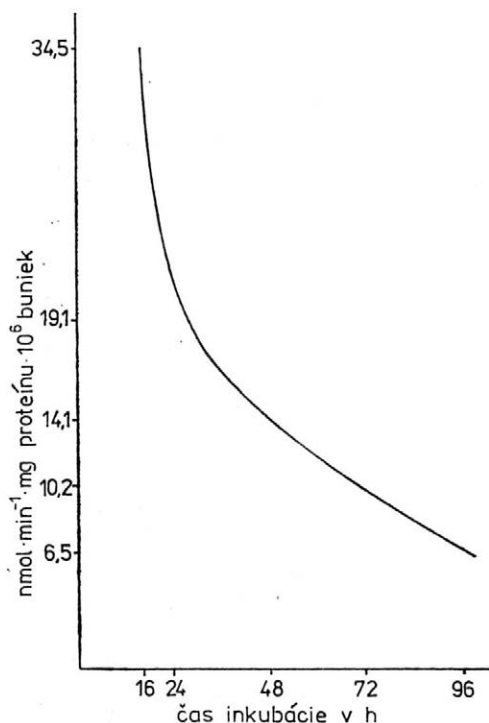


6. Aktivita aspartát aminotransferázy počas rastu populácie prvoka *Tetrahymena pyriformis*, kmeň W — The activity of aspartate amino transferase during the population growth of the protozoan *Tetrahymena pyriformis*, strain W

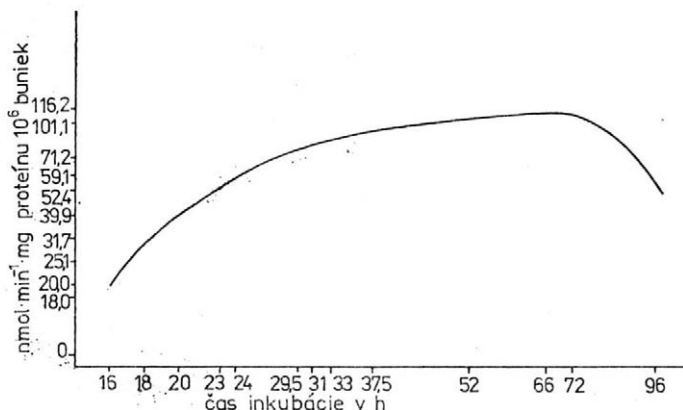
7. Aktivita alanín aminotransferázy počas rastu populácie prvoka *Tetrahymena pyriformis*, kmeň W — The activity of alanine aminotransferase during the population growth of the protozoan *Tetrahymena pyriformis*, strain W

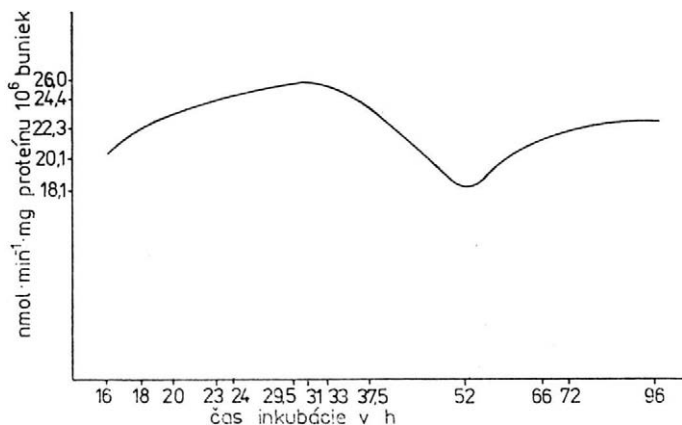


8. Aktivita acetylcholinesterázy počas rastu populácie prvoka *Tetrahymena pyriformis*, kmeň W — The activity of acetyl cholinesterase during the population growth of the protozoan *Tetrahymena pyriformis*, strain W

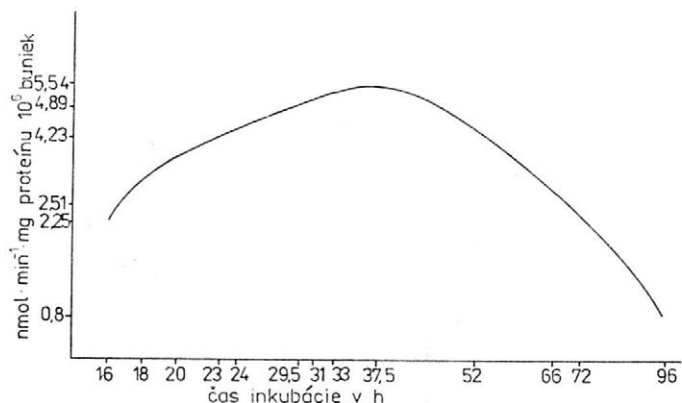


9. Aktivita alkalickéj fosfatázy počas rastu populácie prvoka *Tetrahymena pyriformis*, kmeň W — The activity of alkaline phosphatase during the population growth of the protozoan *Tetrahymena pyriformis*, strain W





10. Aktivita kyslej fosfatázy počas rastu populácie prvoka *Tetrahymena pyriformis*, kmeň W — The activity of acid phosphatase during the population growth of the protozoan *Tetrahymena pyriformis*, strain W



11. Aktivita alfa-amylázy počas rastu populácie prvoka *Tetrahymena pyriformis*, kmeň W — The activity of alpha-amylase during the population growth of the protozoan *Tetrahymena pyriformis*, strain W

Na základe uvedených výsledkov má väčšina enzýmov najvyššiu aktivitu v ranej logaritmickú fáze rastu populácie, keď sa bunky pripravujú na intenzívne delenie a rast v logaritmickú fázu. Výnimku tvoria alkalická a kyslá fosfatáza, ktoré vykazujú vyššiu aktivitu v stacionárnej fáze rastu populácie.

Tieto údaje sú vhodným doplnkom pre ďalšie štúdium účinku rôznych toxických látok na TPW, resp. na zvýšenie senzitivity biotestov toxicity so stanovením inhibície niektorého zo sledovaných enzýmov, ako napr. inhibície AChE organofosfátmi a karbamátmi. Ukazuje sa, že využitie stanovenia LD₅₀, LD₁₀₀ a 50% inhibície určitého kľúčového enzýmu umožní skvalitniť kvantitatívny screening toxických látok v rámci biotestu s prvkom *Tetrahymena pyriformis*.

Zoznam použitých skratiek

LD	— laktátdehydrogenáza
GGT	— gama-glutamyltransferáza
AST	— aspartát aminotransferáza
ALT	— alanín aminotransferáza
AChE	— acetylcholinesteráza
BuChE	— butyrylcholinesteráza
ALP	— alkalická fosfatáza
ACP	— kyslá fosfatáza
AMS	— alfa-amyláza
TPW	— <i>Tetrahymena pyriformis</i> kmeň W

Literatúra

- BELEŇSKIJ, N. G. — IGNATEV, A. D. — ŠABLIJ, V. Y. — ISAJEV, M. K. — NELJUBIN, V. P. — BOJKOV, Y. I. — CHARATJAN, S. G. — DOLGOV, V. A.: Metodičeskije rekomendacii po biologičeskoj ocenke produktov životnovodstva i kormov s ispolzovaniem test-organizma *Tetrachimena piriformis*. Moskva, VASCHNIL 1977, s. 1-15.
- CARTER, J. W. — CAMERON, I. L.: Toxicity bioassay of heavy metals in water using *Tetrahymena pyriformis*. Wat. Res., 7, 1973, s. 951-961.
- DIVE, D. G. — LECLERC, H.: A variability test for bioassay of toxicants with protozoa. J. Protozool., 25, 1978, s. 51A.
- ELLIOT, A. M. (ed.): The biology of *Tetrahymena*. Stroudsburg PA, Dowden, Hutchinson and Ross Inc., 1973, 338 s.
- GABORIT, J. M. — DIVE, D. G.: Synchronous *Tetrahymena* as a toxicological tool. A preliminary report. J. Protozool., 26, 1979, s. 60A-61A.
- GOODWIN, L. G.: *Tetrahymena pyriformis* as a laboratory animal. Protozoology, 3, 1977, s. 11-16.
- HILL, D. L.: The biochemistry and physiology of *Tetrahymena*. New York, Academic Press 1972. 230 s.
- IGNATEV, A. D. — ŠABLIJ, V. Y.: Ispolzovaniye infuzoriji *Tetrachimeny piriformis* kak test-objekta pri biologičeskich issledovaniyach v sel'skom chozjajstve. Moskva, VASCHNIL 1978, s. 1-52.
- KLAMER, B. — FENNEL, R. A.: Acid phosphatase activity during growth and synchronous division of *Tetrahymena pyriformis* W. Exp. Cell Res., 29, 1963, s. 166-175.
- MORAVCOVÁ, V.: Axenic culture of *Tetrahymena pyriformis* as toxicological tool. Acta hydrochim. hydrobiol., 4, 1976, s. 83-94.
- NÉMETH, G.: The use of protozoa as test organisms for studies of toxic effects of human serum from schizophrenic patients. Acta protozool., 9, 1972, s. 363-372.
- NIŠTIAR, F. — HRUŠOVSKÝ, J. — BENEŠ, J.: Využitie prvoka *Tetrahymena pyriformis* pre testovanie kontaminácie biologických materiálov organofosfátmi a karbamátmi. Veter. Med. (Praha), 26, 1981, s. 695-700.
- NIŠTIAR, F. — HRUŠOVSKÝ, J. — MOJŽIŠ, J. — BENEŠ, J.: Vplyv ultrafialového žiarenia na prvoka *Tetrahymena pyriformis*. Veter. Med. (Praha), 28, 1983, s. 443-448.
- NIŠTIAR, F. — NIŠTIAROVÁ, A.: Využitie jednobunkových organizmov ako test-objektov v biológii a medicíne. In: Sbor. Fyzika, medicína a biologie, JČCMF. Praha, 1983, s. 26-40.
- SCHUSTER, F. L. — HERSHENOV, B.: Ultrastructural localization of cholinesterase in the pellicle of *Tetrahymena pyriformis* W. Exp. Cell Res., 55, 1969, s. 385-392.
- SILBERSTEIN, G. B.: Acid hydrolases and their release in food vacuole-less mutants of *Tetrahymena thermophila*. J. Protozool., 26, 1979, s. 519-524.
- WOLF, A.: Ozařování poživatin. In: ROSIVAL, L. — SZOKOLAY, A. (eds.): Cudzo-rodé látky v poživatinách. Martin, Osveta 1983, s. 314-353.

Došlo dňa 26. 6. 1984

НИШТИАР, Ф. — ГРУШОВСКИ, Й. — МОЙЖИШ, Я. (Военный ветеринарный научно-исследовательский институт по повышению знаний, Кошице): Выбранные биохимические показатели у протиста *Tetrahymena pyriformis*. Veter. Med. (Praha), 29, 1984 (12): 739-746.

Для улучшения сепарации токсических веществ в биологических материалах и в среде, мы при помощи объекта тестирования — протиста *Tetrahymena pyriformis* — изучали выбранные биохимические показатели: всего протеинов, всего липидов, глюкозу, лактат дегидрогеназа (Е.С.1.1.1.27.), гамма-глутамилтрансфераза (Е.С.2.3.2.2.), аспаргат аминотрансферазы (Е.С.2.6.1.1.), аланин аминотрансфераза (Е.С.2.6.1.2.), ацетилхолинестераза (Е.С.3.1.1.7.), бутирилхолинестераза (Е.С.3.1.1.8.), щелочная фосфатаза (Е.С.3.1.3.1.), кислая фосфатаза (Е.С.3.1.3.2.) и альфаамилаза (Е.С.3.2.1.1.). Изучение мы провели в период

роста популяции в экспериментальной среде с минимальным содержанием питательных веществ в течение 96 часов культивации. На основе результатов мы установили, что большинство ферментов наиболее активно в ранней логаритмической фазе роста, т. е. в период сразу после лог фазы роста популяции, когда клетки готовятся к интенсивному разделению и рост, и в период логаритмической фазы роста, кроме щелочной и кислой фосфатазы, у которой самая высокая активность в стационарной фазе роста популяции.

протеины; липиды; глюкоза; ферменты

NIŠTIAR, F. — HRUŠOVSKÝ, J. — MOJŽIŠ, J. (Military Veterinary Institute for Post-Gradual Studies and Research, Košice): *Selected Biochemical Parameters Studied in the Tetrahymena pyriformis Protozoan*. Veter. Med. (Praha), 29, 1984 (12) : 739-746.

Aiming at an improvement of the screening of toxic substances in biological materials and environment, the following biochemical indices were studied by means of the *Tetrahymena pyriformis* as a testing object: total protein, total lipids, glucose, lactate dehydrogenase (E.C.1.1.1.27.), gamma-glutamyl transferase (E.C.2.3.2.2.), aspartate aminotransferase (E.C.2.6.1.1.), alanine aminotransferase (E.C.2.6.1.2.), acetyl cholinesterase (E.C.3.1.1.7.), butyryl cholinesterase (E.C.3.1.1.8.), alkaline phosphatase (E.C.3.1.3.1.), acid phosphatase (E.C.3.1.3.2.) and alpha-amylase (E.C.3.2.1.1.). The study was conducted in the period of the population growth in an experimental medium with the minimum content of nutrients within the 96 hours of cultivation. It has been derived from the results that most of the enzymes are at the top of their activity in the early logarithmic stage of growth, i. e. in the period immediately following the log stage of population growth when the cells are getting ready for intensive division and growth; another peak activity period is the logarithmic growth stage — alkaline phosphatase and acid phosphatase are an exception with the culmination of activity in the stationary stage of population growth.

proteins; lipids; glucose; enzymes

Adresa autorov:

MVDr. František Ništiar, CSc., prof. MVDr. Jozef Hrušovský, DrSc., MVDr. Ján Mojžiš, Vojenský veterinárny doškoľovací a výskumný ústav, Kukučínova 2, 041 15 Košice

BOTULISMUS VODNÍCH PTÁKŮ NA RYBNÍKU STARÝ U POHOŘELIC (OKRES BŘECLAV)

Z. Hubálek, K. Hudec, M. Neubauer, J. Pellantová

HUBÁLEK, Z. — HUDEC, K. — NEUBAUER, M. — PELLANTOVÁ, J. (Ústav pro výzkum obratlovců ČSAV, Brno; Okresní hygienická stanice, Havlíčkův Brod): *Botulismus vodních ptáků na rybníku Starý u Pohořelic (okres Břeclav)*. Veter. Med. (Praha), 29, 1984 (12) : 747-752.

V letech 1981 a 1982, kdy došlo k hromadnému úhynu divokých i domácích vodních ptáků na rybníku Starý, bylo vyšetřeno 11 nemocných nebo čerstvě uhynulých ptáků neutralizačním testem na botulotoxin a čtyři vzorky bahna na přítomnost *Clostridium botulinum*. Toxin *C. botulinum* typu C byl detekován u čtyř kachen divokých (*Anas platyrhynchos*) ze září 1981 a července 1982 a jednoho racka (*Larus ridibundus*) z července 1982. Nejvyšší zjištěné titry (myši i. p. LD₅₀/g) botulotoxinu u kachen byly 10^{6.3} ve střevním obsahu, 10^{6.1} v jaterní tkáni a 10^{5.1} v žaludečním obsahu. U jedné kachny bylo detekováno vedle typu C také menší množství botulotoxinu typu A. Proto lze doporučit kompletní sérotypizaci u případů botulismu vodních ptáků. Ze čtyř vzorků bahna sbíraného v září 1982 byl jeden vzorek negativní, zatímco ve třech vzorcích byl po pomnožení prokázán botulotoxin C a izolován jeden kmen *C. botulinum* typu C.

Clostridium botulinum typ C; kachna divoká — *Anas platyrhynchos*; racek — *Larus ridibundus*; toxin *Clostridium botulinum*

Od roku 1972 se na mnoha jihomoravských rybnících a nádržích vyskytuje s proměnlivou intenzitou téměř každoročně (převážně koncem léta) masové hynutí volně žijících vodních ptáků, někdy postihující i zde chovanou vodní drůbež (Macháček, 1973, 1977; Hájek, 1977; Hudec, 1983; Hudec a Pellantová, 1984). Příčiny této mortality zůstávaly neobjasněny do roku 1981, kdy byl poprvé v ČSSR laboratorně diagnostikován botulismus typu C u divokých ptáků — z rybníka Starý u Pohořelic (Hubálek aj., 1982). V tomto příspěvku podrobněji popisujeme průkaz botulotoxinu u ptáků spolu s výsledkem kultivačního vyšetření bahna uvedené lokality.

MATERIÁL A METODY

POPIS LOKALITY

Rybník Starý je jedním ze tří rybníků soustavy u Pohořelic, obnovené v letech 1948—1951 v nížině Dyjsko-Svrateckého úvalu, v nadmořské výšce 178 m. Jeho rozloha je 130,7 ha, průměrná hloubka 1,5 m. V letech 1952—1953 byly vyhrnuty porosty z mělké části rybníka a bylo vytvořeno devět sádkových rybníčků, oddělených hrázkami. Na jejich okraji, směrem do hlavního rybníka, byla v roce 1964 zřízena kachní farma s oploceným výběhem, v roce 1980 v jejím sousedství druhá. V nich se chovají každoročně od března do září v několika zástavech domácí kachny, v počtu šest až osm tisíc kusů na jeden zástav. Hlavní rybník je produkční, určený pro chov tržních ryb, především kapra (*Cyprinus carpio*). V roce 1981 bylo do rybníka nasazeno 148 000 kusů K2 (148 q), v roce 1982 174 000 ex. K2 (172 q); mimo kapra se vysazuje v menším množství lín (*Tinca tinca*), štika (*Esox lucius*),

sumec (*Silurus glanis*), amur (*Ctenopharyngodon idella*), tolstolobik bílý (*Hypophthalmichthys molitrix*) a tolstolobik pestrý (*Aristichthys nobilis*). Rybník byl naposledy letněn v roce 1958, od té doby je bez vody pouze krátce při výlovu (loví se na podzim každý druhý rok) nebo při mimořádných okolnostech. Rybník se hnojí vápencem (1981: 300 q; 1982: 0), vápnem (50 — 316 q), chlévskou mrvou (1000 — 1100 q), močůvkou (1900 — 2000 hl), močovinou (105 — 70 q), kejdou (0 — 1600 hl). Ryby se krmí krmnou směsí pro kapra (77 — 22,5 q) a zrninami (1233 — 3520 q). Voda se čerpá z tzv. Mlýnského náhonu z řeky Jihlavy. Průměrná teplota vody, měřená na sousedním rybníku Vrkoč, byla mezi 6. 6. až 23. 9. 1981 20,3 °C (15,0 — 27,0 °C), mezi 27. 8. až 29. 9. 1982 20,4 °C (16,7 — 24,0 °C). Mimořádné znečištění vody v rybníce ani v přítoku nebylo zjištěno, chemismus vody je kontrolován nepravidelně. Hodnoty pH se v obou letech pohybovaly v rozmezí od 7,5 do 9,8. Majitelem rybníka je Státní rybářství, oborový podnik, odstěpný závod Pohorelice.

ODBĚR A PŘÍPRAVA VZORKŮ

Nemocným ptákům byla odebírána krev z lokétní žíly, u čerstvě uhynulých byly k vyšetření brány vzorky krevního koagula ze srdce, jaterní tkáně, obsahu žaludku a obsahu střev (tenkého, slepého i tlustého). Krevní sérum (nebo plazma) bylo do testů použito nativní, z ostatních vzorků byly připraveny ve třecích miskách přibližně 20% suspenze ve fosfátovém fyziologickém roztoku pH 7,4 s antibiotiky (penicilin 500 j./ml, streptomycin 500 µg/ml) a ponechány 2 hodiny ve tmě při teplotě 20 °C. Supernatant po odstředění 15 m/3000 g za chladu byl použit k průkazu toxinu a uchováván při teplotě -20 °C.

Čtyři vzorky černého, těžkého, zapáchajícího bahna byly odebrány na rybníku Starý 29. 9. 1982, každý o objemu 1 dm³, z plochy 1 až 5 m². Vzorky č. 1 a 3 byly odebrány ve výběžích domácích kachen, vzdálených od sebe asi 600 m, v místech se silnou navážkou šterku a větších kamenů, pod níž byla vrstva písku; bahno bylo usazeno ve slabé vrstvě mezi kameny. Vzorek č. 2 byl odebrán v severovýchodní části hlavního rybníka a vzorek č. 4 v jednom ze sádkových rybníků, v obou případech v místech, kde břeh klesá příkře do vody; zde byla silná vrstva bahna, výška vodního sloupce byla asi 30 cm. Vzorky byly umístěny do plastických sáček a laboratorně zpracovány přibližně po 24 hodinách při teplotě 20 °C v zásadě podle metody, kterou uveřejnili Smith a Morysonová (1975). 50 g každého promíseného vzorku bylo řádně suspendováno v 50 ml fosfátového pufru pH 7 ve sterilní lahvičce se širokým hrdlem. Po 15 minutách stání bylo 30 ml dekantátu odstředěno (30 min./1200 g), sediment byl resuspendován ve 4 ml bujónu a z něho bylo inokulováno po 1 ml do čtyř čerstvě regenerovaných bujónů (10 ml) pro anaerobní kultivaci (Holdeman aj., 1977), z nichž dva byly po inokulaci zahřáty (60 min./70 °C), a všechny čtyři potom inkubovány sedm až osm dní při teplotě 30 °C. Kultury byly pak odstředěny (30 min./1200 g), sediment byl použit ke kultivačnímu průkazu *C. botulinum* a supernatant po přidání antibiotik (penicilin 400 j./ml, kanamycin 400 µg/ml) k detekci toxinu po uchovávání při teplotě +4 °C.

PRŮKAZ TOXINU

Suspenze vzorků z ptáků a sterilní supernatanty anaerobních bujónových kultur ze vzorků bahna byly intraperitoneálně (i. p.) inokulovány po 0,5 ml čtyřtýdenním až pětiletým SPF myším (Velaz Praha) o průměrné hmotnosti 20 (18—25) g. Pokud došlo k úhynu zvířat do pěti dní p. i. (botulotoxin ovšem usmrcuje myši do 24—48 hodin, v menších koncentracích výjimečně do 72—96 hodin p. i.), byl proveden toxin-neutralizační test (TNT): ve zkumavkách byly smíchány vždy čtyři objemové díly vyšetřovaného vzorku (krevní sérum či plazma; suspenze orgánů; supernatanty bujónových kultur z bahna) s jedním dílem koňského botulinického antitoxického séra (Imuna, Šarišské Michaľany) buď polyvalentního (typu A, B, C, D a E po 20 j./ml), jednotlivých monovalentních (po 100 j./ml), nebo 100% normálního koňského séra (Bioveta Ivanovice) ve fyziologickém roztoku. Tyto směsi byly inkubovány 30 až 45 minut při teplotě 20 °C ve tmě a očkovány i. p. myším po 0,6 ml. Současně byly inokulovány dalším myším suspenze orgánů či séra, zahřáté dvě minuty při teplotě 100 °C. U bujónových kultur bahna bylo v kontrole použito 0,5 ml sterilního bujónu a 0,5 ml sterilního bujónu zahřátého 15 minut při teplotě 80 °C. Konečné vyhodnocení letality myši bylo provedeno pět dní p. i.

U některých vzorků ptáků bylo pro malé množství materiálu použito v TNT jen botulinického antiséra polyvalentního, monovalentního typu C, normálního séra

a tepelně inaktivovaného vzorku; ve většině případů byla ovšem provedena úplná serotypizace se všemi monovalentními séry A až E.

Při detekci toxinu ve vzorcích bahna byly myším inokulovány nejprve supernatanty pomnožených bujónových kultur tepelně nezpracovaných; v negativním případě (jestliže zvířata nehynula) byly použity tytéž supernatanty po působení 0,1% trypsinu 30 minut při teplotě 37 °C (Eklund a Polysky, 1972) a supernatanty bujónů před inkubací zahřátých 60 minut při teplotě 70 °C.

KULTIVAČNÍ VYŠETŘENÍ

Sediment bujónové kultury po anaerobní inkubaci vzorků bahna byl velmi řídkce vyočkován na tři tuhá média: krevní agar s cysteinem (0,05%), krevní agar s cykloserinem (400 µg/ml) a neomycinem (100 µg/ml); žloutkový agar (Desfulian aj., 1981) s cykloserinem (250 µg/ml), sulfametoxazolem (80 µg/ml) a trimetoprimem (4 µg/ml). Inkubace probíhala 48 hodin při teplotě 37 °C v anaerostatu a suspektní izoláty byly identifikovány biochemicky (Holdeman aj., 1977). U izolátu *C. botulinum* byly pomocí TNT testovány produkce a typ toxinu v bujónové kultuře po inkubaci pět dnů při teplotě 30 °C a další dva dny při teplotě 22 °C způsobem uvedeným v odstavci o průkazu toxinu.

VÝSLEDKY

PTÁCI

Tab. I ukazuje výsledky vyšetření ptáků na přítomnost botulotoxinu v jejich těle. Jednalo se celkem o 11 jedinců z břehů rybníka Starý, kteří již nebyli schopni létat a na nohou se pohybovali velmi těžce. Botulismus byl spolehlivě prokázán u čtyř kachen (č. 2, 7, 8, 9) a jednoho

I. Detekce botulotoxinu u ptáků na rybníku Starý — Detection of botulotoxin in birds on the Starý pond

Pták č.	Druh ptáka	Datum sběru	Vyšetřené vzorky			
			krev	játra	žaludek	střevo
1	<i>Anas platyrhynchos</i>	10. IX. 81	—	—	—	—
2	<i>Anas platyrhynchos</i>	10. IX. 81	—	C	C	C
3	<i>Anas platyrhynchos</i>	10. IX. 81	+?	—	—	—
4	<i>Aythya fuligula</i>	22. IX. 81	+?	NT	NT	NT
5	<i>Anas platyrhynchos</i>	16. IV. 82	—	—	—	—
6	<i>Anas platyrhynchos</i>	16. IV. 82	—	—	—	—
7	<i>Anas platyrhynchos</i>	14. VII. 82	C	—	—	C
8	<i>Anas platyrhynchos</i>	14. VII. 82	C	C	C	C
9	<i>Anas platyrhynchos</i>	14. VII. 82	C(A)	—	—	—
10	<i>A. platyrhynchos</i> <i>f. domestica</i>	14. VII. 82	—	—	—	—
11	<i>Larus ridibundus</i>	14. VII. 82	—	—	—	C

C — detekován toxin *C. botulinum*, typ C

(A) — detekován toxin *C. botulinum*, typ A (menší koncentrace)

+? — po aplikaci krevní plazmy (séra) bez imunního botulinického séra část myšek uhynula, ale neutralizační test nebylo možné opakovat

— — toxin *C. botulinum* nedetekován

NT — netestováno (pták se uzdravil a byl vypuštěn na svobodu)

racka (č. 11); u dvou dalších kachen (č. 3, 4) byl průkaz nejistý, TNT však nebylo možné opakovat pro nedostatek odebraného materiálu. Prokázané případy byly ze září roku 1981 a července roku 1982, nikoliv z jarního období (duben 1982), a ve všech případech šlo o toxin *C. botulinum* typ C, jen u kachny č. 9 byla detekována také malá příměs typu A.

Vybrané vzorky byly sériovým ředěním titrovány *i. p.* inokulací myším (18 g); přitom byly zjištěny tyto hodnoty LD₅₀/g: pták č. 7: střevo 10^{1,4}; krev > 10^{2,4}; pták č. 8: střevo 10^{6,3}; žaludek 10^{5,1}; játra 10^{6,1}.

Se směsí (*ana partes*) suspenze obsahu střeva a žaludku ptáka č. 8 byl proveden kvantitativní TNT: stejné objemy suspenze byly smíchány buď s botulinickým C-antisérem naředěným na finální koncentraci jedné jednotky na ml, nebo s fyziologickým roztokem s 10 % normálního koňského séra, inkubovány 40 minut při teplotě 20 °C ve tmě a očkovány myším. Titr (LD₅₀/g) směsi s normálním sérem dosáhl 10^{5,57}, zatímco u směsi s imunním sérem zvířata nehynula vůbec (< 10^{1,40}) a byla bez klinických příznaků. Toxin-neutralizační index antiséra C (1 j./ml) byl tedy > 10^{4,17}.

Tatáž suspenze byla naředěna na finálních 100 LD₅₀/0,6 ml a smíchána s jednotlivými monovalentními antiséry s finální koncentrací 1 j./ml. Zatímco antiséra A, B, D a E neutralizaci toxicity suspenze (všechny myši uhynuly tak jako v kontrole) nevykázala, antisérum C způsobilo, že všechny inokulované myši přežily, a dokonce i v ředění 0,1 j./ml ochránilo polovinu zvířat; teprve ředění 0,01 j./ml postrádalo toxin-neutralizační efekt.

BAHNO

Ve třech ze čtyř vzorků bahna byl po pomnožení detekován pomocí TNT botulotoxin C, a tedy i přítomnost *C. botulinum* typu C. V jednom z těchto vzorků bylo toxinogenní *C. botulinum* typu C prokázáno i izolačně: zachytit se podařilo pouze na žloutkovém agaru, na kterém vyrostly kolonie s typickou precipitační zónou a s perleťovým leskem. Kromě toho bylo izolováno i několik nepatogenních druhů rodu *Clostridium*: *C. subterminale*, *C. paraputrificum*, *C. pseudotetanicum* a *C. cochlearium*.

DISKUSE

První zprávy o úhynech vodního ptactva na soustavě pohořelických rybníků (Starý, Vrkoč, Novoveský) jsou z roku 1973, další úhyny byly zaznamenány v letech 1974, 1975, 1976, 1978, 1981 a 1982; konkrétně pak na rybníku Starý v letech 1978, 1981 a 1982. Obraz úhynu v letech 1981 a 1982 se nijak nelišil od úhynů v dřívějších letech (Hudec a Pellantová, 1984). Mezi 5. až 20. červencem 1981 byl hlášen na rybníku Starý úhyn domácích kachen. 25. srpna byl lesním personálem zjištěn silný úhyn volně žijících ptáků. Při vlastní kontrole lokality bylo 10. září nalezeno 12 *Anas platyrhynchos* a jedna *A. acuta* v různém stadiu rozkladu (1 kachna divoká dosud živá); 22. září byly pozorovány nalétající *Fulica atra* (5), *Aythya ferina* (2) a *Aythya fuligula* (1). V roce 1982 bylo 18. března nalezeno deset *A. platyrhynchos*; 28. března dvě a 3. dubna jedna *A. platyrhynchos* a jedna *A. fuligula*; 16. dubna

dvě *A. platyrhynchos* a dvě *A. fuligula*; 18. dubna čtyři *A. fuligula*, jedna *A. platyrhynchos* a jedna *F. atra*. Pak až 3. července byly nalezeny jedna *A. ferina* a jedna *A. platyrhynchos*; 11. července jedna *A. platyrhynchos*, jeden *Larus ridibundus* a asi 14 domácích kachen (u některých z nich byla v SVÚ Brno diagnostikována salmonelóza); 14. července to byly dvě kachny domácí, jeden *L. ridibundus* a osm *A. platyrhynchos*. Později již úhyn nebyl zjištěn ani hlášen. Mrtví a nemocní ptáci byli zjišťováni jen kolem sádek a výběhů domácích kachen; celý rybník nebyl nikdy prohlížen, takže počty uhynulých ptáků byly zřejmě vyšší.

Výsledky vyšetření naznačují, že kromě botulismu se na mortalitě vodního ptactva sledované lokality mohly podílet i jiné noxy, zvláště na jaře nebo začátkem léta. Je ovšem nutné poznamenat, že průkaz botulotoxinu v silně kontaminovaných vzorcích ptáků nebývá vždy snadný a přítomnost menších koncentrací toxinu může v takových případech zůstat nedetekována. Ještě obtížnější bývá samozřejmě izolace (na pevných médiích) *C. botulinum* z těchto vzorků, zejména z bahna; průkaz toxinu v pomnožených bujónových kulturách inokulovaných vzorky bahna je proto považován z mikrobiologického hlediska za rozhodující.

Detekce botulotoxinu typu A připomíná výsledky, které zjistili Köhler aj. (1977) u uhynulých vodních ptáků v NDR. Jak je známo, je tento toxin, na rozdíl od typu C, patogenní i pro savce včetně člověka.

Průkaz *C. botulinum* typu C v bahně ukazuje na možnost dlouhodobé perzistence tohoto přírodního ohniska intoxikace, bereme-li v úvahu neobyčejnou rezistenci spor, které tento mikrob tvoří. ČSSR se řadí k dalším evropským státům (Velká Británie, Švédsko, Dánsko, NDR, NSR, Holandsko, Španělsko, Jugoslávie), ve kterých je botulismus diagnostikován jako závažná příčina často masového úhynu vodních ptáků se značnými ztrátami nejen z hlediska národního hospodářství, ale i z hlediska ochrany životního prostředí a přírody (např. Haagsma aj., 1972; Köhler aj., 1977, Smith, 1978). Naše nálezy je možné doplnit průkazem botulismu typu C jako příčinou hynutí domácích vodní drůbeže (hus), chované na rybnících Novohradska v jižních Čechách (Marjánková, 1981).

Poděkování

Za pomoc při laboratorním zpracování a vyšetření vzorků ptáků děkujeme RNDr. O. Šebestovi a L. Ševčíkové, za připomínky k rukopisu pracovníkům ornitologického oddělení ÚVO ČSAV a akademiku V. Barušovi a za poskytnutí informací o studované lokalitě pracovníkům Státního rybářství.

Literatura

- DESFULIAN, M. — McCROSKEY, L. M. — LATHEWAY, C. L. — DOWELL, U. R.: Selective medium for isolation of *Clostridium botulinum* from human feces. J. clin. Microbiol., 13, 1981, s. 526-531.
- EKLUND, M. W. — POLYSKY, F. T.: Activation of a toxic component of *Clostridium botulinum* type C and D by trypsin. Appl. Microbiol., 24, 1972, s. 108-113.
- HAAGSMA, J. — OVER, H. J. — SMIT, Z. — HOEKSTRA, J.: Botulism in waterfowl in the Netherlands in 1970. Netherl. J. veter. Sci., 5, 1972, s. 12-33.
- HÁJEK, V.: Hromadné hynutí vodních ptáků na jižní Moravě. Zpr. Morav. ornitol. Sdruž., 1977, s. 96-98.
- HOLDEMAN, L. V. — CATO, E. P. — MOORE, W. E. C.: Anaerobe laboratory manual, 4th ed. The V. P. I. and State Univ. Anaerobe Lab., Blacksburg, Virginia (USA), 1977.

HUBÁLEK, Z. — HUDEC, K. — PELLANTOVÁ, J.: Botulism in wild waterfowl in southern Moravia (Czechoslovakia). *Folia parasit.* (Praha), 29, 1982, s. 331-332.
 HUDEC, K.: Úhyny vodního ptactva u nás. *Naši Přír.*, 1983, č. 3, s. 20.
 HUDEC, K. — PELLANTOVÁ, J.: Hromadné úhyny vodního ptactva v ČSSR. *Beitr. Vogelkunde* (v tisku), 1984.
 KÖHLER, B. — FEILER, M. — FRIEDRICHS, F. — BÖTTCHER, E.: Ausbruch von Botulismus bei Wasservögeln. *Mh. Veter.-Med.* (Jena), 32, 1977, s. 178-182.
 MACHÁČEK, P.: Druhové a početní zjištění úhynu vodního ptactva na lokalitě „Nesyt“. *Vertebr. Zpr.*, 1973, č. 1, s. 53-54.
 MACHÁČEK, P.: Úhyn vodního ptactva na jižní Moravě. *Malovaný Kraj* (Břeclav), 13, 1977, č. 2, s. 15-16.
 MARJÁNKOVÁ, K.: Botulismus u hus. *Českoslov. Rybníkářství* (České Budějovice), 1981, s. 13-16.
 SMITH, G. R.: Botulism, waterfowl and mud. *Brit. veter. J.*, 134, 1978, s. 407-411.
 SMITH, G. R. — MORYSON, C. J.: *Clostridium botulinum* in the lakes and waterways of London. *J. Hyg.*, 75, 1975, s. 1-9.

Došlo dne 16. 12. 1983

ГУБАЛЕК, З. — ГУДЕЦ, К. — НЕЙБАУЕР, М. — ПЕЛЛАНТОВА, Й. (Научно-исследовательский институт позвоночных, ЧСАН, Брно; Районная санитарная станция, Гавличкув Брод): Ботулизм водяных птиц на пруду Стары у Погоржелице (район Бржецлав). *Veter. Med.* (Praha), 29, 1984 (12) : 747-752.

В 1981 и 1982 гг., когда на пруду Стары погибло много дикой и домашней водяной птицы, было обследовано 11 больных или свежепогибших птиц при помощи нейтрализационного теста на ботулотоксин и четыре образца тины на наличие *Clostridium botulinum*. Токсин *C. botulinum* типа С был доказан у четырех диких уток (*Anas platyrhynchos*) с сентября 1981 и с июля 1982 г. и у одной чайки (*Larus ridibundus*) с июля 1982 г. Самые высокие титры (мышинный *i. p.* LD₅₀/g) ботулотоксина у уток были в кишках 10^{6.3}, печеночной ткани 10^{6.1} и 10^{5.1} в желудке. У одной утки кроме типа С было обнаружено еще меньшее количество ботулотоксина типа А. Поэтому можно еще рекомендовать полную серотипизацию у случаев ботулизма водяных птиц. Из четырех образцов тины, взятых в сентябре 1982 г., одна проба была негативной, в то время как в трех образцах после размножения был доказан ботулотоксин С и изолирован один штамм *C. botulinum* типа С. *Clostridium botulinum* тип С; дикая утка — *Anas platyrhynchos*; чайка — *Larus ridibundus*; токсин *Clostridium botulinum*

HUBÁLEK, Z. — HUDEC, K. — NEUBAUER, M. — PELLANTOVÁ, J. (Institute of Vertebrate Research, Czechoslovak Academy of Sciences, Brno; District Hygienic Station, Havlíčkův Brod): Botulism in Water Birds on the Starý Pond near Pohorčelice (Břeclav District). *Veter. Med.* (Praha), 29, 1984 (12) : 747-752.

In the years 1981 and 1982 when a mass mortality of wild and domestic water birds was observed on the Starý pond, eleven diseased or just died birds were examined by the neutralization test for botulotoxin and four sludge samples for the presence of *Clostridium botulinum*. *C. botulinum* toxin of C type was detected in four wild ducks (*Anas platyrhynchos*) from September 1981 and July 1982 and in one gull (*Larus ridibundus*) from July 1982. The highest titres (of mice *i. p.* LD₅₀/g) of botulotoxin in duck were 10^{6.3} in the intestinal contents, 10^{6.1} in the liver tissue and 10^{5.1} in the stomach contents. In one duck we detected, besides the C type, a smaller botulotoxin amount of A type. Therefore we can recommend a complete serotyping for the cases of botulism in water birds. Out of four sludge samples collected in September 1982 one sample was negative, whereas in three samples the C botulotoxin was demonstrated after propagation and one *C. botulinum* strain of C type was isolated.

Clostridium botulinum of C type; wild duck — *Anas platyrhynchos*; gull — *Larus ridibundus*; *Clostridium botulinum* toxin

Adresy autorů:

RNDr. Zdeněk Hubálek, CSc., Ústav pro výzkum obratlovců ČSAV, 691 42 Valtice

RNDr. Karel Hudec, CSc., RNDr. Jitka Pellantová, Ústav pro výzkum obratlovců ČSAV, Květná 8, 603 65 Brno

RNDr. PhMr. Miloslav Neubauer, CSc., OÚNZ — mikrobiologické oddělení nemocnice, pavilon 10, 580 01 Havlíčkův Brod

OBSAH

Brouček J., Gajdošík D., Kovalčík K., Brestenský V.: Vplyv dlhodobého obmedzenia pohybu dojníc na biochemické ukazovatele	705
Tremel F., Hejliček K., Soukup M.: Výskyt protilátek proti leptospirám v krevním séru chovných prasnic	713
Jurajda V., Salaj J., Pospíšil Z.: Postvakační virémie v rozmnožovacích chovech nosných a masných po vakcinaci proti Markově nemoci drůbeže	719
Konrád J., Cupák M., Hrušovský J., Husák S.: Dynamika bílého krevního obrazu v průběhu dlouhodobé výcvikové zátěže u psa	729
Ništiar F., Hrušovský J., Mojžiš J.: Vybrané biochemické ukazovatele u prvoka <i>Tetrahymena pyriformis</i>	739
Hubálek Z., Hudec K., Neubauer M., Pellantová J.: Botulismus vodních ptáků na rybníku Starý u Pohořelic (okres Břeclav)	747

СОДЕРЖАНИЕ

Броучек Я., Гайдошик Д., Ковалчик К., Брестенский В.: Влияние длительного ограниченного движения на биохимические показатели у коров	705
Тремел Ф., Гейличек К., Соукуп М.: Появление антител против лептоспир в сыворотке крови племенных свиноматок	713
Юрайда В., Салай Ю., Поспишил З.: Послевакцинная виремия в восстановительно-племенных стадах яйценоских и мясных типов после вакцинации против болезни Марка у птицы	719
Конрад Я., Цупак М., Грушовски Й., Гусак С.: Динамика белой картины крови в течение долго продолжающейся загрузки при дрессировке у собаки	729
Ништиар Ф., Грушовски Й., Мойжиш Я.: Выбранные биохимические показатели у протиста <i>Tetrahymena pyriformis</i>	739
Губалек З., Гудец К., Нейбауер М., Пеллантова Й.: Ботулизм водяных птиц на пруду Стары у Погоржелиц (район Бржецлав)	747

CONTENTS

Brouček J., Gajdošík D., Kovalčík K., Brestenský V.: The Influence of Prolonged Movement Restriction on Biochemical Parameters of Dairy Cows	705
Tremel F., Hejliček K., Soukup M.: The Occurrence of Leptospira Antibodies in the Blood Serum of Breeding Sows	713
Jurajda V., Salaj J., Pospíšil Z.: Post-Vaccination Viraemia in the Multiplier Flocks of Broiler and Layer Fowl after Vaccination against Marek's Disease	719
Konrád J., Cupák M., Hrušovský J., Husák S.: The White Blood Cell Pattern in Dogs Subjected to Long-Continued Training	729
Ništiar F., Hrušovský J., Mojžiš J.: Selected Biochemical Parameters Studied in the <i>Tetrahymena pyriformis</i> Protozoan	739
Hubálek Z., Hudec K., Neubauer M., Pellantová J.: Botulism in Water Birds on the Starý Pond near Pohořelice (Břeclav District)	747

Rukopisy odevzdány k tisku 5. 9. 1984 — Podepsáno k tisku 29. 10. 1984



Rozšiřuje Poštovní novinová služba. Objednávky a předplatné přijímá PNS - ústřední expedice tisku, administrace odborného tisku, Jindřišská ulice 14, 110 00 Praha 1. Lze též objednat u každé pošty i poštovního doručovatele. Objednávky do zahraničí vyřizuje PNS — ústřední expedice tisku, oddělení vývozu tisku, Jindřišská ulice 14, 110 00 Praha 1. Vytiskl MÍR, novinářské závody, n. p., závod 6, tř. Lidových milicí 22, 120 00 Praha 2.