

VĚDECKÝ ČASOPIS



VETERINÁRNÍ MEDICÍNA

8

ROČNÍK 32 (LX)
PRAHA
SRPEN 1987
CENA 10 Kčs
CS ISSN 0590-5214

ČESKOSLOVENSKÁ AKADEMIE ZEMĚDĚLSK.
ÚSTAV VĚDECKOTECHNICKÝCH INFORMACÍ
PRO ZEMĚDĚLSTVÍ

Řídí redakční rada: akademik Otto Jaroslav Vrtiak (předseda), akademik Koloman Boďa, MVDr. Miroslav Dvořák, CSc., prof. MVDr. Ján Elečko, CSc., MVDr. Miloš Halaša, CSc., prof. MVDr. Jozef Hrušovský, DrSc., prof. MVDr. Dagmar Ježková, DrSc., doc. MVDr. Evžen Jurák, 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 Václavíčková

OBSAH

Brouček J., Kovalčík K., Gajdošík D., Brestenský V.: Zmeny biochemických ukazovateľov dojnic vyvolané extrémne nízkymi teplotami	449
Bekeová E., Elečko J., Hendrichovský V., Choma J., Lázár L., Krajničáková M.: Vplyv beta-karoténu na koncentrácie tyroxínu a cholesterolu u telných jalovic pred pôrodom a po pôrode	459
Škollová Z., Goiš M.: Průkaz kmenů <i>Haemophilus pleuropneumoniae</i> koagulačním testem	469
Raszyk J. a kol.: Etiologie a patogenese papulózní dermatitidy výkrmových prasat	479
Rajtová V.: Morfológia a výskyt supraependymových štruktúr v komorovom systéme mozgu oviec	489
Rybníkář A., Schmied J., Strossa J.: Lyofilizace dermatofytů	497
KRÁTKÉ SDĚLENÍ	
Pavlásek I.: Rychlá metoda detekce oocyst kokcií rodu <i>Cryptosporidium</i> u kuřat	509
RECENZE	
Sabo J.: Závadová M. — Anaerobní bakterie a anaerobní infekce	511

СОДЕРЖАНИЕ

Броучек Я., Ковалчик К., Гайдошик Д., Брестенский В.: Изменения биохимических показателей дойных коров, вызванные крайне низкими температурами	449
Бекеова Э., Элеčko Я., Гендриховский В., Хома Я., Лазар Л., Крайничакова М.: Влияние β-каротина на концентрацию тироксина и холестерина у телок до и после родов	459
Школлова Э., Гоиш М.: Доказательство штаммов <i>Haemophilus pleuropneumoniae</i> коагуляционным тестом	469
Расзык Й. и кол.: Этиология и патогенез папулезного дерматита откормочных свиней	479
Райтова В.: Морфология и появление супраэпендимальных структур в камерной системе мозга овец	489
Рыбникарж А., Шмид Й., Стросса Я.: Лиофилизация дерматофитов	497

ZMENY BIOCHEMICKÝCH UKAZOVATEĽOV DOJNÍC VYVOLANÉ EXTRÉMNE NÍZKYMI TEPLOTAMI

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

BROUČEK, J. — KOVALČÍK, K. — GAJDOŠÍK, D. — BRESTENSKÝ, V. (Výskumný ústav živočišnej výroby, Nitra): *Zmeny biochemických ukazovateľov dojníc vyvolané extrémne nízkymi teplotami*. Veter. Med. (Praha), 32, 1987 (8) : 449-458.

Úlohou experimentu bolo zistiť vplyv extrémne nízkych teplôt prostredia na biochemické ukazovatele kráv. Ako pokusný materiál sme použili 21 dojníc. Pokusná skupina ($n = 12$) bola ustajnená voľne v otvorenej nezateplenej maštali a kontrolná skupina ($n = 9$) bola ustajnená v zateplenom objekte. V priebehu zimy boli dve periódy s nízkymi teplotami: od 3. 1. do 21. 1. 1985 bola priemerná minimálna teplota v otvorenej maštali $-12,6^{\circ}\text{C}$ a najnižšie teploty $-19,0^{\circ}\text{C}$; od 8. 2. do 20. 2. 1985 predstavovala priemerná minimálna teplota $-13,1^{\circ}\text{C}$ a najnižšie evidované teploty tiež $-19,0^{\circ}\text{C}$. Na začiatku hypotermickej záťaže sa u kráv pokusnej skupiny zvýšila koncentrácia neesterifikovaných kyselín, celkových bielkovín a znížila sa kalémia. Pri dlhotrvajúcej nízkoteplenej expozícii sa zvýšila cholesterolémia a glykémia. Pri všetkých sledovaniach bola zvýšená aktivita štítnej žľazy.

otvorená nezateplená maštaľ; zateplená maštaľ; hypotermická záťaž; koncentrácia neesterifikovaných kyselín; koncentrácia celkových bielkovín; kalémia; cholesterolémia; glykémia; aktivita štítnej žľazy

Cieľom našej práce bolo zistiť pôsobenie nízkoteplenej expozície na biochemické parametre krvi dojníc. Táto práca je pokračovaním nášho článku o vplyve extrémnych teplôt prostredia na jalovice (Brouček a i., 1987). V obidvoch experimentoch boli zvieratá chované v tých istých objektoch — to znamená zvieratá pokusnej skupiny v nezateplenej maštali pokrytej vlnitým eternitom a sklolaminátom, z jednej strany otvorenej. Pri hypotermii sme u jalovíc zaznamenali významné zvýšenie obsahu neesterifikovaných mastných kyselín a tyroxínu. Potvrdili sme tak poznatky, ktoré opísali Robertshaw (1981), Kriesten (1981) a Groth (1984). Karyia a i. (1985) zistili pri krátkodobom nízkoteplnom strese (šesť hodín pri teplote -10°C) zvýšenie celkových bielkovín, cholesterolu a hematokritu. Podstatné zmeny metabolitov sú evidované pri nástupe chemickej termogenézy (Janský a Hart, 1963). Zvyšuje sa tvorba 3,5-adenosinmonofosfátu, nastáva lipolýza a uvoľňovanie voľných mastných kyselín z depótnych zásob (Horwitz, 1971). Ako uvádza Bianca (1979), tvorba tepla sa zvyšuje už pri teplotách pod 0°C ; Olsen (1969) a Young (1981) túto hranicu posunujú oveľa nižšie.

Termín odberu krvi	Tepelný				
	Otvorený objekt — pokusná				
	7 h	14 h	21 h	7 h	priemer
21. 12. 1984	3,0	5,0	3,5	1	3,1
4. 1. 1985	— 7,5	— 5,5	— 7,0	— 7	— 6,7
15. 1. 1985	— 4,0	— 4,0	— 8,0	— 6	— 5,5
6. 2. 1985	— 3,0	— 1,0	— 2,0	0	— 1,5
15. 2. 1985	— 17,0	— 9,0	— 16,0	— 13	— 13,7
28. 2. 1985	— 3,0	0	— 1,0	— 3	— 1,7

MATERIÁL A METÓDA

Použili sme 21 dojnic, križieniek plemien slovenské strakaté (SS) × čiernostrakaté nížinné (ČN) s 81% podielom čiernostrakatého plemena, ktoré boli rozdelené do pokusnej ($n = 12$) a kontrolnej skupiny ($n = 9$). Všetky krávy pochádzali po jednom býkovi a boli v štvrtom až piatom mesiaci laktácie. Pokusná skupina bola ustajnená voľne v otvorenej nezateplenej maštali s hlbokou podstielkou, kontrolná skupina bola umiestnená v zateplenej objektke. Voda na napájanie bola v pokusnej skupine temperovaná na 15 °C. Experiment sme uskutočnili v období od decembra 1984 do februára 1985. Krv sme odoberali pri extrémne nízkych teplotách (4. 1., 15. 1. a 15. 2. 1985) a v obdobiach miernejších teplôt (21. 12. 1984, 6. 2. 1985 a 28. 2. 1985). V krvi sme stanovovali hematokrit (mikrocentrifúgou TH-12), hemoglobín a glukózu (Bio-La-test). V krvnom sére sme analyzovali obsah celkových bielkovín, cholesterolu, celkových lipidov, močovínového dusíka (Bio-La-testy), koncentráciu neesterifikovaných mastných kyselín (Brenner a Reinhardt, 1976), tyroxín, trijódtyronín a cyklický AMP (RIA-testy), sodík, draslík a vápnik (plamenovou fotometriou).

VÝSLEDKY

TEPLOTNÝ REŽIM

Zimné obdobie 1984—1985 bolo mimoriadne chladné — priemer denných teplôt bol v otvorenej maštali v januári a februári —4,6 °C a —5,5 °C, priemer denných minimálnych teplôt —7,8 °C a —8,2 °C. V zateplenej objektke to bolo v januári a vo februári 2,2 °C a 3,9 °C a priemer denných minimálnych teplôt 0,5 a 1,7 °C. V rámci zimy sa evidovali dve periódy s nízkymi teplotami. V prvej (od 3. 1. do 21. 1. 1985) bola priemerná denná teplota —9,2 °C, priemerná minimálna teplota v otvorenej maštali —12,6 °C a najnižšie teploty boli —19,0 °C. V druhej perióde (od 8. 2. do 20. 2. 1985) bol priemer denných a minimálnych teplôt —10,2 °C a —13,1 °C.

BIOCHEMICKÉ UKAZOVATELE

Počas zimného obdobia sme uskutočnili šesť odberov krvi (tab. I). Odber zo dňa 21. 12. 1984 považujeme za kontrolný. V prvom období s nízkymi teplotami sme krv odoberali dvakrát — 4. 1. a 15. 1. 1985.

peratures within the 24-hour cycle before blood sampling

režim		Zateplený objekt – kontrolná skupina							
skupina									
max	min	7 h	14 h	21 h	7 h	priemer	max	min	
5,0	1	6,5	8,5	8	5	7,0	9	5	
-4,5	-9	0	2,0	2	0	1,0	2	-1	
-4,0	-9	0	2,0	1	2	1,2	2	-1	
0	-4	3,0	6,0	6	5	5,0	7	3	
-9,0	-17	0	2,0	3	2	1,7	4	-2	
1,0	-3	5,0	8,0	8	6	6,7	9	5	

Ďalšie sledovania boli 6. 2. 1985, 15. 2. 1985 (druhé obdobie s nízkymi teplotami) a 28. 2. 1985.

V červenom krvnom obraze (tab. II) sme vplyvom nízkych teplôt zistili len minimálne zmeny, štatisticky nepreukazné. Glykémia reagovala výraznejšie v oboch sledovaných skupinách až po dlhotrvajúcej hypotermickej záťaži. Výrazné vysoko signifikantné zvýšenie oproti kontrolnému odberu 21. 12. 1984 a odberu na začiatku prvej periódy mrazov sme zaznamenali až 15. 1. 1985 ($3,26 \text{ mmol} \cdot \text{l}^{-1}$ v pokusnej skupine a $3,25 \text{ mmol} \cdot \text{l}^{-1}$ v skupine kontrolnej). V ďalšom období nastal pokles a v strede druhého obdobia s nízkymi teplotami sme evidovali opätovné zvýšenie na $3,92 \text{ mmol} \cdot \text{l}^{-1}$ u zvierat z otvorenej maštale a $3,54 \text{ mmol} \cdot \text{l}^{-1}$ u dojníc zo zatepleného objektu, pričom rozdiel medzi skupinami bol preukazný.

Na rozdiel od glukózy reagovala koncentrácia NEMK (tab. II) u zvierat pokusnej skupiny vzostupom už v začiatku pôsobenia nízkych teplôt — $400 \mu\text{mol} \cdot \text{l}^{-1}$ (4. 1. 1985) a táto hodnota sa mierne zvýšila pri druhom odbere v rámci tejto periódy (15. 1. 1985) — $430 \mu\text{mol} \cdot \text{l}^{-1}$. Differencie v týchto odberoch medzi pokusnou a kontrolnou skupinou sú vysoko štatisticky preukazné, podobne ako rozdiely s kľudovým odberom (21. 12. 1984) u kráv z otvorenej maštale. V druhom období nízkych teplôt sa už hladina neesterifikovaných mastných kyselín tak výrazne nezvýšila.

V koncentrácii nebielkovinného dusíka (tab. III) sa medzi skupinami neprejavili výrazné rozdiely. U všetkých sledovaných dojníc sa hladina znížila po dlhšej expozícii nízkych teplôt (15. 1. 1985) a tento trend sa udržal až do konca sledovania. Obsah celkových bielkovín sa zvýšil u zvierat oboch skupín na začiatku hypotermickej záťaže, ale v priebehu 11 dní nastal u zvierat kontrolnej skupiny výraznejší pokles, následkom čoho je diferenciácia medzi skupinami preukazná. V druhej perióde nízkych teplôt (15. 2. 1985) sme opäť evidovali eleváciu u zvierat oboch skupín. Cholesterolémia sa vplyvom hypotermickej expozície výrazne zvyšovala, najmä u zvierat z otvorenej maštale (tab. III).

V natrémii u zvierat chovaných v objekte s extrémne nízkou teplotou sa neprejavili výraznejšie zmeny (tab. IV). U dojníc kontrolnej skupiny bol zaznamenaný výraznejší pokles pri odbere 15. 2. 1985. V obi-

II. Hematologické ukazovatele a koncentrácia glukózy a neesterifikovaných mastných
of glucose and non-esterified fatty acids in the cows under study

Ukazovateľ		21. 12. 1984		4. 1. 1985	
		$\bar{x}$	s	$\bar{x}$	s
Hematokrit l.l ⁻¹	P	0,298	0,091	0,293	0,031
	K	0,302	0,027	0,318	0,021
	d	-0,004		-0,025	
Hemoglobín g.l ⁻¹	P	106,8	5,920	104,1	7,030
	K	106,4	6,230	105,2	6,980
	d	0,4		-1,1	
Glukóza mmol.l ⁻¹	P	2,210	0,240	2,060	0,250
	K	2,120	0,260	2,190	0,290
	d	0,090		-0,130	
NEMK μ mol.l ⁻¹	P	254,0	52,160	400,3	66,800
	K	238,7	51,190	275,5	53,280
	d	15,3		124,8 ⁺⁺	

Pokusná skupina: $n = 12$

Kontrolná skupina: $n = 9$

III. Ukazovatele tukového a proteinového metabolizmu u sledovaných skupín
dairy cows

Ukazovateľ		21. 12. 1984		4. 1. 1985	
		$\bar{x}$	s	$\bar{x}$	s
Celkové lipidy g.l ⁻¹	P	2,92	0,46	3,18	0,43
	K	2,86	0,39	3,04	0,50
	d	0,06		0,14	
Močovinový dusík mmol/l ⁻¹	P	2,11	0,28	2,19	0,32
	K	2,16	0,27	2,30	0,24
	d	-0,05		-0,11	
Celkové bielkoviny g/l ⁻¹	P	57,9	3,10	62,6	3,06
	K	58,5	2,63	61,0	3,62
	d	-0,6		1,5	
Cholesterol mmol.l ⁻¹	P	4,60	0,72	4,81	0,85
	K	4,53	0,83	4,52	0,56
	d	0,07		0,29	

Pokusná skupina: $n = 12$

Kontrolná skupina: $n = 9$

Dátum odberu odberu krvi

15. 1. 1985		6. 2. 1985		15. 2. 1985		28. 2. 1985	
$\bar{x}$	s	$\bar{x}$	s	$\bar{x}$	s	$\bar{x}$	s
0,297	0,029	0,300	0,023	0,311	0,029	0,303	0,021
0,301	0,018	0,302	0,024	0,319	0,029	0,305	0,025
-0,004		-0,002		-0,007		-0,002	
103,8	5,810	104,5	6,900	108,5	6,880	102,9	7,120
104,2	6,120	104,3	7,030	109,6	7,090	102,2	7,400
0,4		0,2		-1,1		0,7	
3,260	0,260	2,780	0,300	3,920	0,380	2,630	0,310
3,250	0,340	2,650	0,250	3,540	0,390	2,540	0,330
0,010		0,130		0,38 ⁺		0,090	
430,0	82,110	301,7	87,420	372,8	80,530	293,7	69,310
322,6	71,200	284,3	68,510	307,4	71,380	267,5	74,800
107,4 ⁺⁺		17,4		65,4 ⁺		26,2	

Preukaznosť: + — $P < 0,05$
 ++ — $P < 0,01$

dojníc — Parameters of fat and protein metabolism in the studied groups of

Dátum odberu krvi

15. 1. 1985		6. 2. 1985		15. 2. 1985		28. 2. 1985	
$\bar{x}$	s	$\bar{x}$	s	$\bar{x}$	s	$\bar{x}$	s
3,25	0,42	3,18	0,41	3,29	0,39	3,20	0,39
3,00	0,39	3,23	0,47	3,05	0,41	3,17	0,36
0,25		-0,05		0,24		0,23	
1,72	0,25	1,68	0,39	2,02	0,30	1,84	0,33
1,75	0,16	1,70	0,40	1,87	0,28	1,70	0,39
-0,03		-0,02		0,15		0,14	
58,8	2,66	57,9	3,23	61,4	2,93	60,4	3,42
56,3	2,34	56,6	3,48	58,3	3,42	59,7	3,82
2,5 ⁺		-0,4		3,1 ⁺		0,7	
5,35	1,18	5,32	0,89	5,46	1,04	5,00	0,92
5,06	0,86	5,15	0,68	4,53	0,71	4,83	0,79
0,29		0,17		0,93 ⁺		0,17	

Preukaznosť: + = $P < 0,05$

IV. Ukazovatele minerálneho metabolizmu u sledovaných skupín dojníc — Para-

Ukazovateľ		21. 12. 1984		4. 1. 1985	
		$\bar{x}$	s	$\bar{x}$	s
Sodík mmol.l ⁻¹	P	140,2	2,28	139,6	1,78
	K	140,8	2,03	140,5	2,21
	d	-0,6		-0,9	
Draslík mmol.l ⁻¹	P	4,31	0,31	4,06	0,43
	K	4,44	0,28	4,76	0,25
	d	-0,13		-0,70 ⁺	
Smer sodíka a draslíka	P	30,6	3,18	34,7	3,71
	K	29,9	2,91	29,6	1,29
	d	0,7		5,1 ⁺⁺	
Vápnik mmol/l ⁻¹	P	2,62	0,16	2,77	0,18
	K	2,62	0,20	2,83	0,09
	d	0,0		-0,06	

Pokusná skupina: n = 12

Kontrolná skupina: n = 9

V. Ukazovatele hormonálneho metabolizmu u sledovaných skupín dojníc — Para-

Ukazovateľ		21. 12. 1984		4. 1. 1985	
		$\bar{x}$	s	$\bar{x}$	s
Tyroxín nmol.l ⁻¹	P	69,8	18,22	79,2	33,13
	K	63,2	16,48	56,3	15,46
	d	6,6	22,90	22,9	
Trijódtyronín nmol.l ⁻¹	P	1,11	0,27	1,18 ⁺	0,33
	K	1,08	0,29	1,19	0,39
	d	0,03		-0,01	
Cyklický AMP nmol.l ⁻¹	P	8,20	2,72	8,09	3,02
	K	8,11	2,90	8,87	2,41
	d	0,09		-0,78 ⁺	

Pokusná skupina: n = 12

Kontrolná skupina: n = 9

meters of mineral metabolism in the studied groups of dairy cows

Dátum odberu krvi							
15. 1. 1985		6. 2. 1985		15. 2. 1985		28. 2. 1985	
$\bar{x}$	s	$\bar{x}$	s	$\bar{x}$	s	$\bar{x}$	s
140,7	1,21	138,9	1,96	138,6	2,63	138,3	2,07
139,5	1,62	138,0	1,81	136,0	2,65	137,4	2,40
1,2		0,9		2,6 ⁺		0,9	
4,59	0,57	4,40	0,36	4,41	0,44	4,39	0,38
4,59	0,38	4,40	0,31	4,30	0,26	4,32	0,42
0,00		0,00		0,11 _*		0,07 [*]	
31,0	3,42	30,3	2,78	31,7	3,08 [*]	30,0	2,96
30,5	2,52	30,0	3,12	31,7	1,79	30,7	2,80
0,5		0,3		0,0		-0,7	
2,54	0,11	2,70	2,81	2,68	0,13	2,64	2,43
2,56	0,14	2,65	2,69	2,69	0,09	2,66	2,61
-0,02		0,05		-0,01		-0,02	

Preukaznosť: + = $P < 0,05$

++ = $P < 0,01$

meters of hormonal metabolism in the studied groups of dairy cows

Dátum odberu krvi							
15. 1. 1985		6. 2. 1985		15. 2. 1985		28. 2. 1985	
$\bar{x}$	s	$\bar{x}$	s	$\bar{x}$	s	$\bar{x}$	s
70,1	13,19	62,1	16,28	64,8	27,23	61,8	22,81
64,9	9,83	56,8	13,81	58,5	15,36	57,3	21,17
5,2		5,3		6,3		4,5	
1,39	0,74	1,06	0,19	1,21	0,42	1,07	0,23
1,27	0,37	1,12	0,22	1,14	0,26	1,04	0,19
0,12		-0,06		0,07		0,03	
8,77	2,42	8,48	2,18	9,25	2,05	8,80	2,93
8,53	2,58	8,40	2,34	8,65	2,48	8,59	2,33
0,24		0,08		0,60		0,21	

Preukaznosť: + = $P < 0,05$

dvoch skupinách bol v priebehu sledovaní mierne zostupný trend. Na prudké zníženie teplôt prostredia na začiatku prvého obdobia mrazov reagovali obidve skupiny dojnic v kalémii rozdielnym spôsobom. Zvieratá ustajnené v otvorenej maštali pod vplyvom teplôt -9°C znížili obsah draslíka z $4,31 \text{ mmol} \cdot \text{l}^{-1}$ na $4,06 \text{ mmol} \cdot \text{l}^{-1}$ a zvieratá umiestnené v zateplenom objekte pôsobením teploty okolo 0°C zvýšili koncentráciu sérového draslíka z $4,44 \text{ mmol} \cdot \text{l}^{-1}$ na $4,76 \text{ mmol} \cdot \text{l}^{-1}$. Na základe toho bol aj rozdiel medzi skupinami v pomere sodíka k draslíku preukazný (tab. IV).

Obsah hormónu štítnej žľazy (tab. V) bol u kráv chovaných v podmienkach s nízkymi teplotami po celé zimné obdobie vyšší ako u kráv zo zatepleného objektu. Najvyšší rozdiel sme stanovili na začiatku nízko-tepelnej expozície 4. 1. 1985 — $79,2 \text{ nmol} \cdot \text{l}^{-1}$ u zvierat pokusnej skupiny a $56,3 \text{ nmol} \cdot \text{l}^{-1}$ u zvierat kontrolnej skupiny. Koncentrácia trijódtyronínu, druhého hlavného hormónu tyroidey, sa výraznejšie nemenila. Za pozornosť stojí len zvýšenie v období po pôsobení najvyšších mrazov -19°C pri odbere krvi 15. 1. 1985. Cyklický adenosinmonofosfát reagoval na začiatku prvého obdobia nízkych teplôt miernym znížením koncentrácie u kráv z otvorenej maštale ($8,09 \text{ nmol} \cdot \text{l}^{-1}$ a naopak výrazným zvýšením u kráv druhej skupiny ($8,87 \text{ nmol} \cdot \text{l}^{-1}$), následkom čoho bol rozdiel medzi skupinami signifikantný. Až v druhom odbere tohto obdobia (15. 1. 1985) došlo u zvierat pokusnej skupiny k zvýšeniu na $8,77 \text{ nmol} \cdot \text{l}^{-1}$ a pri sledovaní v druhej perióde k ďalšej elevácii až na $9,25 \text{ nmol} \cdot \text{l}^{-1}$.

DISKUSIA

Sledovanie biochemických ukazovateľov dokázalo, že v organizme zvierat chovaných v podmienkach s extrémne nízkymi teplotami prebiehal adaptačný proces, ktorý sa prejavil zvýšením chladovej rezistencie (Janský a Hart, 1963). Reagovala os hypofýza-tyroidea (Kriesten, 1981; Robertshaw, 1981; Groth, 1984), čo dokazuje výrazné zvýšenie hladiny tyroxínu u zvierat pokusnej skupiny ihneď na začiatku prvého obdobia. Je to obdoba nášho zistenia u jalovic (Brouček a i., 1987), ktoré boli tiež odchovávané v otvorenej maštali. Naproti tomu dojnice kontrolnej skupiny reagovali v niektorých ukazovateľoch (glukóza, neesterifikované mastné kyseliny, cyklický adenosinmonofosfát) takmer rovnako ako pokusná skupina a to by sa dalo charakterizovať vzhľadom na teploty v ich objekte skôr ako záťaž. S týmto úzko korešpondujú naše výsledky zo sledovania vplyvu extrémne nízkych teplôt na dojivosť kráv (Brouček a Kovalčík, 1987): u dojnic zo zatepleného objektu došlo pri teplotách v interiéri blížiacich sa k 0°C tiež k deficitu nádoja, ale ten sa na rozdiel od pokusnej skupiny exponovanej teplotou až -19°C pomalšie vyrovnával.

Literatúra

- BIANCA, W.: Die Anpassung des Haustieres an seine klimatische Umgebung. Schweiz. landwirtsch. Forsch., 10, 1971, č. 2, s. 155-205.
BRENNER, K. V. — REINHARDT, P.: Untersuchungen zur photometrischen Bestimmung und zur Stabilität der freien Fettsäuren im Plasma und Serum von Rind. Mh. Veter.-Med., 31, 1976, č. 18, s. 707-711.

- BROUČEK, J. — KOVALČIK, K.: Vplyv extrémne nízkych teplôt na dojivosť a spotrebu živín kráv. Živoč. Vyr., 32, 1987, v tlači.
- BROUČEK, J. — KOVALČIK, K. — GAJDOŠÍK, D. — ŠOTTNIK, J. — BRESTENSKÝ, V.: Vplyv extrémnych teplôt prostredia na hematologické a biochemické ukazovatele jalovic. Veter. Med. (Praha), 32, 1987, č. 5, s. 259-268.
- GROTH, W.: Der Einfluss des Stallklimas auf Gesundheit und Leistung von Rind und Schwein. Zbl. Veter. Med., R. B, 31, 1984, s. 561-584.
- HORWITZ, B. A.: Brown fat thermogenesis: Physiological control and metabolic basis. In: Nonshivering thermogenesis. Proc. Symp. Praha, 1971, s. 63-65.
- JANSKÝ, L. — HART, J. S.: Participation of skeletal muscle and kidney during non-shivering thermogenesis in cold-acclimated rats. Can. J. Biochem., 41, 1963, s. 953-964.
- KARYIA, Y. — FURUKAWA, R. — MATSUMOTO, H. — TERUI, S.: Effect of rapid changes of environmental temperature on physiological constituents in cattle exposed to low environmental temperatures. Bull. Nat. Grassl. Res. Inst., 32, 1985, č. 32, s. 70-78.
- KRIESTEN, K.: Aspekte der zitterfreien Thermogenese bei Säugetieren. Prakt. Tierarzt, 62, 1981, č. 6, s. 500-505.
- OLSEN, J. D.: Physiologic response of cattle to cold. Amer. J. veter. Res., 30, 1969, č. 1, s. 47-50.
- ROBERTSHAW, D. in: CLARK, J. A.: Environmental aspects of housing for animal production. London, Butterworths 1981, s. 181-192.
- YOUNG, B. A.: Cold stress as it affects animal production. J. anim. Sci., 52, 1981, č. 1, s. 154-163.

Došlo dňa 5. 12. 1986

БРОУЧЕК Я. — КОВАЛЧИК К. — ГАЙДОШИК, Д. — БРЕСТЕНСКИЙ, В. (Научно-исследовательский институт животноводства, Нитра): Изменения биохимических показателей дойных коров, вызванные крайне низкими температурами. Veter. Med. (Praha), 32, 1987 (8) : 449-458.

Цель эксперимента — определить влияние крайне низких температур среды на биохимические показатели коров. Для опыта бралась 21 корова дойная. Опытная группа ($n = 12$) коров содержалась без привязи в открытом неотапливаемом коровнике и контрольная группа ($n = 9$) — в утепленном помещении. В зимний период были два момента с низкими температурами: с 3.1 по 21. 1. 1985 г. средняя минимальная температура в открытом коровнике была $-12,6^{\circ}\text{C}$, самыми низкими температурами были -19°C ; с 8.2 по 20. 2. 1985 г. средняя минимальная температура равнялась $-13,1^{\circ}\text{C}$, также с самой низкой температурой -19°C . В начале гипотермической нагрузки у коров опытной группы повысилась концентрация неэтерифицированных кислот, общих белков и понизилась калемия. При длительном содержании животных при низкой температуре росли холестеринемия и гликемия. Во всех изучаемых случаях наблюдалась повышенная активность щитовидной железы.

открытый неотапливаемый коровник; отапливаемый коровник; гипотермическая нагрузка; концентрация неэтерифицированных кислот; концентрация общих белков; калемия; холестеринемия; гликемия; активность щитовидной железы

BROUČEK, J. — KOVALČIK, K. — GAJDOŠÍK, D. — BRESTENSKÝ, V. (Research Institute of Animal Production, Nitra): *Changes in the Biochemical Parameters of Dairy Cows Induced by Extremely Low Temperatures*. Veter. Med. (Praha), 32, 1987 (8) : 449-458.

The objective of the experiment was to find out the effect of extremely low temperatures on the biochemical characteristics of the cows. Twenty-one dairy cows were used as the experimental material. The experimental group ($n = 12$) was kept loose in an open barn without thermal insulation and the control group ($n = 9$) was kept in an insulated cow-house. The winter season included two periods of extremely low temperatures: from the 3rd to the 21st of January 1985 the average minimum temperature in the open barn was $-12,6^{\circ}\text{C}$ and the lowest temperature was -19°C , and in the period from the 8th to the 20th of February 1985 the average minimum temperature was $-13,1^{\circ}\text{C}$ and the lowest recorded tem-

perature was also -19°C . At the beginning of hypothermic stress, the concentration of non-esterified acids and total proteins increased in the cows of the experimental group; potassiaemia was decreased in this group. Cholesterolaemia and glycaemia increased during the long-continued exposure to low temperatures. The activity of the thyroid gland was increased at all measurements.

open barn without thermal insulation; barn with thermal insulation; hypothermic stress; non-esterified acid concentration; total protein concentration; potassiaemia; cholesterolaemia; glycaemia; activity of thyroid gland

BROUČEK, J. — KOVALČÍK, K. — GAJDOŠÍK, D. — BRESTENSKÝ, V. (Forschungsinstitut für Tierproduktion, Nitra): *Veränderungen biochemischer Merkmale der Milchkühe hervorgerufen durch extrem niedrige Temperaturen*. Veter. Med. (Praha), 32, 1987 (8) : 449-458.

Ziel des Versuches war es, den Einfluß von extrem niedrigen Umwelttemperaturen auf biochemische Merkmale der Kühe zu ermitteln. Als Versuchsmaterial benutzten wir 21 Milchkühe. Die Versuchsgruppe ($n = 12$) wurde in einem thermisch nur ungenügend isolierten oder nichtisolierten Offenlaufstall, die Kontrollgruppe ($n = 9$) in einem wärmeisolierten Stall gehalten. Während des Winters gab es zwei Perioden mit niedrigen Temperaturen: 3. 1.—21. 1. 1985 betrug die durchschnittliche Mindesttemperatur im Offenlaufstall $-12,6^{\circ}\text{C}$ und die niedrigste Temperatur -19°C ; 8. 2.—20. 2. 1985 betrug die durchschnittliche Mindesttemperatur $-13,1^{\circ}\text{C}$ und die niedrigste Temperatur -19°C . Zu Beginn der hypothermischen Belastung stieg bei den Versuchskühen die Konzentration von nichtesterifizierten Säuren, Gesamtproteinen und die Kalämie fiel hingegen ab. Bei einer andauernden Niedertemperaturexposition konnten wir eine Steigerung der Cholesterolämie und Glykämie beobachten. Bei allen Untersuchungen verzeichneten wir auch eine erhöhte Aktivität der Schilddrüse.

nichtwärmeisolierter Offenlaufstall; wärmeisolierter Stall; hypothermische Belastung; Konzentration von nichtesterifizierten Säuren; Konzentration von Gesamtproteinen; Kalämie; Cholesterolämie; Glykämie; Aktivität der Schilddrüse

Adresy autorov:

Ing. Jan 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

VPLYV BETA-KAROTÉNU NA KONCENTRÁCIE TYROXÍNU A CHOLESTEROLU U TELNÝCH JALOVÍC PRED PÔRODOM A PO PÔRODE

E. Bekeová, J. Elečko, V. Hendrichovský, J. Choma, L. Lázar, M. Krajničáková

BEKEOVÁ, E. — ELEČKO, J. — HENDRICHOVSKÝ, V. — CHOMA, J. — LÁZAR, L. — KRAJNÍČÁKOVÁ, M. (Ústav experimentálnej veterinárnej medicíny, Košice): *Vplyv beta-karoténu na koncentrácie tyroxínu a cholesterolu u telných jalovíc pred pôrodom a po pôrode*. Veter. Med. (Praha), 32, 1987 (8) : 459-468.

Zisťovali sme koncentrácie tyroxínu (T_4) a cholesterolu, ich dynamické zmeny a rozdiely u 20 telných jalovíc desať dní pred pôrodom až 56 dní po pôrode. Desať jalovíc (kontrolných) bolo kŕmených kŕmnou dávkou pre telné jalovice podľa ČSN 46 7070. U ďalších desiatich jalovíc (pokusných) sa uvedená kŕmna dávka v časovom rozpätí päť mesiacov pred insemináciou, počas gravidity až do 56. dňa po pôrode obohacovala syntetickým beta-karoténom v množstve 300 mg na kus a deň. Ako naznačuje regresná funkcia priamky, zjavné rozdiely v dynamických zmenách T_4 v období pred pôrodom a v prvých dňoch po pôrode neboli zaznamenané. Do siedmeho dňa po pôrode mali koncentrácie T_4 u zvierat oboch skupín celkovo zostupnú tendenciu s najnižšími hodnotami v 48. hodine u zvierat pokusnej skupiny a v 24. hodine u zvierat kontrolných. Výrazný nárast koncentrácií T_4 , ktoré boli v kontrolnej skupine signifikantne vyššie než v skupine pokusnej, sme pozorovali medzi 21. a 35. dňom po pôrode. Priemerne vyššie koncentrácie cholesterolu sme zistili u jalovíc prikrmovaných beta-karoténom. Signifikantné rozdiely v koncentráciách cholesterolu medzi oboma skupinami neboli — s výnimkou 72. hodiny a siedmeho dňa — pozorované. Signifikantnú koreláciu vzťahov T_4 :cholesterol sme u pokusných zvierat zaznamenali v prvej a druhej hodine a v 42. dni ($P < 0,05$), ako aj v 72. hodine ($P < 0,001$), u zvierat kontrolných v siedmom dni pred pôrodom a v šiestej hodine, 14., 21. a 56. dni ($P < 0,05$) po pôrode. Podľa získaných výsledkov usudzujeme, že beta-karotén zasahuje do činnosti a produkcie hormónov štítnej žľazy a sekundárne cestou zvýšenia (resp. zníženia) jej činnosti vplyva i na metabolizmus cholesterolu v organizme.

inseminácia; gravidita; peripartálne obdobie

Primárny substrát syntézy steroidov — cholesterol — sa produkuje buď priamo vaječníkmi (Bolte a i., 1974), alebo ho tieto získavajú z plazmatických frakcií lipoproteínov nízkej a vysokej hustoty (Anderson a Dietschy, 1978; Wang a Greenwald, 1984; Paavola a i., 1985). Súčasné poznatky naznačujú, že dostupnosť cholesterolu k mitochondriálnemu systému buniek produkujúcich steroidy je limitujúcim faktorom rýchlosti steroidogenézy (Mason a i., 1978). Ako uvádza Jackson (1981), ktorý v experimente so zníženým prívodom beta-karoténu v kŕmnej dávke v zimnom období zistil poruchy rastu fo-

likulov i ovulácie a pokles progesterónových hladín, je beta-karotén jedným z faktorov podieľajúcich sa na transporte plazmatického cholesterolu k žltému teliesku. Spoločná väzba cholesterolu a beta-karoténu na obe frakcie lipoproteínov (Kur z a i., 1984; Probstfield a i., 1985) názory uvedeného autora podporuje.

Metabolizmus a distribúcia beta-karoténu po rezorpcii stenou tenkého čreva je okrem iných faktorov ovplyvňovaná štádiom pohlavného cyklu (Sklan, 1983) a hormónmi štítnej žľazy (Chanda a i., 1951; Gažo a Landau, 1959; Smith a Goodman, 1971). V našej práci sme sa zamerali na zisťovanie rozdielov v dynamike i koncentráciách tyroxínu a cholesterolu pred pôrodom a po pôrode medzi prvôstkami krmenými kŕmnu dávkou pre gravidné jalovice podľa ČSN 46 7070 (1966) a zvieratami, u ktorých sme uvedenú kŕmnu dávku obohatovali syntetickým beta-karoténom v množstve 300 mg na kus a deň. Súčasne sme zisťovali korelačnú závislosť medzi cholesterolom a tyroxínom.

MATERIÁL A METÓDY

POKUSNÉ ZVIERATÁ

Do sledovania sme zaradili 20 teľných jalovic slovenského strakatého plemena. Pri celoročnom väznom ustajnení v maštaliach ľahkého typu zvieratá dostávali kŕmnu dávku zodpovedajúcu potrebám živín podľa ČSN 46 7070 (1966). Táto dávka obsahovala kukuričnú siláž, jačmennú slamu a kŕmnu zmes HŽB. Po pôrode obsahovala okrem kukuričnej siláže a jačmennej slamy aj repu a zmes DOP podľa denného nádoja. U desiatich (pokusných) zvierat sme kŕmnu dávku v časovom rozpätí piatich mesiacov pred insemináciou a počas gravidity až do 56. dňa po pôrode obohacovali syntetickým beta-karoténom v množstve 300 mg na kus a deň. Na dotáciu sme používali syntetický beta-karotén fy BASF Ludwigshafen, NSR, dodávaný ako 10% stabilný antioxidant obsahujúci suchý prášok.

ODBER KRVI

Koncentráciu i dynamiku získaných parametrov sme zisťovali v sére z krvi odoberanej v 10., 7., 4. a 1. dni pred pôrodom, ďalej 1, 6, 24, 48 a 72 hodín po pôrode s ďalšími odbermi v sedemdnových intervaloch až do 56. dňa včítane.

LABORATORNE ANALÝZY

Koncentráciu tyroxínu sme stanovili RIA testom T_4 z ÚRVJT Košice, cholesterol sme určovali Bio-La-testom n. p. Lachema, Brno.

ŠTATISTICKÉ ZHODNOTENIE

Diferencie sledovaných parametrov a ich korelačnú závislosť sme určili Studentovým t -testom a výpočtom korelačného koeficientu (r) podľa Červenku (1975). Priebeh dynamických zmien tyroxínu sa vyrovnal regresnou funkciou priamky (Šebová, 1973)

$$Y_i = a + bx_i$$

kde: Y_i — hladiny hormónov

x_i — hodnoty času od začiatku sledovania

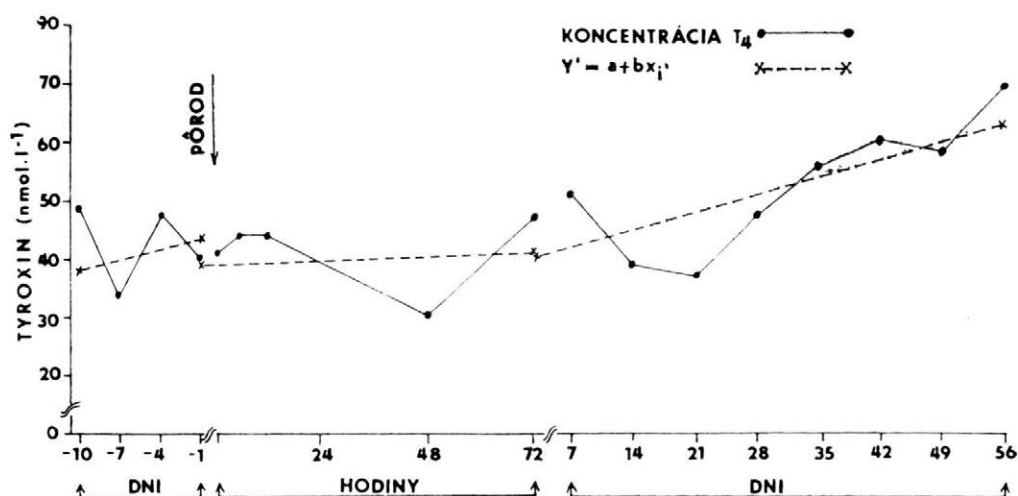
I. Koncentrácie tyroxínu (T_4) a cholesterolu u pokusných a kontrolných jalovic v období pred pôrodom a po pôrode — Concentrations of thyroxine (T_4) and cholesterol in the experimental and control heifers in the period before and after calving

Čas odberu	T_4 - nmol.l ⁻¹ ($\bar{x} \pm \sigma$)		Cholesterol - nmol.l ⁻¹ ($\bar{x} \pm \sigma$)	
	pokus	kontrola	pokus	kontrola
Dni pred pôrodom				
- 10	48,2 ± 10,6	49,6 ± 16,1	2,49 ± 0,20	2,66 ± 0,41
- 7	33,8 ± 12,2 ^a	53,6 ± 12,6 ^{a'}	2,44 ± 0,41	2,57 ± 0,33
- 4	47,0 ± 13,0	42,9 ± 17,3	2,74 ± 0,64	2,48 ± 0,40
- 1	37,8 ± 16,2	47,7 ± 22,5	2,65 ± 0,45	2,50 ± 0,56
Hodiny po pôrode				
1	39,2 ± 11,4	47,3 ± 8,8	2,70 ± 0,53	2,62 ± 0,56
6	43,5 ± 13,5	36,3 ± 8,2	2,33 ± 0,61	2,12 ± 0,57
12	43,4 ± 16,0	36,4 ± 12,9	2,45 ± 0,42	2,38 ± 0,59
24	39,5 ± 9,3 ^b	22,8 ± 13,3 ^{b'}	2,49 ± 0,39	2,21 ± 0,40
48	30,3 ± 9,0 ^c	41,4 ± 9,8 ^{c'}	2,51 ± 0,53	2,32 ± 0,50
72	47,3 ± 15,1 ^d	35,8 ± 6,0 ^{d'}	3,12 ± 0,53 ¹	2,65 ± 0,32 ^{1'}
Dni po pôrode				
7	51,1 ± 12,0 ^e	34,9 ± 7,1 ^{e'}	3,24 ± 0,56 ²	2,69 ± 0,49 ^{2'}
14	39,0 ± 6,4	43,0 ± 10,2	3,02 ± 0,74	2,81 ± 0,62
21	37,5 ± 7,1 ^f	70,7 ± 24,3 ^{f'}	3,40 ± 0,63	3,11 ± 0,55
28	47,6 ± 7,3 ^g	71,7 ± 19,3 ^{g'}	3,84 ± 0,93	3,62 ± 0,63
35	55,4 ± 8,5 ^h	85,7 ± 10,2 ^{h'}	4,03 ± 0,85	3,79 ± 0,47
42	60,0 ± 12,2	72,5 ± 14,8	4,29 ± 1,00	3,74 ± 0,52
49	58,3 ± 11,4	64,3 ± 10,1	4,48 ± 0,71	3,82 ± 0,78
56	68,8 ± 17,1	67,8 ± 15,6	4,17 ± 0,96	4,10 ± 0,85

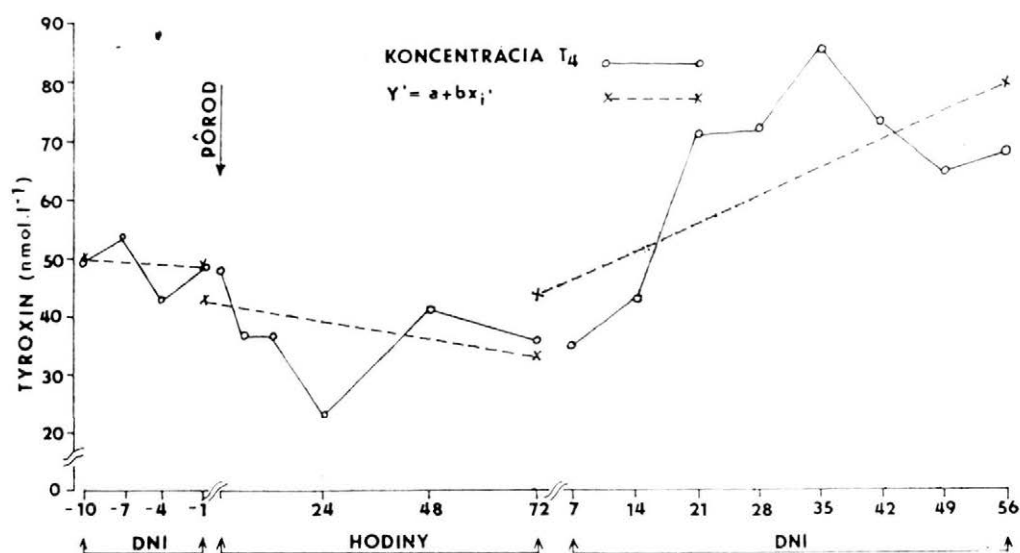
Medziskupinové rozdiely v koncentráciách hodnotené Studentovým t -testom: T_4 (c: c'; d: d' — $P < 0,05$; a: a'; b: b'; e: e'; g: g' — $P < 0,001$; f: f'; h: h' — $P < 0,001$ chol.) 1: 1'; 2: 2' — $P < 0,05$

VÝSLEDKY

U zvierat s dotáciou beta-karoténu (obr. 1, 2, tab. I) sa koncentrácie tyroxínu (T_4) pred pôrodom a do 72. hodiny od pôrodu pohybovali v medziach 33,8 ± 12,2 až 48,2 ± 10,6 nmol.l⁻¹ séra a 30,3 ± 9,0 až 47,3 ± 15,1 nmol.l⁻¹ séra. Podľa regresnej funkcie priamky v oboch časových úsekoch zostávali koncentrácie T_4 temer rovnaké. Výrazný nárast sa zaznamenal po 72. hodine sledovania s najvyššími hodnotami 68,8 ± 17,1 nmol.l⁻¹ v 56. dni po pôrode. U zvierat kontrolnej skupiny

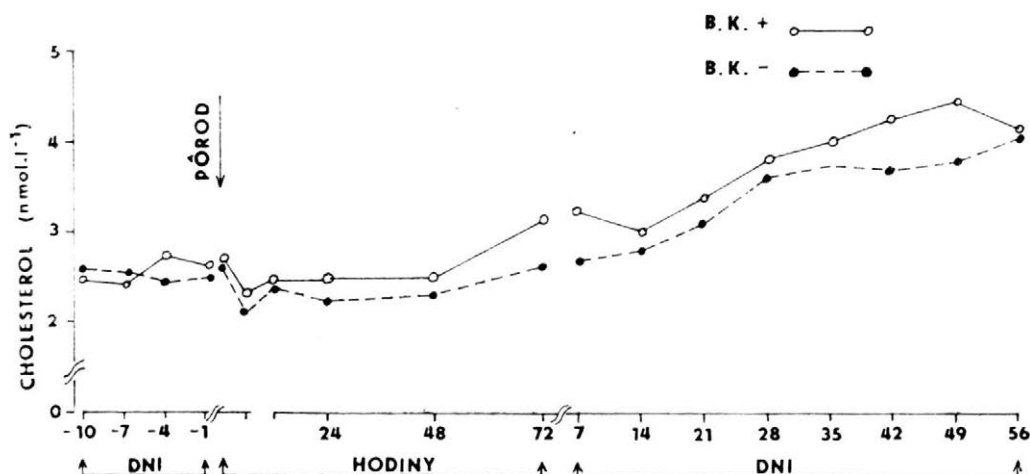


1. Priemerná koncentrácia tyroxínu (T_4) u prvôstok kŕmených prídavkom beta-karoténu (pokusná skupina) — The average thyroxine (T_4) concentration in the first-calvers fed a diet fortified with beta-carotene (experimental group)



2. Priemerná koncentrácia tyroxínu (T_4) u zvierat kontrolnej skupiny — The average thyroxine (T_4) concentration in the control group

v období pred pôrodom a do 72. hodiny po pôrode mali koncentrácie T_4 podľa regresnej funkcie priamky klesajúcu tendenciu; pohybovali sa v rozpätí $42,9 \pm 17,3$ až $53,6 \pm 12,6$ nmol.l^{-1} séra a $22,8 \pm 13,3$ až $47,3 \pm 8,8$ nmol.l^{-1} séra. Po 72. hodine sme zaznamenali výrazný vzostup koncentrácie T_4 s vrcholovými hodnotami $85,7 \pm 10,2$ nmol.l^{-1} séra v 35. dni po pôrode. Celkovo vyššie koncentrácie T_4 so signifikantnými rozdielmi (tab. I) sme zistili u zvierat kontrolných.



3. Priemerná koncentrácia cholesterolu u pokusných (B.K. +) a kontrolných zvierat (B.K. —) — The average cholesterol concentration in the experimental (B.K. +) and control animals (B.K. —)

Koncentrácie cholesterolu (tab. I, obr. 3) v peripartálnom období sa u zvierat dotovaných beta-karoténom pohybovali v medziach $2,39 \pm 0,63$ až $2,66 \pm 0,41$ nmol.l⁻¹ séra. U kontrolných zvierat kolísali v medziach $2,42 \pm 0,39$ až $2,74 \pm 0,64$ nmol.l⁻¹ séra. Po pôrode mali koncentrácie cholesterolu u zvierat oboch skupín vzostupnú tendenciu s hodnotami $2,33 \pm 0,61$ až $4,48 \pm 0,71$ nmol.l⁻¹ séra u pokusných zvierat a $2,12 \pm 0,57$ až $4,10 \pm 0,85$ nmol.l⁻¹ séra u zvierat kontrolných. Priemerne vyššie koncentrácie cholesterolu sa zistili u zvierat pokusnej skupiny so signifikantnými rozdielmi v 72. hodine a v siedmom dni po pôrode ($P < 0,05$). Štatisticky významná korelácia vzťahu T_4 : cholesterol sa u pokusných zvierat zaznamenala v prvej a v druhej hodine, v 42. dni ($P < 0,05$) a v 72. hodine ($P < 0,001$). U zvierat bez prídavku beta-karoténu v siedmom dni pred pôrodom, v šiestej hodine a v 14., 21. a 56. dni po pôrode ($P < 0,05$).

DISKUSIA

Zjavné rozdiely v dynamických zmenách tyroxínu v období pred pôrodom a v prvých dňoch po pôrode medzi pokusnou a kontrolnou skupinou sme nezaznamenali. Jeho koncentrácie mali do siedmeho dňa po pôrode celkove zostupnú tendenciu a výrazný nárast so signifikantne vyššími koncentraciami (tab. I) u zvierat kontrolnej skupiny sme pozorovali medzi 21. a 35. dňom po pôrode. Podobné výsledky súvisiace s fyziologickými zmenami hormónov štítnej žľazy boli pozorované u dojnic a byvolíc pri štúdiu zmien koncentrácií tyroxínu bezprostredne pred pôrodom a v prvých týždňoch laktácie (Shoda a Ishii, 1976; Kessler a i., 1981; Pichaicharnarong a i., 1982). U dojčiacich žien, krýs a ošípaných sa nižšie koncentrácie tyroxínu udržiavali počas celého desaťtýždňového popôrodného pozorovania, resp. až do odstavu mláďat (Štrbák a i., 1978; Fukuda a i., 1980; Benjaminsen, 1981). Vysvetlenie depresívnych zmien koncentrácií tyroxínu v peripar-

tálnom období a na začiatku laktácie nie je zatiaľ jednoznačné. Z výsledkov experimentov (Riis a Madsen, 1985), v ktorých sa zisťoval vplyv vysokoenergetickej a nízkoenergetickej diéty na dynamiku a koncentrácie tyroxínu v priebehu niekoľkých týždňov pred pôrodom a po pôrode kôz, možno popôrodné zníženie koncentrácií tyroxínu považovať za homeostatickú adaptáciu organizmu na jeho „energetické hladovanie“. Na druhej strane však koncentračná depresia tyroxínu a trijódtyronínu, vzostup plazmatických koncentrácií TSH v čase laktácie krýs (Fukuda a i., 1980) a relatívne vysoký obsah jódu v kravskom mlieku (Miller a i., 1975; Larson a i., 1983) poukazujú na mliečnu žľazu ako na miesto úniku jódu z organizmu s následnou realizáciou negatívnych spätnoväzobných mechanizmov humorálneho riadenia činnosti štítnej žľazy.

Z uvedených výsledkov vyplýva, že celkove vyššie koncentrácie tyroxínu, s výnimkou niekoľkých dní po pôrode, sa pozorovali u zvierat bez dotácie beta-karoténu. Podobné výsledky dosiahol Lotthammer (1978) u dojníc. Udáva, že okrem obdobia tretieho až piateho popôrodného týždňa sa koncentrácie tyroxínu u zvierat s obmedzeným príjmom beta-karoténu trvale pohybovali nad koncentraciami tyroxínu zvierat dotovaných beta-karoténom. Stimulačný vplyv beta-karoténového deficitu zaznamenal uvedený autor taktiež u jalovic s gynekologickými problémami. Z histologického vyšetrenia štítnej žľazy sa usudzuje, že zvýšenie systémových koncentrácií tyroxínu pri deficite beta-karoténu nastáva dôsledkom jej funkčnej aktivácie (Krudopp, 1979) ako reakcia na deficit vitamínu A, nevyhnutného pre jej normálnu činnosť (Gažo a Landau, 1959; Lotthammer a Ahlswede, 1977; Ahlswede a Lotthammer, 1978).

Zistenia citovaných autorov i nami zaznamenané signifikantne nižšie koncentrácie tyroxínu popri zvýšených koncentraciách cholesterolu u pokusných zvierat naznačujú, že optimálna saturácia samičieho organizmu beta-karoténom pôsobí v určitom smere ako látka znižujúca aktivitu štítnej žľazy. Vychádzajúc zo skutočnosti, že cholesterol je nielen základným substrátom pre syntézu ovariálnych steroidov, ktorá sa obnovuje už od desiateho dňa po pôrode, ale pôsobí aj ako nosič mastných kyselín vo forme cholesterolesterov pri syntéze mlieka, predpokladáme, že význam tlmivého účinku beta-karoténu na produkciu tyroidálnych hormónov spočíva vo vytváraní určitého šetriaceho mechanizmu pri metabolizme a odbúravaní cholesterolu z organizmu. Zmeny v koncentraciách T_4 po 14. dni od pôrodu s jeho významne nižšími koncentraciami u pokusných zvierat náš názor podporujú.

Zistené koncentrácie a dynamické zmeny cholesterolu v peripartálnom období a v čase laktácie u pokusných a kontrolných zvierat zodpovedajú nálezom u dojníc a opíc *maccacus rhesus* (Prakash a Tandon, 1979; Husvéth a i., 1982; Kessler a Rawlins, 1983). Súhlasne s uvedenými autormi sa u zvierat oboch skupín zaznamenal graduálny pokles koncentrácií cholesterolu s približujúcim sa pôrodom s pozvoľným nárastom jeho koncentrácií po pôrode. Depresia cholesterolu v peripartálnom období pravdepodobne súvisí s prechodom z relatívne kludového obdobia gravidity do produkčne i reprodukčne náročného obdobia metabolických, ale predovšetkým hormonálnych zmien (Riis a Madsen, 1985).

Vychádzajúc z prezentovaných výsledkov, usudzujeme, že beta-karotén okrem iného zasahuje do činnosti a produkcie hormónov štítnej žľazy a sekundárne cestou zvýšenia, resp. zníženia jej činnosti vplyva na metabolizmus cholesterolu v organizme. Zdá sa, že pôsobenie na metabolizmus cholesterolu je jednou z možných ciest pozitívneho vplyvu beta-karoténu na fyziologický priebeh pohlavných funkcií hovädzieho dobytku zisteného v posledných rokoch.

Literatúra

- ANDERSEN, J. M. — DIETSCHY, J. M.: Relative importance of high and low density lipoprotein in the regulation of cholesterol synthesis in the adrenal gland, ovary and testis of the rat. *J. biol. Chem.*, 253, 1978, s. 9024-9032.
- AHLWEDE, L. — LOTTHAMMER, K. H.: Untersuchungen über eine spezifische Vitamin-A-unabhängige Wirkung des B-Carotins auf die Fertilität des Rindes. 5. Mitt.: Organuntersuchungen, Gewichts- und Gehaltsbestimmungen. *Dtsch. tierärztl. Wschr.*, 85, 1978, s. 1-15.
- BOLTE, E. — COUBERT, S. — LEFEBURE, Y.: Steroid production from plasma cholesterol. II. *In vivo* conversion of plasma cholesterol to ovarian progesterone and adrenal C₁₉ and C₂₁ steroids in humans. *J. clin. Endocrinol. Metab.*, 38, 1974, s. 394-400.
- BENJAMINSEN, E.: Plasma thyroxine in the sow during pregnancy and lactation and during resumption of ovarian activity after weaning. *Acta veter. scand.*, 22, 1981, s. 1-13.
- CERVENKA, J.: Základy štatistiky. Ed.: Gordon, J. Martin, Osveta 1975, s. 115-124. ČSN 46 7070. Potreba živín hospodárskych zvierat. 1966.
- FUKUDA, H. — OHSHIMA, K. — MORI, N. — KOBAYASHI, I. — GREER, M. A.: Sequential changes in the pituitary-thyroid axis during pregnancy and lactation in the rat. *Endocrinology*, 107, 1980, s. 1711-1716.
- GAŽO, M. — LANDAU, L.: A vitamín vo výžive hospodárskych zvierat. Bratislava, SVPL 1959, s. 9-33.
- HUSVÉTH, F. — KARSAI, F. — GAÁL, T.: Changes of certain lipid components in the blood plasma and liver of dairy cows during the perinatal period. *Magy. állatorv. Lap.*, 37, 1982, s. 689-696.
- CHANDA, R. — CLAPHAM, H. M. — McNAUGHT, M. L. — OWEN, E. C.: The digestibility of carotene by the cow and the goat as affected by thyroxine and thiouracil. *Biochem. J.*, 50, 1951, s. 95-99.
- JACKSON, P. S.: Note on possible association between plasma beta-carotene levels and conception rate in a group of winter-housed dairy cattle. *Anim. Prod.*, 32, 1981, s. 109-111.
- KESLER, D. J. — JOHNSON, H. D. — GARVERICK, R. A.: Postpartum concentrations of thyroxine in plasma of dairy cows. *J. Dairy Sci.*, 64, 1981, s. 1618-1620.
- KESSLER, M. J. — RAWLINS, R. G.: Age- and pregnancy-related changes in serum total cholesterol and triglyceride levels in the Cayo Santiago Rhesus Macaques. *Exp. Gerontol.*, 18, 1983, s. 1-4.
- KRUDOPP, H. H.: Einfluss der Beta-Karotinversorgung der Rinder auf Schilddrüse und Nebennierenrinde anhand histologischer Untersuchungen. [Diss.] Hannover 1979.
- KURZ, V. E. — RAMBECK, W. A. — ZUCKER, H.: Verteilung des Beta-Carotene auf die Serumlipoproteine bei Milchkühen. *Zbl. Veter.-Med., R. A.*, 31, 1984, s. 174-181.
- LARSON, L. L. — WALLEN, S. E. — OWEN, F. G. — LOWRY, S. R.: Relation of age, season, production and health indices to iodine and beta-carotene concentrations in cow milk. *J. Dairy Sci.*, 66, 1983, s. 2557-2562.
- LOTTHAMMER, K. H.: Importance and role of beta-carotene for bovine fertility — original researches. In: LOTTHAMMER, K. H. — COOKE, B. C. — FRIESECKE, H.: Importance of beta-carotene for bovine fertility. London, Roche Symposium 1978, s. 5-44.

- LOTTHAMMER, K. H. — AHLSEDE, L.: Untersuchungen über eine spezifische, Vitamin-A-unabhängige Wirkung des Beta-Carotins auf die Fertilität des Rindes. 3. Mitt.: Blutserumuntersuchungen. Dtsch. Tierärztl. Wsch., 84, 1977, s. 1-19.
- MASON, J. I. — ARTHUR, J. R. — BOYD, G. S.: Regulation of cholesterol metabolism in rat adrenal mitochondria. Molec. cell. Endocrin., 10, 1978, s. 209-223.
- MILLER, J. K. — SWANSON, E. W. — SPALDING, G. E.: Iodine absorption, excretion, recycling and tissue distribution in the dairy cow. J. Dairy Sci., 58, 1975, s. 1578-1593.
- PAAVOLA, L. G. — STRAUSS, J. F. — BOYD, CH. O. — NESTLER, J. E.: Uptake of gold- and (^3H) cholesteryl linoleate-labeled human low density lipoprotein by cultured rat granulosa cells: Cellular mechanism involved in lipoprotein metabolism and their importance to steroidogenesis. J. Cell Biol., 100, 1985, s. 1235-1247.
- PICHAICHARNARONG, A. — LOYPETJRA, P. — CHAIYABUTR, N. — USANA-KORNKUL, S. — DJUROJEVIC, D. J.: Thyroid activities of non-pregnant, post-partum and newborn swamp buffaloes. J. agric. Sci., 98, 1982, s. 483-486.
- PRAKASH, B. S. — TANDON, R. N.: A note on the effect of late pregnancy and early lactation on blood serum cholesterol and total lipids of Holstein X Tharparkar fert lactation cows. Indian J. anim. Sci., 49, 1979, s. 308-309.
- PROBSTFIELD, J. L. — TSAI-LIEN LIN — PETERS, J. — HUNNINGHAKE, D. B.: Carotinoids and vitamin A: The effect of hypocholesterolemic agents on serum levels. Metabolism, 34, 1985, s. 88-91.
- RIIS, P. M. — MADSEN, A.: Thyroxine concentrations and secretion rates in relation to pregnancy, lactation and energy balance in goats. J. Endocrinol., 107, 1985, s. 421-427.
- SHODA, Y. — ISHII, T.: Effects of season, pregnancy and lactation on serum thyroxine level in dairy cattle. Jap. J. zootechn. Sci., 47, 1976, s. 659-664.
- SKLAN, D.: Carotene cleavage activity in the *corpus luteum* of cattle. Int. J. Vitam. Nutr. Res., 53, 1983, s. 23-26.
- SMITH, F. R. — GOODMAN, W. S.: The effects of diseases of the liver, thyroid, and kidneys on the transport of vitamin A in human plasma. J. clin. Invest., 50, 1971, s. 2426-2436.
- SEBOVÁ, G.: Základy biologickej štatistiky. Ed.: VŠV Košice, Bratislava, Príroda 1973, s. 87-104.
- ŠTRBÁK, V. — MACHO, L. — UHERČÍK, D. — KLIMENT, V.: The effect of lactation on thyroid activity of women. Endocrinologie, 72, 1978, s. 183-187.
- WANG, S. CH. — GREENWALD, G. S.: Effect of lipoproteins, 25-hydroxycholesterol and luteinizing hormone on *in vitro* follicular steroidogenesis in the hamster and rat. Biol. Reprod., 31, 1984, s. 271-279.

Došlo dňa 10.12. 1986

БЕКЕОВА, Э. — ЭЛЕЧКО, Я. — ГЕНДРИХОВСКИЙ, В. — ХОМА, Я. — ЛАЗАР, Л. — КРАЙНИЧАКОВА, М. (Институт экспериментальной ветеринарной медицины, Кошице): Влияние β -каротина на концентрацию тироксина и холестерина у телок до и после родов. Veter. Med. (Praha), 32, 1987 (8) : 459-468.

Нами определялась концентрация тироксина (T_4) и холестерина, их характеристические изменения и различия у 20 телок 10 сут до родов и 56 сут после родов. 10 телок (контрольных) содержалось на кормовом рационе для стельных телок согласно ЧСГосту 46 7070. Дальнейшим 10 гол. телок (подопытных) скамливался тот же кормовой рацион еще пять месяцев до искусственного осеменения; во время беременности вплоть до 56 сут после родов кормовой рацион обогащался синтетическим β -каротином в количестве 300 мг на гол. в сутки. Как показывает регрессивная функция прямой, не отмечалось резких различий в динамических изменениях T_4 в период до родов и в первых днях после родов. До 7 дня после родов концентрации T_4 у обеих групп в общем имели нисходящую тенденцию с самыми низкими значениями на 48 ч у подопытной группы и на 24 ч у контрольной. Резкое повышение концентрации T_4 со значительно высокими концентрациями T_4 у контрольной группы, по сравнению с подопытной, нами наблюдалось между 21 и 35 сут после родов. Несколько большая концентрация холестерина была установлена у телок с подкормкой β -каротином. Резких различий в концентрациях холестерина между обеими группами не наблюдалось, за исключением 72 ч и 7 сут. Значительную корреляцию отношений T_4 : холестерин мы отмечали у опытных животных на 1 и 2 часу и на 42 сут ($P < 0,05$), а также на 72 ч

($P < 0,001$); у контрольных животных на 7 сут до родов и на 6 часу, 14, 21 и 56 сут ($P < 0,05$) после родов. По полученным результатам оказывается, что β -каротин действует на функцию и продукцию гормонов щитовидной железы, в результате чего и на повышение (или же понижение) метаболизма холестерина в организме.

искусственное осеменение; беременность; перипартальный период

BEKEOVÁ, E. — ELEČKO, J. — HENDRICHOVSKÝ, V. — CHOMA, J. — LÁZAR, L. — KRAJNÍČÁKOVÁ, M. (Institute of Experimental Veterinary Medicine, Košice): *The Effect of Beta-Carotene on Thyroxine and Cholesterol Concentrations in Pregnant Heifers before and after Parturition*. Veter. Med. (Praha), 32, 1987 (8) : 459-468.

Thyroxine (T_4) and cholesterol concentrations and their dynamic changes and differences were studied in 20 pregnant heifers 10 days before calving until 56 days after calving. Ten control heifers were fed the feed ration for pregnant heifers according to Czechoslovak Standard ČSN 46 7070. The feed ration given to another ten (experimental) heifers was fortified with 300 mg of synthetic beta-carotene per head/day within the period of five months before insemination, during pregnancy and till the 56th day after parturition. As suggested by the regression function of straight line, no obvious differences were recorded in the dynamic changes of T_4 before parturition and during the first days after parturition. T_4 concentrations had a generally descending tendency in both groups, the lowest values being recorded in the 48th hour in the experimental group and the 24th hour in the control. A marked increase of T_4 concentrations with the values significantly higher in the control group than in the experimental group was observed between the 21st and 35th day after calving. A medium increase of cholesterol concentrations was found in the heifers given rations fortified with beta-carotene. No significant differences in cholesterol concentrations were observed between the two groups, except in the 72nd hour and the seventh day. Significant T_4 : cholesterol correlations were recorded in the experimental animals in the first and second hours, on the 42nd day ($P < 0,05$), and in the 72nd hour ($P < 0,001$); in the control group these observations were made the seventh day before calving and in the sixth hour and on the 14th, 21st and 56th days ($P < 0,05$) after calving. It is inferred from the results that beta-carotene interferes with the activity of the thyroid gland and the production of its hormones, and that the increases or decreases of the activity of this gland, caused by beta-carotene, influence the metabolism of cholesterol in the body.

insemination; gravidity; peripartal period

BEKEOVÁ, E. — ELEČKO, J. — HENDRICHOVSKÝ, V. — CHOMA, J. — LÁZAR, L. — KRAJNÍČÁKOVÁ, M. (Institut für experimentelle Veterinärmedizin, Košice): *Einfluß von Beta-Karotin auf die Konzentration von Thyroxin und Cholesterol bei trächtigen Färsen vor und nach der Geburt*. Veter. Med. (Praha), 32, 1987 (8) : 459-468.

Wir ermittelten die Konzentration von Thyroxin (T_4) und Cholesterol, ihre dynamischen Veränderungen sowie die Unterschiede bei 20 trächtigen Färsen 10 Tage vor und bis 56 Tage nach der Geburt. 10 Kontrollfärsen wurden mit einer Ration für trächtige Färsen laut ČSN (staatliche Norm) 46 7070 gefüttert. Bei weiteren 10 Versuchsfärsen wurde die angeführte Ration 5 Monate vor der Besamung, während der Trächtigkeit bis zum 56. Tag nach der Geburt mit synthetischem Beta-Karotin (300 mg/Tier/Tag) angereichert. Wie die Regressionsfunktion der Kurve zeigt, konnten keine bedeutenden Unterschiede in dynamischen Veränderungen von T_4 vor und in den ersten Tagen nach der Geburt verzeichnet werden. Bis zum 7. Tag nach der Geburt wiesen die T_4 -Konzentrationen der beiden Gruppen eine sinkende Tendenz mit den niedrigsten Werten in der 48. Stunde bei der Versuchsgruppe und in der 24. Stunde in der Kontrollgruppe auf. Eine bedeutende Steigerung der T_4 -Konzentrationen mit signifikant höheren T_4 -Konzentrationen bei der Kontrollgruppe als bei der entsprechenden Versuchsgruppe konnten wir zwischen dem 21. und 35. Tage nach der Geburt beobachten. Durchschnittlich höhere Kon-

zentrationen von Cholesterol konnten wir bei den mit Beta-Karotin zugefütterten Färsen feststellen. Starke Unterschiede in den Konzentrationen von Cholesterol zwischen den beiden Gruppen konnten mit Ausnahme der 72. Stunde und des 7. Tages nicht beobachtet werden. Eine bedeutsame Beziehungskorrelation T_4 :Cholesterol verzeichneten wir bei den Versuchstieren in der 1. und 2. Stunde und am 42. Tag ($P < 0,05$) als auch in der 72. Stunde ($P < 0,001$), bei den Kontrolltieren dann am 7. Tag vor der Geburt und in der 6. Stunde und am 14., 21. und 56. Tag ($P < 0,05$) nach der Geburt. Den ermittelten Ergebnissen nach zu schliessen, greift das Beta-Karotin in die Trächtigkeit und die Produktion von Schilddrüsenhormonen ein und auf dem Wege der Steigerung (bzw. der Senkung) der Tätigkeit der Schilddrüse beeinflußt es sekundär auch den Metabolismus des Cholesterols im Organismus.

künstliche Besamung; Trächtigkeit; peripartale Periode

Adresa autorů:

MVDr. Eva Bekeová, CSc., prof. MVDr. Ján Elečko, CSc., MVDr. Valentin Hendrichovský, CSc., MVDr. Ján Choma, CSc., MVDr. Ladislav Lázár, MVDr. Mária Krajničáková, Ústav experimentálnej veterinárnej medicíny, Duklianských hrdinov 1, 040 01 Košice

PRŮKAZ KMENŮ *HAEMOPHILUS PLEUROPNEUMONIAE* KOAGLUTINAČNÍM TESTEM

Z. Škollová, M. Goiš

ŠKOLLOVÁ, Z. — GOIŠ, M. (Vysoká škola veterinární, Brno; Výzkumný ústav veterinárního lékařství, Brno): *Průkaz kmenů Haemophilus pleuropneumoniae koaglutinačním testem*. Veter. Med. (Praha), 32, 1987 (8) : 469-477.

Kmeny *Haemophilus pleuropneumoniae* (*Actinobacillus pleuropneumoniae*) izolované z prasat a pocházející ze 66 lokalit, v nichž se vyskytla hemofilová pleuropneumonie prasat, byly sérologicky typizovány pomocí tří testů. Jako nejvhodnější pro typizaci se ukázal koaglutinační test, o něco méně citlivý byl kroužkově precipitační test (KPT) a málo uspokojivé výsledky byly zaznamenány při rychlé sklíčkové aglutinaci (RSA). Ze všech testovaných terénních izolátů *H. pleuropneumoniae* byl nejčastěji prokazován sérovar 2 (56 %), pak sérovar 1 (39 %) a jako sérovar 7 byl identifikován jeden kmen. Dva kmeny zatím nebyly určeny. Sérologická typizace kmenů byla provedena na základě jejich srovnání s osmi typovými sérovary *H. pleuropneumoniae*.

hemofilová pleuropneumonie prasat; diagnostika; sérologie; koaglutinační test; kroužkově precipitační test; rychlá sklíčková aglutinace

Haemophilus pleuropneumoniae (HPP) je primární patogen u prasat, který vyvolává hemoragicko-nekrotizující pneumonie často doprovázené fibrinózními pleuritidami. První výskyt hemofilové pleuropneumonie u prasat (HPP) byl popsán v Anglii (Matthews a Pattison, 1961), brzy nato také ve Spojených státech amerických (Olander, 1963), v Argentíně (Shope, 1964) a ve Švýcarsku (Nicolet a König, 1966).

Již z těchto prvních zpráv bylo zřejmé, že infekce *H. pleuropneumoniae* se vyskytuje na územích od sebe geograficky značně vzdálených. V dalším období byl *H. pleuropneumoniae* izolován ještě v mnoha jiných zemích — v Austrálii (Mylrea aj., 1974), v Belgii (Brassine a Dewaele, 1976), Bulharsku (Sidorov a Skorodumov, 1981), Dánsku (Nielsen, 1970), Finsku (Schulman aj., 1975), ve Francii (Perrin aj., 1979), v Holandsku (Nicolet, 1971), Japonsku (Chang aj., 1978), Kanadě (Schiefer aj., 1974), Maďarsku (Szazados a Kada, 1980), Mexiku (Pijoan aj., 1978), NDR (Küpel, 1975), Norsku (Ødegard, 1966), Švédsku (Gunnarson, 1975) a Taiwanu (Hsu aj., 1981). V ČSSR byla HPP prokázána teprve nedávno (Goiš aj., 1983).

V současné době je v ČSSR HPP vážným nakažovým problémem. Provádí se sérologická typizace jednotlivých izolátů *H. pleuropneumoniae*, aby se získal přehled o incidenci a prevalenci nákazy.

Pro tento účel se používají různé sérologické metody, které jsou vzájemně srovnávány a hodnoceny.

Dříve byly k sérologickým typizacím využívány hlavně tyto metody: sklíčková aglutinace (Mittal aj., 1982), pomalá aglutinace (Gunnarson aj., 1977), imunodifúze (Nicolet, 1971), imunofluorescence (Nicolet, 1971a; Rosendal a Boyd, 1982) a nepřímá hemaglutinace (Mittal aj., 1983a). Při sérotypizacích v USA byly navzájem srovnávány sklíčková aglutinace a nepřímá fluorescence, přičemž se ukázalo, že sklíčková aglutinace byla specifičtější a citlivější než imunofluorescence (Rapp aj., 1985).

V jiné práci se při srovnávání sklíčkové aglutinace (rychlé), kvantitativní plotnové aglutinace (pomalé) a kroužkové precipitace (Mittal aj., 1982) posledně jmenovaná reakce ukázala jako nejlepší hlavně proto, že pomocí ní mohly být typizovány i kmeny, které měly v obou aglutinačních testech autoaglutinační vlastnosti.

Před časem bylo také referováno o využití koaglutinačního testu ve spojitosti s typizací *H. pleuropneumoniae* (Mittal aj., 1983b). Bylo konstatováno, že tento test je citlivější než kroužkově precipitační test. Snadnost odečítání výsledků a vlastního provedení koaglutinačního testu byly dalšími výhodami tohoto postupu.

Principem koaglutinačního testu je různě intenzivní aglutinace, která vzniká v důsledku vazby specifických antigenů *H. pleuropneumoniae* zjištěných u infikovaných prasat za pomoci bakteriální suspenze kmene *Staphylococcus aureus*. Na tyto antigeny bylo navázáno antihe-mofilové sérum.

V této práci uvádíme postup přípravy koaglutinačního testu, popis jeho použití při určování sérovarové příslušnosti izolovaných kmenů a zhodnocení koaglutinačního testu v porovnání s kroužkovou precipitací a sklíčkovou aglutinací.

MATERIÁL A METODY

TYPOVÉ SÉROVARY *H. PLEUROPNEUMONIAE*

Všech osm typových sérovarů bylo získáno z Československé sbírky mikro-organismů, Univerzita J. E. Purkyně, Brno. Kmeny jsou vedeny pod čísla sbírky: 6252 — sérovar 1, 6253 — sérovar 2, 5871 — sérovar 3, 3647 — sérovar 4, 3648 — sérovar 5, 6204 — sérovar 6, 3800 — sérovar 7, 3803 — sérovar 8. Všechny typové kmeny byly po jedné až dvou pasážích na krevních agarrech naočkovány do žloutkových vaků slepičích vajec. Po čtyřiaadvacetihodinové inkubaci při teplotě 37 °C byly odebrané žloutkové substance testovány nejprve na čistotu kultur *H. pleuropneumoniae*, potom byly zataveny do skleněných ampulí a dlouhodobě skladovány ve vakuových kontejnerech na suchém ledě. Takto uskladněné kultury měly životnost nejméně dva roky. Kmeny použité ve vlastní práci nikdy nebyly pasážovány na běžných půdách více než třikrát.

TERÉNNÍ KMENY *H. PLEUROPNEUMONIAE*

Většina kmenů určených k typizaci byla získána od pracovníků SVÚ a ŠVÚ, kteří je izolovali při rutinních diagnostických vyšetřeních. Část kmenů byla izolována v naší laboratoři. Všechny terénní izoláty byly uchovávány stejně jako typové kmeny. Před vlastní sérotypizací byla u každého kmene ověřena pozitivita na ureázu a CAMP testem pozitivita na stimulaci hemolýzy v přítomnosti *Staphylococcus aureus*.

PŘÍPRAVA ANTIGENŮ PRO SÉROLOGICKOU TYPIZACI

Pro získávání antigenů z pevných půd se v naší práci na základě četných předpokusů ukázal jako nejvhodnější sójopeptonový agar (SPA) tohoto složení:

sójový pepton	20,0 g
enzymatický kaseinový hydrolyzát	10,0 g
agar pro krevní základ č. 4	34,0 g
deionizovaná voda	100,0 ml

úprava pH (5% NaOH) na 7,2

autoklávování 25 minut při 1,2 atm.

Po mírném zchlazení se přidá 5 % kvasnicového extraktu, připraveného z čerstvých pivovarských kvasnic (1 kg na 1 litr deionizované vody). Sójopeptonový agar se rozlévá na Petriho misky o průměru 9 cm.

Tekutá půda (sójopeptonový bujón SPB) měla stejné složení jako SPA, ale neobsahovala základ pro krevní agar. Stejný byl i postup přípravy, tj. úprava pH, autoklávování s následným přidáním 5 % kvasnicového extraktu.

Kmeny k testaci byly inokulovány na sójopeptonovém agaru dvojím způsobem:

1. žloutkové kultury kmenů byly po rozmrazení zředěny (10^{-1}) v pufovaném fyziologickém roztoku (PFR) o pH 7,4 a inokulovány (à 0,4 ml) na každou Petriho misku se sójopeptonovým agarem;

2. žloutkové kultury kmenů byly po rozmrazení nejprve předmnoženy v 10 až 20 ml sójopeptonového bujónu. Po šestihodinové až osmnáctihodinové inkubaci pak byly inokulovány (à 0,4 ml) na agary. Po osmnáctihodinové inkubaci byly kultury smyty pufovaným fyziologickým roztokem (o pH 7,4). Do PFR bylo přidáno 0,3 % formaldehydu. Na každou Petriho misku bylo použito ke smytí kultury 3 až 5 ml PFR. Potom byly kultury 20 minut centrifugovány při 6000 ot/min (Janetzki T 23), dvakrát promyty v PFR a resuspendovány opět v PFR na původní objem. Takto připravený antigen byl uchováván při teplotě 4 °C.

PŘÍPRAVA SUPERNATANTŮ Z BAKTERIÁLNÍCH ANTIGENŮ

Přibližně 2 ml suspenze bakteriálních antigenů byly zahřáty ve vodní lázni 30 minut při teplotě 56 °C, pak byly centrifugovány 20 minut při 4000 ot/min. Potom byly supernatanty použity v koaglutinačním a precipitačním testu.

PŘÍPRAVA ANTIHEMOFILOVÝCH SÉR NA KRÁLÍCÍCH

Imunizační schéma:

a) První den bylo aplikováno 5 ml antigenu s 20 % olejového adjuvans *i. m.* rozdělené do obou stehů.

b) 14. den bylo započato se sérií *i. v.* imunizací prováděných ve dvoudenních až třídenních intervalech vzestupnými dávkami téhož antigenu. Počáteční dávka 0,5 ml se postupně zvyšovala až na 2,0 ml. Celkem bylo v této fázi uskutečněno šest až sedm aplikací. Za osm až deset dní po poslední dávce byli králíci vykrveni. Séra byla uchovávána ve zmrazeném stavu.

VYSYCOVÁNÍ KRÁLÍCÍCH ANTIHEMOFILOVÝCH SÉR

K sedimentu získanému ze 2 až 3 ml suspenze jednoho nebo několika smíšených specifických antigenů bylo přidáno 2 ml antiheмоfilového séra. Tato směs byla důkladně homogenizována (dvě hodiny na třepače při teplotě 37 °C) a pak byla ponechána přes noc při teplotě 4 °C. Další den byla provedena centrifugace 20 minut (6000 ot/min). Potom byl sediment odstraněn. Uvedený postup byl zopakován ještě jednou stejným způsobem, tzn. že každé sérum bylo vysyceno dvakrát. Teprve takto připravené sérum bylo použito pro přípravu koaglutinačního reagens za předpokladu, že bylo znovu přezkoušeno na monospecifitu s homologními a heterologními antiséry.

PŘÍPRAVA KOAGLUTINAČNÍCH REAGENCIÍ PRO KOAGLUTINAČNÍ TEST (Kronvall, 1973)

Kmen *Staphylococcus aureus*-Cowan 1, vedený v Československé sbírce mikroorganismů, Univerzita J. E. Purkyně, pod číslem 3253, byl uchováván zmrazený

(-7°C) ve žloutkové kultuře. Pro přípravu reakce byl kmen nejprve předmnožen v sójopeptonovém bujónu (SPB) a po šesti hodinách inkubace byl vyočkován na sójopeptonové agary (SPA) v dávkách po 0,4 ml bakteriální suspenze na 40 Petriho misek (Ø 9 cm). Po osmnáctihodinové inkubaci byly kultury smyty pufovaným fyziologickým roztokem (PFR) v množství 10 ml na jednu misku, o pH 7,4, obsahujícím 0,15 M NaCl, 0,01 M Na₂HPO₄ a 0,01 M KH₂PO₄. Tato bakteriální suspenze byla dvakrát promyta, a to stejně jako byly promývány antigeny, které byly izolovány od infikovaných prasat. Pak byly bakterie opět resuspendovány v PFR s 0,5 % roztoku formaldehydu a suspenze byla ponechána hodinu při pokojové teplotě a hodinu při teplotě 37°C, pak byla opět dvakrát promyta v PFR, tj. v 10 % původního objemu. Suspenze pak byla zahřata ve vodní lázni na teplotu 80°C po dobu pěti minut. Na každý mililitr takto připravené stafylokokové suspenze bylo přidáno 0,025 ml specifického králíčího antiséra proti jednotlivým sérovarům *Haemophilus pleuropneumoniae*. Tato antiséra jsme získali imunizací králíků specifickými antigeny, které byly izolovány od infikovaných prasat. Po promíchání byla suspenze ponechána 30 minut při pokojové teplotě a potom byla opět dvakrát promyta PFR. Po konečném promytí byly bakterie resuspendovány opět ve 40 ml PFR obsahujícího 0,05 % azidu sodného a 0,1 % bovinního sérového albuminu, který byl dodán Ústavem sér a očkovacích látek v Praze. Takto připravené suspenze pro koaglutinaci jsme opakovaně použili po devíti měsících. Výsledky potvrdily, že jsou stabilní.

PROVEDENÍ KOAGLUTINAČNÍHO TESTU

Jedna kapka (0,05) stafylokokového koaglutinačního reagens byla smíchána na čistém podložním sklíčku se stejným množstvím testovaného antigenu izolovaného od prasat, nebo jeho supernatantu. Antigeny byly kultivovány na krevních agarrech s přidavkem 10 % defibrinovaných ovčích krvinek. Na téže Petriho misce byl simultánně kultivován *Staphylococcus aureus*. Směs byla nejprve důkladně smíchána tyčinkou a pak bylo sklíčkem kolébáno nejméně 20 sekund. Výsledek byl odečítán proti černému pozadí. Za negativní byla považována reakce, při které se koaglutinace neobjevila do dvou minut. Pozitivní reakce byla charakterizována zřetelnou aglutinací, která se podle intenzity objevila během několika sekund. Podle intenzity aglutinace byla reakce posuzována jako -, +, ++ a ++++. Každá reakce na ++ a ++++ byla posuzována jako pozitivní. Jako kontroly sloužily při koaglutinačním testu jednak stafylokokové suspenze bez séra, jednak stafylokokové suspenze s negativním králíčím sérem.

VÝSLEDKY A DISKUSE

V letech 1983 až 1985 byla uskutečněna sérologická typizace 86 kmenů předběžně označených jako *Haemophilus pleuropneumoniae*. K přesnějšímu stanovení jejich druhového určení byl každý kmen ověřen ureázovou aktivitou a reaktivitou v CAMP testu. Byly použity jen kmeny, které byly ureáza-pozitivní i CAMP-pozitivní.

Na základě úvodního šetření se dalo předpokládat, že téměř všechny použité kmeny patřily k *H. pleuropneumoniae*.

Vyšetřované kmeny byly izolovány z prasat nebo ze selat v rozmezí hmotnosti 9 až 90 kg. Ze dvou různých chovů byly izolovány dva kmeny z pneumonických plic selat pod prasnici. Vyšetřované kmeny byly izolovány celkem ze 66 podniků pro chov prasat. Ve 37 z nich byl prokázán sérovar 2, v dalších 26 sérovar 1, v jedné sérovar 7 a konečně dva kmeny, izolované ve dvou lokalitách, se zatím nepodařilo sérotypově určit.

Frekvence sérovaru 2 jako nejčastějšího vyvolavatele HPP představovala 56 % ze všech postižených lokalit (tab. I). Sérovar 1 měl rovněž vysokou frekvenci výskytu — 39 % (tab. II). Z toho je zřejmé, že tyto dva sérovary v ČSSR převládají. V 90 % ze všech chovů postižených

I. Výsledky typizací terénních kmenů určených jako sérovar 2 v koaglutinačním testu, kroužkově precipitačním testu a při rychlé sklíčkové aglutinaci při použití antisér proti osmi sérovarům — Results of the determination of the field strains identified as serovar 2 by the coagglutination test, ring precipitation test and rapid slide agglutination test using antisera against eight serovars

Sérotypizační testy	Koaglutinační test			KPT	RSA
	bakteriální antigeny	supernatanty	bujónové kultury		
Počet pozitivních reakcí z 37 kmenů typizovaných jako sérovar 2	37	37	37	34	23
Počet negativních reakcí	0	0	0	2	13
Počet heterologních reakcí	0	0	0	1(5) ⁺	0
Počet autoaglutinací	0	0	0	0	1

⁺ (sérovar) pozitivní reakce s jiným antiserem než proti sérovaru 2

II. Výsledky typizací terénních kmenů určených jako sérovar 1 v koaglutinačním testu, kroužkově precipitačním testu a při rychlé sklíčkové aglutinaci při použití antisér proti osmi sérovarům — Results of the determination of the field strains identified as serovar 1 by the coagglutination test, ring precipitation test and rapid slide agglutination test using antisera against eight serovars

Sérotypizační testy	Koaglutinační test			KPT	RSA
	bakteriální antigeny	supernatanty	bujónové kultury		
Počet pozitivních reakcí z 26 kmenů typizovaných jako sérovar 1	26	26	20	20	9
Počet negativních reakcí	0	0	6	5	16
Počet heterologních reakcí	0	0	0	1(5) ⁺	1(5) ⁺
Počet autoaglutinací	0	0	0	0	0

⁺ (sérovar) pozitivní reakce s jiným antiserem než proti sérovaru 1

HPP byl prokázán vždy jeden z těchto dvou sérovarů. Tato skutečnost předurčuje jejich zastoupení v případě výroby vícevalentní vakcíny. Teprve další šetření ukáží, jak dalece je sérovar 7 epizootologicky a vzhledem k četnosti výskytu významný.

Antigeny testovaných kmenů, použité v koaglutinačním testu, představovaly:

A) dvakrát promyté kultury z SPA, označené v tabulkách jako bakteriální antigeny,

B) supernatanty těchto antigenů,

C) kultury pomnožené v SPB, použité přímo bez sedimentace a promývání, označené jako bujónové kultury.

V kroužkově precipitačním testu (KPT) byly testovány supernatanty kmenů, v rychlé sklíčkové aglutinaci (RSA) pak bakteriální antigeny, tj. neopracované antigeny kmenů.

Všechny tři druhy antigenů reagovaly v koaglutinačním testu vzhledem k pozitivitě obdobně. Rozdíly se vyskytly pouze v míře intenzity reakcí. Zatímco bakteriální antigeny a supernatanty reagovaly téměř vždy koaglutinačními reakcemi na ++ až +++ , bujónové kultury dávaly reakce slabší, tj. na + až ++ . V KPT reagovalo pozitivně 34 ze 37 kmenů. Jedenkrát byla zaznamenána negativní reakce a jedenkrát u dalšího kmene byla reakce podobná jako při použití antigenu s antisérem proti sérovaru 1. KPT byl tedy poněkud méně spolehlivý než koaglutinační test. Značně nižší diagnostickou potenci vykazala RSA, ve které nečekaně reagovalo jen 62 %, tj. 23 kmeny; 12 kmenů reagovalo negativně a jeden kmen měl autoaglutinační vlastnosti, protože reagoval s většinou typových antisér. Pozitivní reakce v RSA byly většinou na + až ++ a všeobecně při nižší hustotě některých antigenů nebylo odečítání reakcí tak zřejmé a viditelné jako při koaglutinačním testu, v němž byla flokulace značně potencionována stafylokokem.

Z uvedených výsledků vyplývá, že koaglutinační test pro sérologickou typizaci je nejspolehlivější, ať již byly k typizacím použity bakteriální antigeny, nebo jejich kapsulární komponenty.

Koaglutinační test dával průkazně lepší výsledky než obě další metody, a to jak po stránce výraznosti reakcí, které usnadňují odečítání, tak i pokud se týká provedení celé reakce.

Jak vyplynulo z výsledků sérologických typizací terénních sérovarů 1 a 2, případy heterologních reakcí se v koaglutinačním testu téměř nevyskytly. Terénní kmeny reagovaly s příslušným sérovarovým koaglutininem pouze homologně.

Při křížových testacích typových sérovarů se ukázalo, že v citlivějších testech, tj. v pomalé zkumavkové aglutinaci a v koaglutinačním testu, reagovaly některé sérovary i s antiséry jiných sérovarů. V pomalé zkumavkové aglutinaci reagovaly křížově — heterologně — především sérovary 3, 6 a 8; kromě nich také již uvedený sérovar 1 reagoval pozitivně se sérowarem označeným jako sérovar 4. Obdobné nálezy byly zaznamenány i v koaglutinačním testu, v němž však již byla použita spolu s nevysycovanými séry i séra vysycovaná. Ukázalo se, že séra opakovaně vysycovaná těmi heterologními antigeny, s kterými dávala heterologní reakce (3, 6, 8), po vysycení tuto vlastnost ztratila, ale přitom si zachovala nezměněnou monospecifičnost.

Aplikace koaglutinačního testu v sérologické diagnostice umožňuje:

- A) konečnou diagnózu HPP, včetně sérologických typizací;
- B) zmapování výskytu sérovarů na území ČSSR;
- C) výběr kmenů pro přípravu vakcín proti HPP.

Z vyšetření většího počtu terénních kmenů *Haemophilus pleuropneumoniae*, zachycených v různých částech našeho území, by měla vyplynout informace o výskytu a prevalenci sérovarů u nás.

Tyto poznatky jsou nutné pro přípravu soupravy pro koaglutinační test; tato příprava by měla obsahovat sérovarově specifické koaglutinační reagencie, pomocí nichž by bylo možné určovat u nás se vyskytující sérovary.

Literatura

- BRASSINE, J. — DEWAELE, A.: Les maladies respiratoires du porc. Résultat d'une enquête anatomopathologique effectuée dans différents abattoirs. Ann. veter. Med., 120, 1976, s. 477-492.
- GOIŠ, M. aj.: Izolace hemofilů z prasat, kultivace, diagnostika a typizace. [Výzkumná zpráva.] Brno, Výzkumný ústav veterinárního lékařství 1983. 31 s.
- GUNNARSSON, A.: Hämophilusinfektionen hos swinen översikt av den serologiska diagnostiken (Haemophilus infection in pigs — diagnostic serology). Sven. Veter. Tidn., 27, 1975, s. 356-359.
- GUNNARSSON, A. E. — BIBERSTEIN, L. — HURVELL, B.: Serologic studies on porcine strains of *Haemophilus paraahaemolyticus pleuropneumoniae*: Agglutination reactions. Amer. J. veter. Res., 38, 1977, s. 1111-1114.
- CHANG aj.: Isolation and antigenic characterization of *Haemophilus paraahaemolyticus* from porcine pleuropneumonia. Jap. J. veter. Sci., 40, 1978, s. 103-107.
- HSU, G. S. — WENG, C. N. — CHOU, N. Y. aj.: An epizootic of *Haemophilus paraahaemolyticus pneumoniae* in swine. In: Proc. int. Pig. veter. Soc. Congr., 6, 1981, s. 19.
- KIUEP, H.: Diagnostische und epizootologische Beobachtungen zum Vorkommen der *Haemophilus pleuropneumoniae* beim Schwein. Mh. Veter.-Med., 30, 1975, s. 685-687.
- KRONVALL, G.: A rapid slide agglutination method for typing *Pneumococci* by means of specific antibody adsorbed to protein A containing *Staphylococci*. J. med. Microbiol., 6, 1973, s. 187-190.
- MATHEWS, P. R. J. — PATTISON, I. H.: The identification of a *Haemophilus*-like organism associated with pneumonia and pleurisy in the pig. J. comp. Path., 71, 1961, s. 44-52.
- MITTAL, K. R. — HIGGINS, R. — LARIVIÈRE, S.: Evaluation of slide agglutination and ring precipitation tests for capsular serotyping of *Haemophilus pleuropneumoniae*. J. clin. Microbiol., 15, 1982, s. 1018-1032.
- MITTAL, K. R. — HIGGINS, R. — LARIVIÈRE, S.: Determination of antigenic specificity and relationship among *Haemophilus pleuropneumoniae* serotypes by an indirect hemagglutination. J. clin. Microbiol., 17, 1983a, s. 787-790.
- MITTAL, K. R. — HIGGINS, R. — LARIVIÈRE, S.: Identification and serotyping of *Haemophilus pleuropneumoniae* by coagglutination test. J. clin. Microbiol., 18, 1983b, s. 1351-1354.
- MYLREA, P. J. — FRASER, G. — MacQUEEN, P. aj.: Pleuropneumonia in pigs caused by *Haemophilus paraahaemolyticus*. Aust. veter. J., 50, 1974, s. 255-259.
- NICOLET, J.: On porcine *Haemophilus* infection. III. Serological differentiation of *Haemophilus paraahaemolyticus*. Zbl. Bakt. Parasitenk., 1, 1971, s. 487-495.
- NICOLET, J.: Sur l'hémophilose du porc. III. Différentiation sérologique de *Haemophilus paraahaemolyticus*. Zbl. Bakt. Parasitenk. Infektionskrank. Hyg., Abt. I, R. A, 216, 1971a, s. 487-495.
- NICOLET, J. — KÖNIG, H.: Zur *Haemophilus pleuropneumoniae* beim Schwein. Bakteriologische, pathologisch-anatomische und histologische Befunde. Path. et Microbiol., 29, 1966, s. 301-306.
- NIELSEN, R.: Pleuropneumoni hos swin fremkalt af *Haemophilus paraahaemolyticus*. 1. Kliniske, patologisk-anatomiske og epidemiologiske undersøgelser. Nord. Veter.-Med., 22, 1970, s. 240-245.
- ØDEGAERD, Ø. A.: Pneumoni og sepsis hos gris fremkalt av *Haemophilus parainfluenzae*. (A study of pneumonia and sepsis in swine caused by *Haemophilus parainfluenzae*.) Nord. Veter.-Med., 18, 1966, s. 460-472.
- OLANDER, H. J.: A septicemic disease of swine and its causative agent, *Haemophilus paraahaemolyticus*. Ph.D. Thesis, University of California, Danis, 1963.
- PERRIN, G. G. — LORANT, J. M. — BRUN, J. Y.: Isolement et identification de *Haemophilus pleuropneumoniae* dans plusieurs élevages porcins de Bretagne. Recu. Méd. vétér., 155, 1979, s. 155-171.
- PIJOAN, A. C. — OCHOA, U. G. — MENDEZ, M. D.: Aislamiento de *Haemophilus paraahaemolyticus* de cerdos con pneumonia. Tec. Pec. Mex., 34, 1978, s. 85-87.
- RAPP aj.: Serotyping of *Haemophilus pleuropneumoniae* by rapid slide agglutination and incidence fluorescent antibody test in swine. Amer. J. veter. Res., 46, 1985, s. 181-184.
- ROSENDAL, S. — BOYD, D. A.: *Haemophilus pleuropneumoniae* serotyping. J. clin. Microbiol., 16, 1982, s. 840-843.

SHOPE, R. E.: Porcine contagious pleuropneumonia. I. Experimental transmission, etiology and pathology. *J. exp. Med.*, 119, 1964, s. 354-368.

SCHIEFER, B. — MOFFATT, R. E. — GREENFIELD, J. aj.: Porcine *Haemophilus paraahaemolyticus pneumoniae* in Saskatchewan. I. Natural occurrences and findings. *Can. J. comp. Med.*, 38, 1974, s. 99-104.

SCHULMAN, A. — SCHILDT, R. — HARKONEN, J. A. E.: Pleuropneumonia caused by *Haemophilus paraahaemolyticus* in a hog house. *Suom. Eläin*, 81, 1975, s. 116-120.

SIDOROV, M. A. — SKORODUMOV, D. J.: Svojstva *Haemophilus pleuropneumoniae* vydělených od bolných sviněj. *Veterinarija*, 1, 1981, s. 45-47.

SZAZADOS, I. — KADA, I.: A *Haemophilus paraahaemolyticus* okozta tudomellhar-tyaguyllada hazai elofordulasa serteseinken. *Magy. állator. Lap.*, 35, 1980, s. 335-341.

Došlo dne 26. 3. 1986

ШКОЛЛОВА, Э. — ГОИШ, М. (Ветеринарный институт Брно; Научно-исследовательский институт ветеринарии, Брно): *Доказательство штаммов Haemophilus pleuropneumoniae коаггутинационным тестом*. *Veter. Med. (Praha)*, 32, 1987 (8) : 469-477.

Штаммы *Haemophilus pleuropneumoniae* (*Actinobacillus pleuropneumoniae*) изолированные из свиней и происходящие из 66 мест, в которых была обнаружена гемофильная плевропневмония свиней, были серологически типизированы при помощи трех тестов. Как наиболее подходящий для типизации был коаггутинационный тест, чуть меньше чувствительным был тест кольцепреципитации (КПТ) и неуспокаивающие результаты были отмечены при быстрой агглютинации на стекле (БАС). Из всех тестированных местных изолятов *H. pleuropneumoniae* чаще всего устанавливался серовар 2 (56%), потом серовар 1 (39%) и, как серовар 7 был идентифицирован один штамм. Два штамма затем не были определены. Серологическая типизация штаммов была проведена на основе их сравнения с восьмью типовыми сероварами *H. pleuropneumoniae*.

гемофильная плевропневмония свиней; постановка диагноза; серология; коаггутинационный тест; тест кольцепреципитации, агглютинация на стеклышке

ŠKOLLOVÁ, Z. — GOIŠ, M. (University of Veterinary Medicine, Brno; Veterinary Research Institute, Brno): *Detection of the Strains of Haemophilus pleuropneumoniae by the Coagglutination Test*. *Veter. Med. (Praha)*, 32, 1987 (8) : 469-477.

Three tests were used for the serological identification of the strains of *Haemophilus pleuropneumoniae* (*Actinobacillus pleuropneumoniae*) isolated from pigs and coming from 66 sites where pleuropneumonia, caused by *Haemophilus*, occurred in pigs. The coagglutination test was found to be the best for the identification of the causal agent; the ring precipitation test was somewhat less sensitive, and worse results were obtained when rapid slide agglutination was used. Of all the field isolates of *H. pleuropneumoniae*, serovar 2 occurred most frequently (56%), followed by serovar 1 (39%); one strain was identified as serovar 7. Two strains have remained unidentified. The serological identification of the strains was performed on the basis of their comparison with eight type serovars of *H. pleuropneumoniae*.

Haemophilus pleuropneumoniae in pigs; diagnosis; serology; coagglutination test; ring precipitation test; rapid slide agglutination

ŠKOLLOVÁ, Z. — GOIŠ, M. (Veterinärmedizinische Hochschule, Brno; Forschungsinstitut für Veterinärmedizin, Brno): *Nachweis von Stämmen Haemophilus pleuropneumoniae mittels Koagglutinationstest*. *Veter. Med. (Praha)*, 32, 1987 (8) : 469-477.

Die aus Schweinen und aus 66 Lokalitäten wo die hämophile Pleuropneumonie der Schweine aufgetreten war isolierten Stämme *Haemophilus pleuropneumoniae* (*Actinobacillus pleuropneumoniae*) wurden anhand von drei Tests serologisch typisiert. Als geeignetester für die Typisierung kann der sog. Koagglutinationstest angesehen werden, weniger empfindlicher war der Ringpräzipitationstest (KPT) und ungenügende Ergebnisse wurden bei einer schnellen Glasagglutination (RSA) verzeichnet.

Von allen getesteten Isolaten von *H. pleuropneumoniae* wurden am häufigsten der Serovar 2 (56 %), dann der Serovar 1 (39 %) nachgewiesen, als Serovar 7 wurde nur ein Stamm identifiziert. Zwei Stämme sind undefiniert. Die serologische Typisierung der Stämme wurde aufgrund deren Vergleichs mit acht Typenserovaren *H. pleuropneumoniae* durchgeführt.

hämophile *Pleuropneumoniae* der Schweine; Diagnostik; Serologie; Koagglutinationstest; Ringpräzipitationstest; schnelle Glasagglutination

Adresy autorů:

MVDr. Zora Škollová, Vysoká škola veterinární, Palackého 1-3, 612 42 Brno
MVDr. Milan Goiš, CSc., Výzkumný ústav veterinárního lékařství, Hudcova 70,
621 32 Brno

Vybrané nejnovější tituly z oboru veterinární medicína ve fondu ÚZLK

- PUOTUNEN-REINERT, A.: **Assessing surgical cases of equine colic.**
Helsinki 1986. D 70.851 14
- Respiratory pigments in animals.**
Berlin 1985. D 78.627
- SCHEBITZ, H.: **Atlas der Röntgenanatomie von Hund und Katze.**
Berlin-Hamburg 1986. B 1.958
- SCHEBITZ, H.: **Atlas der Röntgenanatomie des Pferdes.**
Berlin-Hamburg 1986. B 1.957
- SCHMIED, D. O.: **Blutgruppen bei Tieren.**
Stuttgart 1985. D 79.025
- THOMPSON, R. G.: **Ogólna patologia weterynaryjna.** Překl. z angl.
General veterinary pathology.
Warszawa 1986. D 78.814
- Tierärztliche Geburtskunde.**
Stuttgart 1984. D 79.026
- VANDEVELDE, M.: **Einführung in die veterinärmedizinische Neuro-**
logie. Pareys Studentexte 57.
Berlin 1987. D 65.241 57

ETIOLOGIE A PATOGENEZE PAPULÓZNÍ DERMATITIDY VÝKRMOVÝCH PRASAT

J. Raszyk a kol.

RASZYK, J. a kol. (Výzkumný ústav veterinárního lékařství, Brno): *Etiologie a patogenese papulózní dermatitidy výkrmových prasat*. Veter. Med. (Praha), 32, 1987 (8) : 479-488.

Podle současných znalostí považujeme papulózní dermatitidu výkrmových prasat za polyfaktoriální chorobu idiosynkrického charakteru. Projevu se pouze u části populace výkrmových prasat (u tzv. rizikové části populace), a to jen při zvýšeném zatížení stájového prostředí škodlivými látkami. Rizikovou částí populace prasat chápeme disponované jedince, kteří se nedokáží přizpůsobit komplexní zátěži prostředí velkochovů prasat. Při snižování obsahu škodlivých látek ve stájovém prostředí začíná papulózní dermatitida ustupovat a riziková část populace výkrmových prasat je bezpříznakově (latentně) ukryta v populaci. Za hlavní a prvotní příčinu papulózní dermatitidy výkrmových prasat považujeme neschopnost disponovaných jedinců rychle a účinně eliminovat cizorodé látky (zejména zinek, olovo, aflatoxin B₁, rtuť a kadmium) ze svého organismu. Všechny ostatní změny, zejména mutagenní a imunosupresivní účinky i papulózní eflorescence na kůži, vznikají až druhotně. Papulózní eflorescence v podstatě odhalily méně odolné a disponované jedince z dané populace prasat. Podle našeho soudu důležitou roli v odolnosti prasat hrají tři faktory: výkonnost detoxikačních mechanismů, přiměřená funkce imunitního systému a účinnost reparačních mechanismů genetického aparátu. cizorodé látky; biotransformace; imunosupresivní a mutagenní účinky; kožní léze

Od roku 1981 se v některých chovech prasat v ČSR vyskytovala u výkrmových prasat papulózní dermatitida s doposud neobjasněnou etiologií a patogenézou.

Na základě zjištěných poznatků (Raszyk aj., 1986a, c, f, 1987) a jejich zhodnocení na úrovni současných vědeckých poznatků jsme dospěli k představě o etiologii a patogenезi papulózní dermatitidy výkrmových prasat, kterou zde předkládáme.

MATERIÁL A METODY

Problematiku etiologie a patogenезe papulózní dermatitidy jsme řešili od června roku 1983 do června roku 1986 ve třech chovech prasat na okrese Hodonín v oblasti se silnou důlní činností (dobývání lignitu): ve velkovýkrmně D., kde se papulózní dermatitida vyskytovala u výkrmových prasat, ve výkrmně Č., kde se papulózní dermatitida nikdy nevyskytovala a nevyskytuje se ani nyní, a v rozmnožovacím velkochovu prasat M., ve kterém se produkují prasničky do užitkových chovů, ze kterých jsou dodávána prasata do velkovýkrmny D. Ve sledovaných chovech jsou prasata chována ve velkovýrobních podmínkách a jsou krmena komerčními kompletními krmnými směsmi. V chovu D. jsou do výkrmu zastavováni trojplemenní kříženci plemen bílé ušlechtilé (BU) — landrase (L) — duroc (D), v chovu Č. dvouplemenní kříženci BU — přeštické černostrakaté (Pc) a v chovu M. jsou chovány prasnice plemene BU, na které jsou připouštěni kanci plemene L. Celkově bylo klinicky vyšetřeno 9600 prasat.

Biologickému a patohistologickému vyšetření kůže bylo podrobeno 80 prasat.

Použité metody i laboratorní postupy popsali R a s z y k aj. (1986a). V chovu Č. a v chovu M. bylo vyšetření kůže zaměřeno pouze na stafylokoky.

Chemicky jsme vyšetřili vzorky kůže, podkožního tuku, svaloviny, ledvin, jater a pankreatu 46 prasat. Místa odběru vzorků jednotlivých tělesných orgánů, použité metody i laboratorní postupy popsali R a s z y k aj. (1986e, 1987).

Imunologicky bylo vyšetřeno 110 prasat. Metody popsali R a s z y k aj. (1986f). Pozdní buněčný typ přecitlivělosti byl testován stafylokokovým alergenem (0,2 ml intradermálně). Fagocytární aktivitu leukocytů jsme sledovali modifikovaným testem, který uvedli V ě t v í č k a aj. (1982).

Cytogeneticky byla vyšetřena 32 prasata. Cytogenetické metody popsali R u b e š (1984) a R a s z y k aj. (1986f).

Získané výsledky byly vyhodnoceny běžnými matematicko-statistickými postupy. Pokud jsou uvedeny odchylky od průměru, jde o směrodatné odchylky.

VÝSLEDKY

KLINICKÉ VYŠETŘENÍ

Klinický průběh papulózní dermatitidy u výkrmových prasat v chovu D. popsali R a s z y k aj. (1986c). V chovu M. jsme papulózní dermatitidu s obdobným průběhem jako u výkrmových prasat v chovu D. zjistili u prasniček (od hmotnosti 30 kg) a prasnic. Neshledali jsme ji u sajících a odstavených selat ani u plemenných kanců.

V chovu D. kolísal v letech 1983 až 1984 výskyt papulózní dermatitidy u výkrmových prasat od 10 % do 40 %. V roce 1985 se výskyt snížil na 3 % až 15 %. V roce 1986 (sledováno do června) se papulózní dermatitida u výkrmových prasat nevyskytovala. V chovu Č. se v letech 1983 až 1986 (sledováno do června) papulózní dermatitida u výkrmových prasat nevyskytovala. V chovu M. byla v roce 1985 zjištěna u 4 % prasniček a 13 % prasnic. V roce 1986 (sledováno do června) se výskyt papulózní dermatitidy v chovu M. výrazně snížil, u prasniček na 1,0 až 1,5 % a u prasnic na 2 až 3 %.

BIOLOGICKÉ A PATOHISTOLOGICKÉ VYŠETŘENÍ KŮŽE

Výsledky biologického a patohistologického vyšetření kůže u výkrmových prasat z chovu D. uvedli R a s z y k aj. (1986a).

V chovu Č. nebyl z kůže klinicky zdravých výkrmových prasat izolován *Staphylococcus aureus*, pouze u 25 % kusů byl izolován *Staphylococcus epidermidis*. V chovu M. nebyl z kůže prasnic a prasniček s papulózní dermatitidou izolován *Staphylococcus aureus*, ale u 50 % postižených zvířat byl izolován *Staphylococcus epidermidis*. Pouze u 10 % prasniček a prasnic bez kožních změn byl z kůže izolován *Staphylococcus intermedius*.

Ze všech vzorků kůže byla izolována běžná saprofytická bakteriální flóra: *Streptococcus alfa hem.*, *Bacillus* spp., *Streptomyces* spp., ojediněle pak *Enterobacter* spp., *E. coli*.

CHEMICKÉ VYŠETŘENÍ TĚLESNÝCH ORGÁNŮ

Chemické vyšetření tělesných orgánů výkrmových prasat v chovu D. uvedli R a s z y k aj. (1987). Inhibitory cholinesterázy byly zjištěny v játrech obou skupin prasat v chovu D., a to na dva až čtyři křížky.

Klinicky zdravá výkrmová prasata z chovu Č a klinicky zdravá prasnička z chovu M. měly ve srovnání s prasaty z chovu D. s papulózní der-

matitidou v kůži, ve svalovině, v ledvinách a játrech až několikanásobně nižší obsah kadmia, rtuti, olova a aflatoxinu B₁. Pouze prasnička z chovu M. měla v kůži vyšší obsah kadmia a olova. Inhibitory cholinesterázy byly zjištěny v játrech prasat v chovu Č. na dva až tři křížky, v játrech prasničky v chovu M. na jeden křížek (R a s z y k aj., 1986e).

IMUNOLOGICKÉ VYŠETŘENÍ

Imunologické vyšetření výkrmových prasat v chovu D. zveřejnili R a s z y k aj. (1986f).

Klinicky zdravá výkrmová prasata z chovu Č. neměla sníženou koncentraci sérových imunoglobulinů (IgG, IgM, IgA) a ani v dalších sledovaných imunologických parametrech nebyly zjištěny odchylky.

V chovu M. měly prasničky a prasnice s papulózní dermatitidou ve srovnání s prasničkami a prasnicemi bez kožních změn výraznou eozinofilii (60 % postižených kusů mělo 8 % a více eozinofilů v diferenciálním rozpočtu bílých krvinek) a mírně snížený index fagocytární aktivity leukocytů (3,8 proti 4,1). Prasnice a prasničky bez kožních změn měly snížené sérové koncentrace IgA o 38,6 % a IgM o 17,5 %. Prasničky a prasnice s papulózní dermatitidou měly obě třídy imunoglobulinů sníženy mnohem výrazněji (IgA o 51,9 %, IgM o 28,4 %). Snížení sérových hladin IgG u obou skupin prasniček a prasnic v chovu M. bylo velmi mírné.

CYTOGENETICKÉ VYŠETŘENÍ

Cytogenetické vyšetření výkrmových prasat v chovu D. popsali R a s z y k aj. (1986f). Klinicky zdravá výkrmová prasata z chovu Č. měla $3,00 \pm 2,02$ aberantních buněk. V chovu M. měly prasničky a prasnice s papulózní dermatitidou $4,40 \pm 1,14$ aberantních buněk a prasničky a prasnice bez kožních změn $4,00 \pm 1,22$ aberantních buněk.

DISKUSE

Z dostupné literatury se nám nepodařilo zjistit, že by obdobná papulózní dermatitida výkrmových prasat byla zjištěna i u prasat v zahraničí. Zaznamenali jsme však informaci pracovníků z Kombinátu chovu a výkrmu prasat v Eberswalde (NDR), že jakost vepřových kůží ovlivňují i nespecifická kožní onemocnění výkrmových prasat a že by bylo vhodné vědecky objasnit, zda nespecifická kožní onemocnění výkrmových prasat nevyvolává nevhodné stájové klima, stájový prach, jednotlivé složky krmiv či podaná léčiva (M ö l l e r a P a g e n k o p f, 1985).

V průběhu sledování (červen 1983 až červen 1986) jsme zaznamenali výrazné snižování výskytu papulózní dermatitidy u výkrmových prasat v chovu D. i u prasniček a prasnic v chovu M. Ve stejném období jsme zjistili i trend ke snižování obsahu cizorodých látek v krmných směsích pro prasata i ve stájovém prachu ve velkochovech prasat (R a s z y k aj., 1986b). V krmných směsích se snížil zejména obsah olova, kadmia, rtuti, DDT a aflatoxinu B₁, pouze obsah zinku se zvyšoval. Obdobně se snižovala i koncentrace mědi, manganu, kadmia, rtuti, DDT, aflatoxinu B₁ a polychlorovaných bifenylů ve stájovém sedimentovaném prachu, jen koncentrace zinku, olova a lindanu ve stájovém prachu stoupala.

Prostupnost kůže prasat pro cizorodé látky se velmi podobá prostupnosti lidské kůže, obvykle je však o něco vyšší (B a r t e k aj., 1972).

Perkutánně se do organismu mohou vstřebávat organické sloučeniny olova — tetraetylolovo (Gerhardson aj., 1986), rtuť — fenymerkuri-chlorid (Fuska, 1984), chróm — zvláště šestimocný Cr^{6+} (David, 1980a), lindan (Surgeoner a Flannigan, 1986), DDT (Hawkins a Reifenrath, 1984), polychlorované bifenyly (Goldstein, 1979) a aflatoxin B₁ (Riley aj., 1985). Naopak potom se mohou z těla vylučovat olovo (Gerhardson aj., 1986), rtuť (David, 1980b) a arzén (Piskač aj., 1985).

V etiologii kožních lézí u prasat různého věku se často uplatňují stafylokokové infekce zastoupené druhy *Staphylococcus aureus*, *S. hyicus* a *S. epidermidis* (Devriese, 1977). Závažnější stafylokokovou infekcí onemocní prasata s alterovanými obrannými mechanismy, včetně stavů přecitlivělosti. Za hlavní příčiny vzniku chronických stafylokokových onemocnění se v současnosti považují (Výmola, 1983): 1. poruchy nespecifické imunity; 2. deficiencie imunoglobulinů, a to především třídy IgM; 3. nevyvážená nebo kolísavá celulární a humorální imunita; 4. perzistence těch patogenních kmenů stafylokoků na kůži, které vyvolaly stafylokokovou infekci; 5. kožní přecitlivělost hostitele k některým komponentám stafylokoků, projevující se kožní přecitlivělostí časného nebo oddáleného typu. Z pěti hlavních příčin stafylokokových infekcí jsme v chovu s nejvyšším výskytem papulózní dermatitidy (chov D.) doložili existenci tří, a to deficienci IgM, perzistenci patogenních stafylokoků (*S. aureus*) na změněné kůži prasat a kožní přecitlivělost oddáleného typu u prasat s papulózní dermatitidou.

U lidí je poměrně časté chronické zánětlivé papulózní kožní onemocnění, nazvané *lichen ruber*. Etiologie tohoto onemocnění je doposud neznámá. Vzhledem k objasňování etiologie a patogeneze papulózní dermatitidy výkrmových prasat je pro nás cenná informace, že lichenu ruber podobné papulózní eflorescence se často objevují u dělníků pracujících s těžkými kovy (Horáková, 1985).

Některé škodliviny, které jsme zjistili ve stájovém prostředí výkrmových prasat (Raszyk aj., 1986d), mají i dermatotoxické účinky. K nejčastějším kontaktním alergenům u lidí patří chróm a rtuť. Fenymerkuri-chlorid při působení na kůži vyvolává toxické dermatitidy (David, 1980b). Olovo, rtuť a kadmium působí inhibičně na aktivitu enzymů v hlubších vrstvách epidermis (Musil, 1981). Olovo navíc ještě vyvolává spasmus kožních kapilár a arteriál (Švestka, 1978). Nedostatek zinku působí u prasat parakeratózu (Černohous, 1966). Působením lindanu na kůži může vznikat urtika nebo kontaktní dermatitida (Filipová, 1982). Při otravě lidí hexachlorbenzenem vzniká *porfyría cutanea tarda* (na kůži se tvoří červené papuly a hyperpigmentace) (Wolf aj., 1985). Polychlorované bifenyly vykazují dermatotoxické účinky u králíků, opic a lidí (Wassermann aj., 1979), ne však u prasat. Aflatoxin B₁ aplikovaný na kůži králíků vyvolává v nízkých dávkách tvorbu intraepidermálních vezikul a ve vysokých dávkách nekrózu epidermis a chlupových folikulů (Joffe a Ungar, 1969). Také vdechování spór plísní může navozovat alergické dermatitidy (Piskač aj., 1985). Profesionální poškození kůže u pracovníků v zemědělské velkovýrobě monograficky zpracoval Kalenský (1985).

Výkrmová prasata s papulózní dermatitidou (chov D.) měla v tělesných orgánech koncentrace zinku, olova a aflatoxinu B₁ vyšší než prasata bez kožních změn z téhož chovu. Klinicky zdravá výkrmová prasata

(chov Č.) měla ve srovnání s prasaty s papulózní dermatitidou z chovu D. v kůži, svalovině, ledvinách a játrech až několikanásobně nižší obsah kadmia, olova, rtuti a aflatoxinu B₁. Přitom ve stájovém sedimentovaném prachu odebíraném v chovu Č. byly ve srovnání s prachem z chovu D. zjištěny vyšší průměrné koncentrace olova, kadmia, zinku, manganu, polychlorovaných bifenylů, DDT a lindanu. Pouze koncentrace rtuti a aflatoxinu B₁ byly nižší než v chovu D. (R a s z y k aj., 1986e).

Pro celkovou biotransformaci cizorodých látek mají největší význam játra. Detoxikační reakce převážně probíhají ve fosfolipidových membránách endoplazmatického retikula jaterních buněk (S a u d e k, 1984).

P a u l í k (1983) vyšetřil deset výkrmových prasat s papulózní dermatitidou z chovu D. a dvě zdravá kontrolní prasata z jiné lokality. U prasat s papulózní dermatitidou našel vyšší koncentraci rtuti a olova (ve svalech, játrech a ledvinách), zvýšení gama-glutamyltransferázy (v játrech a ledvinách) a zvýšení lipoperoxidační aktivity (v játrech) než u prasat kontrolních. Usoudil, že u výkrmových prasat s papulózní dermatitidou dochází k poškození membránových a enzymatických systémů jater a ledvin.

Domníváme se, že výkrmová prasata postižená papulózní dermatitidou mají sníženou aktivitu biotransformačních enzymů podílejících se na eliminaci cizorodých látek z organismu. Tím se opoždí vylučování a dochází k zadržování cizorodých látek ve vnitřním tělním prostředí prasat. Zadržené škodliviny pak navozují v organismu prasat četné patofyziologické stavy.

Inhibitory cholinesterázy, zjištěné v játrech, nebyly identifikovány jako rezidua organofosforových pesticidů a insekticidů na bázi N-metylkarbamátů. Ze škodlivin prokázaných v játrech prasat inhibují cholinesterázu rtuť (W o l f aj., 1985) a zinek (P i s k a č aj., 1985).

V chovech prasat s výskytem papulózní dermatitidy byly v krevním séru prasat zjištěny snížené koncentrace imunoglobulinů tříd IgM a IGA. U prasat s papulózní dermatitidou se však projevoval výraznější pokles imunoglobulinů v krvi. Dále byla u těchto prasat zjišťována leukocytóza, eozinofilie a snížený index fagocytární aktivity leukocytů. Projevoval se u nich také pozdní (buněčný) typ přecitlivělosti na stafylokokový alergen. Prasata s papulózní dermatitidou tedy měla nižší stupeň výkonnosti imunitních mechanismů. Imunodeficitní terén je pak predispozicí pro četné kožní choroby.

Ze škodlivin, které jsme zjistili ve stájovém prostředí prasat (R a s z y k aj., 1986d), byly imunosupresivní účinky doloženy u těchto látek: olovo (L u s t e r aj., 1978; C i b u l k a aj., 1985), kadmium (B o z e l k a aj., 1978), herbicidy triazinové řady (G i u r g e a aj., 1981), polychlorované bifenylly (W a s s e r m a n n aj., 1979) a aflatoxiny (V e r e š, 1986).

Zvýšený počet leukocytů v periferní krvi se zjišťuje také u otrav těžkými kovy (H r u b i š k o aj., 1981). U prasat je eozinofilie zjišťována při alergických a anafylaktických stavech, mykotoxikózách, chronických infekčních chorobách a parazitárních nemocech (J a g o š aj., 1981).

Olovo a kadmium ovlivňují nespecifickou imunitu tím, že inhibují fagocytární aktivitu lidských polymorfonukleárních leukocytů (B a g i n s k i, 1985). Také velké koncentrace zinku snižují motilitu, fagocytózu a antibakteriální kapacitu polymorfonukleárních (C h a n d r a a T e j p a r, 1983). Doposud jsou však lépe prostudovány poruchy buněčné imunity při deficienci zinku (M a t u š k a, 1986).

Šach aj. (1979) prokázali vysoký stupeň alergizace u ošetřovatelů prasat ve velkochovech. Často u nich zjišťovali chronickou kopřivku (u 25 %), kontaktní ekzém (u 8 %) a zvýšené hladiny protilátek proti antigenním frakcím *Candida albicans* i proti plísním *Aspergillus fumigatus* a *Aspergillus niger* (u 15 až 40 %). Alergická kontaktní dermatitida byla zjištěna i u prasat (Bilský a Thomson, 1984).

U prasat s papulózní dermatitidou by bylo vysoce účelné sledovat sérové reaginy (imunoglobuliny typu IgE), které jsou u lidí při atopických alergiích (zděděné alergie časného typu) zvýšené. Bohužel, v současné době nám není známo (ani v ČSSR ani v zahraničí) imunologické pracoviště, které by IgE u prasat stanovovalo.

Wagner a Wagnerová (1981) předpokládají, že deficit určitého (nebo určitých) obranného faktoru se projeví jistým vlivem prostředí jen u těch příslušníků populace, kteří pro to mají genetické dispozice.

U prasat s papulózní dermatitidou byl zjištěn zvýšený výskyt aberantních buněk v periferních lymfocytech. Dokládá to zásah škodlivin až do jádra buňky, kde vyvolávají strukturální poruchy chromozomů.

V klinicky zdravém chovu výkrmových prasat (Č.) byly zjištěny tři aberantní buňky na 100 vyšetřených periferních lymfocytů. V chovu s výskytem papulózní dermatitidy (D.) měla výkrmová prasata bez kožních změn 3,60 aberantních buněk, ale prasata postižená papulózní dermatitidou 9,40 aberantních buněk. Prasnice z klinicky zdravého chovu měly 3,58 aberantních buněk (Rubeš, 1984). V chovu s výskytem papulózní dermatitidy (M.) měly prasnice i prasničky bez kožních změn čtyři aberantní buňky, ale prasnice i prasničky s papulózní dermatitidou 4,40 aberantních buněk.

Ze škodlivin, které jsme zjistili ve stájovém prostředí prasat (Razýk aj., 1986d), byly mutagenní účinky doloženy u těchto látek: organické sloučeniny rtuti (Rosival, 1983), olovo (Cibulka, 1982; Fúška, 1984), kadmium (Degraeve, 1981), chróm (Fúška, 1984), lindan, DDT a triaziny (Veleminský, 1975; Wolf aj., 1985), polychlorované bifenyly (Holá a Řezníček, 1985) a aflatoxiny (Woodhead, 1982).

Podle našeho soudu hrají v odolnosti prasat důležitou roli tři faktory: výkonnost detoxikačních mechanismů, přiměřená funkce imunitního systému a účinnost reparačních mechanismů genetického aparátu.

Podle současných znalostí považujeme papulózní dermatitidu výkrmových prasat za polyfaktoriální chorobu idiosynkričního charakteru (v etiologii se uplatňují zevní vlivy na zděděném dispozičním podkladě). Papulózní dermatitida se projevuje pouze u části populace výkrmových prasat (tzv. rizikové části populace), a to jen při zvýšeném zatížení stájového prostředí škodlivými látkami. Rizikovou částí populace chápeme disponované jedince, kteří se nedokáží přizpůsobit komplexní zátěži velkochovů prasat. Při snižování obsahu škodlivých látek ve stájovém prostředí začíná papulózní dermatitida ustupovat (mizet) a riziková část populace výkrmových prasat je bezpříznakově (latentně) ukryta v populaci. Za hlavní a prvotní příčinu papulózní dermatitidy výkrmových prasat považujeme neschopnost disponovaných jedinců rychle a účinně eliminovat cizorodé látky z jejich vnitřního tělního prostředí (zejména zinek, olovo, aflatoxin B₁, rtuť a kadmium). Všechny ostatní změny (zejména imunosupresivní a mutagenní účinky), nálezy stafylokoků na kůži, včetně kožních papulózních eflorescencí, považujeme za druhotné

a následně. Papulózní eflorescence nám v podstatě odkryly méně odolné a disponované jedince z dané populace prasat. Kvalita dané populace prasat (její odolnost) je významně ovlivňována výší procentuálního zastoupení tzv. rizikové části populace prasat.

Perspektivní možnosti prevence dermatitid (včetně papulózní dermatitidy) v podstatě zahrnují cesty, jimiž lze zvyšovat odolnost populací prasat ve velkochovech: 1. posilovat adaptační a obranné mechanismy prasat indikovanou a záměrnou aplikací specificky účinných látek (biofaktorů), imunostimulačních přípravků (např. Impulsin, imunostimulátory typu peptidoglykanů) či imunomodulačních přípravků (např. levamisol, který normalizuje defektní specifickou imunitu zprostředkovanou buňkami; metisoprinol, který má imunostimulační a antivirové účinky; dializovaný extrakt homogenátu leukocytů periferní krve); 2. odkrývat a postupně eliminovat rizikovou část populace prasat (tj. jedince, kteří se nedokáží přizpůsobit komplexní zátěži prostředí velkochovů prasat) pomocí vybraných biochemických metod (vybavení a aktivita detoxikačních enzymů), imunologických metod (pokrývajících oblast nespecifické, buněčné a humorální imunity), cytogenetických metod (nestabilitní strukturální chromozomální aberace), event. dalších vhodných metod; 3. zaměřit šlechtění prasat i na jejich odolnost a přizpůsobivost podmínkám velkochovů; 4. prohloubit studium problematiky dědičné predispozice k poškození kůže noxami zevního prostředí, které se řadí mezi nejvýznamnější perspektivní úkoly dermatologie; 5. zvýšit úroveň znalostí o biochemii, fyziologii a patofyziologii kůže prasat.

Ekonomické ztráty způsobené papulózní dermatitidou prasat masnému a kožedělnému průmyslu byly podrobně vyhodnoceny v roce 1983 (v době maximálního výskytu papulózní dermatitidy). V tomto roce bylo v České socialistické republice zpracováno 726 tun vepřových kůží získaných z prasat postižených papulózní dermatitidou. Při průměrné ztrátě 7,66 Kčs na jeden kilogram postižených kůží činí celková roční ztráta 5 561 160 Kčs.

Kožní změny jsme ve sledovaných chovech zaznamenali i u části ošetrovatelů prasat. Pracovníci Výzkumného ústavu veterinárního lékařství v Brně seznámili lékařskou službu (Krajská hygienická stanice v Brně, klinika chorob z povolání lékařské fakulty Univerzity J. E. Purkyně v Brně) s poznatky o obsahu škodlivých látek ve stájovém prostředí velkochovů prasat (stájový prach, krmné směsi, napájecí voda). V současné době uskutečňuje lékařská služba komplexní vyšetření zdravotního stavu ošetrovatelů prasat v těchto chovech.

Literatura

- BAGINSKI, B.: Effects of lead and cadmium on viability and phagocytosis of human polymorphonuclear leukocytes. Zbl. Bakt. Hyg., R. B., 181, 1985, s. 461-468.
BARTEK, M. J. — LABUDDE, J. A. — MAIBACH, H. I.: Skin permeability *in vivo*: comparison in rat, rabbit, pig and man. J. Invest. Derm., 58, 1972, s. 114-128.
BILSKI, A. J. — THOMSON, D. S.: Allergic contact dermatitis in the domestic pig. A new model for evaluating of the topical anti-inflammatory activity of drugs and their formulations. Brit. J. Dermatol., 111, 1984 (Suppl. 27), s. 143.
BOZELKA, B. E. — BURKHOLDER, P. M. — CHANG, L. W.: Cadmium, a metallic inhibitor of antibody-mediated immunity in mice. Envir. Res., 17, 1978, s. 390-402.
CIBULKA, J.: Olovo stále s otazníky. Vesmír, 61, 1982, s. 372-373.
CIBULKA, J. — SOVA, Z. — MADER, P.: Pohyb olova, kadmia a rtuti v zemědělské výrobě a biosféře. 1. vyd. Praha, Vysoká škola zemědělská, Videopres MON 1985. 136 s.

- CERNOHOUS, J.: Kožní nemoci. In: GDOVIN, T. — KOUBA, V. a kol.: Nemoci prasat. 1. vyd. Praha, Stát. zeměd. nakl. 1966, s. 77-100.
- DAVID, A.: Chróm: toxikologicko-hygienická charakteristika. In: BARDODĚJ, Z. a kol.: Expoziční testy v průmyslové toxikologii. 1. vyd. Praha, Avicenum 1980a, s. 134-136.
- DAVID, A.: Rtuť: toxikologicko-hygienická charakteristika. In: BARDODĚJ, Z. a kol.: Expoziční testy v průmyslové toxikologii. 1. vyd. Praha, Avicenum 1980b, s. 259-264.
- DEGRAEVE, N.: Carcinogenic, teratogenic and mutagenic effects of cadmium. *Mutat. Res.*, 86, 1981, s. 115-135.
- DEVRIESE, L. A.: Isolation and identification of *Staphylococcus hyicus*. *Amer. J. veter. Res.*, 38, 1977, s. 787-792.
- FILIPOVÁ, J.: Hexachlorcyklohexan, HCH. In: Kol.: Lékařské repetitorium. Sv. II. 4. vyd. Praha, Avicenum 1982, 1299 s.
- FUSKA, J.: Toxikologie vody. In: TÖLGYESSY, J. a kol.: Chémia, biológia a toxikológia vody a ovzdušia. 1. vyd. Bratislava, Veda 1984, s. 346-376.
- GERHARDSON, L. — BRUNE, D. — NORDBERG, G. F. — WESTER, P. O.: Distribution of cadmium, lead and zinc in lung, liver and kidney in long-term exposed smelter workers. *Sci. total Envir.*, 50, 1986, s. 65-85.
- GIURGEA, R. — BORSA, M. — BUCUR, N.: Immunologische Reaktionen bei Wistar-Ratten nach Verabreichung von Atrazin und Prometryn. *Arch. exp. veter. Med.*, 35, 1981, s. 390-393.
- GOLDSTEIN, J. A.: The structure-activity relationships of halogenated biphenyls as enzyme inducers. *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, 320, 1979, s. 164-178.
- HAWKINS, G. S. — REIFENRATH, W. G.: Development of an *in vitro* model for determining the fate of chemicals applied to skin. *Fundam. Appl. Toxicol.*, 4, 1984, s. S133-S144.
- HOLÁ, N. — ŘEZNÍČEK, J.: Genetické riziko profesionální expozice zvýšeným koncentracím polychlorovaných bifenylov. *Pracov. Léč.*, 37, 1985, s. 386-391.
- HORÁKOVÁ, M.: Dětská dermatovenerologie. 1. vyd. Praha, Avicenum 1985, 296 s.
- HRUBÍŠKO, M. aj.: Hematologie a transfúziologie. 1. vyd. Martin, Osveta 1981, 496 s.
- CHANDRA, R. K. — TEJPAR, S.: Diet and immunocompetence. *Int. J. Immunopharmacol.*, 5, 1983, s. 175-180.
- JAGOŠ, P. — ILLEK, J. — ZÝKA, V.: Systém preventivní diagnostiky metabolických a produkčních poruch v chovech prasnic. 1. vyd. Pardubice, SVS - Oddělení veterinární osvěty 1981, 26 s.
- JOFFE, A. Z. — UNGAR, H.: Cutaneous lesions produced by topical application of aflatoxin to rabbit skin. *J. Invest. Derm.*, 52, 1969, s. 504-507.
- KALENSKÝ, J.: Profesionální poškození kůže v zemědělství. 1. vyd. Praha, Avicenum 1985, 332 s.
- LUSTER, M. I. — FAITH, R. F. — KIMMEL, C. A.: Depression of humoral immunity in rats following chronic developmental lead exposure. *J. envir. Path. Toxicol.*, 1, 1978, s. 397-402.
- MATUŠKA, J.: Význam zinku pro imunitní systém u dětí. *Českoslov. Pediat.*, 41, 1986, s. 414-417.
- MÖLLER, I. — PAGENKOPF, W.: Erfahrungen bei der Verminderung von Hautschäden. *Tierzucht*, 39, 1985, s. 521-522.
- MUSIL, J.: Chemické příčiny vzniku chorobných procesů. In: MUSIL, J.: Základy biochemie chorobných procesů. 1. vyd. Praha, Avicenum 1981, s. 219-241.
- PAULÍK, I.: Problematika lipoperoxidace a metaloiontů u výkrmových prasat s vadami kůže vzniklými intravitálně. Problematika lipoperoxidace a metaloiontů u býků krmených drůbežím trusem. [Studentská vědecká práce.] Brno 1983, 6 s. — Vysoká škola veterinární.
- PISKAČ, A. — KAČMÁR, P. aj.: Veterinární toxikologie. 1. vyd. Praha, Stát. zeměd. nakl. 1985, 256 s.
- RASZYK, J. — ČERNÁ, J. — PLEVA, V. aj.: Biologické, chemické a patohistologické vyšetření kůže při papulózní dermatitidě výkrmových prasat. *Veter. Med. (Praha)*, 31, 1986a, s. 609-620.
- RASZYK, J. — GAJDÚŠKOVÁ, V. — MAŠEK, J. aj.: Trendy změn obsahu cizorodých látek v krmných směsích a ve stájovém prachu ve velkochovech prasat. *Veter. Med. (Praha)*, 31, 1986b, s. 733-738.
- RASZYK, J. — HABRDA, J. — MAŇÁSKOVÁ, M. aj.: Klinický průběh a diferen-

ciální diagnostika při papulózní dermatitidě výkrmových prasat. Veter. Med. (Praha), 31, 1986c, s. 531-540.

RASZYK, J. — KNOTEK, Z. — GAJDŮŠKOVÁ, V. aj.: Fyzikální, chemické a biologické vyšetření prachu z velkovýkrmů prasat. Veter. Med. (Praha), 31, 1986d, s. 233-244.

RASZYK, J. — MASEK, J. — DOČEKALOVÁ, H. aj.: Chemické vyšetření tělesných orgánů při papulózní dermatitidě výkrmových prasat. Veter. Med. (Praha), 32, 1987, s. 19-26.

RASZYK, J. — RUBES, J. — GAJDŮŠKOVÁ, V. aj.: Etiologie a patogenese papulózní dermatitidy výkrmových prasat. [Výzkumná zpráva.] Brno, Výzkumný ústav veterinárního lékařství 1986e. 50 s.

RASZYK, J. — RUBES, J. — RODÁK, L. aj.: Biochemické, hematologické, imunologické a cytogenetické vyšetření při papulózní dermatitidě výkrmových prasat. Veter. Med. (Praha), 31, 1986f, s. 669-680.

RILEY, R. T. — KEMPPAINEN, B. W. — NORRED, W. P.: Penetration of aflatoxins through isolated human epidermis. J. Toxicol. Envir. Hlth, 15, 1985, s. 769-777.

ROSIVAL, L.: Ortuf. In: ROSIVAL, L. — SZOKOLAY, A. aj.: Cudzorodé látky v poživatinách. 2. vyd. Martin, Osveta 1983, s. 376-380.

RUBES, J.: Nestabilní chromozomální aberace skotu a prasat. [Kandidátská disertace.] Brno 1984. 84 s. — Výzkumný ústav veterinárního lékařství.

SAUDEK, F.: Význam jater pro farmakokinetiku. Čas. Lék. čes., 123, 1984, s. 15-20.

SURGEONER, G. A. — FLANNIGAN, G.: The effect of lindane formulations on tissue residues in barrows and on stillbirths in sows. Can. veter. J., 27, 1986, s. 2-5.

SACH, J. — ZAVÁZAL, V. — TOMŠIKOVÁ, A. — BENEŠ, J. — TAUSLOVÁ, S.: Epidemiologie alergických chorob. III. Možnosti alergizace v současné živočišné výrobě. Prakt. Lékař, 59, 1979, s. 500-504.

ŠVESTKA, B.: Onemocnění z olova a jeho slitin a sloučenin. In: ŠVESTKA, B. aj.: Pracovní lékařství. 1. vyd. Praha, Avicenum 1978, s. 136-139.

VELEMINSKÝ, J.: Genetické účinky pesticidů. Biol. Listy, 40, 1975, s. 259-286.

VĚTVÍČKA, V. — FORNŮSEK, L. — KOPEČEK, J. aj.: Phagocytosis of human blood leukocytes: a simple micromethod. Immunol. Lett., 5, 1982, s. 97-100.

VÝMOLA, F. aj.: Stafylokokové infekce. 1. vyd. Praha, Avicenum 1983. 236 s.

WÄGNER, V. — WÄGNEROVÁ, M.: Imunitní mechanismy a životní prostředí. Českoslov. Hyg., 26, 1981, s. 207-210.

WASSERMANN, M. — WASSERMANN, D. — CUCOS, S. — MILLER, H.: World PCBs map: storage and effect in man and his biologic environment in the 1970 s. Ann. N. Y. Acad. Sci., 320, 1979, s. 69-124.

WOLF, A. — EMBERGER, O. — HORÁČEK, J.: Hygiena výživy. 1. vyd. Praha, Avicenum 1985. 348 s.

WOODHEAD, A. D.: Biological characteristics of the aflatoxin-induced hepatic tumor. In: FLECK, R. A. — HOLLANDER, A.: Genetic toxicology — an agricultural perspective. 1. vyd. New York — London, Plenum Press 1982, s. 127-148.

Došlo dne 17. 10. 1986

РАШИК, И. и кол. (Научно-исследовательский институт ветеринарной медицины, Брно): **Этиология и патогенез папулезного дерматита откормочных свиней.** Veter. Med. (Praha), 32, 1987 (8): 479-488.

Согласно современным данным мы считаем папулезный дерматит откормочных свиней полифакториальной болезнью идиодиспозиционного характера. Он проявляется только у части популяции откормочных свиней (у так наз. опасной части популяции), и только при повышенной нагрузке стойловой среды вредными веществами. Опасным фактором популяции свиней мы считаем особи хорошей формы, которые не могут приспособиться к комплексной нагрузке среды для промышленного разведения свиней. При понижении содержания вредных веществ в свинарнике папулезный дерматит уступает и опасная часть популяции откормочных свиней скрытно (без признаков) терпит в популяции. Одной из первых причин папулезного дерматита откормочных свиней мы считаем неспособность здоровых особей быстро и полезно исключать чужеродные вещества (главным образом цинк, свинец, афлатоксин В₁, ртуть и кадмий) из своего организма. Все остальные изменения, главным образом мутагенные и иммуносупрессивные действия и папулезное проявление на коже, появляются лишь вторично. Папулезное проявление по существу выявляет менее стойких и здоровых особей из данной популяции свиней. По-нашему мнению важную роль в устойчивости свиней играют три фактора: эффективность детоксикационных механизмов, соответ-

stávající funkce imunitní soustavy a efektivita reparačních mechanismů genetického aparátu.

cizorodné látky; biotransformace; imunosupresivní a mutagení látky; kožní poškození

RASZYK, J. et al. (Veterinary Research Institute, Brno): *Etiology and Pathogenesis of Papular Dermatitis in Fattened Pigs*. Veter. Med. (Praha), 32, 1987 (8) : 479-488.

Judging from hitherto knowledge, papular dermatitis of fattened pigs is a polyfactorial disease of idiosyncrasy nature. It affects only a part of the population of fattened pigs (the so-called susceptible part of population), in the cases of increased contamination of the stable environment with contaminants. The susceptible part of the population includes predisposed individuals unable to cope with the complex contamination stress of large-scale premises for pig fattening. As the concentrations of contaminants in the stable microclimate decrease, papular dermatitis starts declining and the susceptible part of the population of fattened pigs remains latently (free of symptoms) hidden in the population. The main and primary cause of the papular dermatitis of fattened pigs is seen in the predisposed individuals' inability to eliminate quickly and effectively the contaminants (particularly zinc, lead, aflatoxin B₁, mercury and cadmium) from their bodies. All the remaining changes, particularly the mutagenic and immunosuppressive effects as well as papular efflorescences on the skin, arise only as secondary phenomena. The papular efflorescences in fact revealed the less resistant and predisposed individuals in the given pig population. In our view there are three factors which play an important role in the resistance of the pigs: the performance of the detoxicating mechanisms, adequate function of the immunity system, and effectiveness of the reparation mechanisms of the genetic apparatus.

contaminants; biotransformation; immunosuppressive and mutagenic effects; dermal lesions

RASZYK, J. (Forschungsinstitut für Veterinärmedizin, Brno): *Ätiologie und Pathogenese der papulösen Dermatitis bei Mastschweinen*. Veter. Med. (Praha), 32, 1987 (8) : 479-488.

In bezug auf unsere bisherigen aktuellen Kenntnisse halten wir die papulöse Dermatitis der Mastschweine für eine polyfaktorielle Krankheit mit Idiosynchrasycharakter. Sie kommt nur bei einem beschränkten Teil der Mastschweinepopulation (bei dem sog. Risikoteil der Population) und dies nur bei einer erhöhten Belastung der Stallumwelt mit Schadstoffen vor. Unter dem Begriff „Risikoteil der Schweinepopulation“ verstehen wir solche Tiere, die nicht imstande sind sich der Komplexbelastung des Milieus der Großzuchten anzupassen. Hand in Hand mit der Senkung des Gehaltes der Stallumwelt an Schadstoffen geht auch die papulöse Dermatitis zurück und der Risikoteil der Mastschweinepopulation ist in der Population latent (ohne Symptome) versteckt. Für die primäre und wichtigste Ursache der papulösen Dermatitis der Mastschweine halten wir die Unfähigkeit der anfälligen, disponierten Einzeltiere schnell und wirksam alle fremdartigen Stoffe (Zn, Pb, Aflatoxin B₁, Quecksilber und Kadmium) aus ihrem Organismus zu eliminieren. Alle anderen Veränderungen, insbesondere alle mutagenen und immunodepressiven Wirkungen und die papulösen Effloreszenzen auf der Haut, entstehen sekundär. Die papulösen Effloreszenzen entdeckten weniger resistente und disponierte Einzeltiere in der gegebenen Schweinepopulation. Nach unserer Meinung spielen in der Resistenz der Schweine drei Faktoren eine sehr wichtige Rolle: die Leistung der Detoxikationsmechanismen, eine entsprechende Funktion des Immunitätssystems und die Wirksamkeit der Reparationsmechanismen des genetischen Apparates.

fremdartige Stoffe; Biotransformation; immunosuppressive und mutagene Wirkungen; Hautläsion

Adresy autorů:

MVDr. Josef Raszyk, CSc., MVDr. Jiří Rubeš, CSc., ing. Věra Gajdůšková, CSc., MVDr. Ladislav Rodák, CSc., MVDr. Miroslav Toman, CSc., RNDr. Josef Mašek, CSc., RNDr. Hana Dočekalová, RNDr. Milada Neumannová, MVDr. Zuzana Hořínová, ing. Jarmila Štěrbová, MVDr. Jaroslav Bartoš, CSc., MVDr. Jitka Černá, CSc., MVDr. František Šišák, CSc., Výzkumný ústav veterinárního lékařství, Hudecova 70, 621 32 Brno

Doc. MUDr. Jiří Rovenský, CSc., Výzkumný ústav pediatrický, Cernopolní 9, 662 62 Brno

MVDr. Albert Zrůnek, MVDr. Rudolf Chmela. Okresní veterinární zařízení, Brněnská ul. 3234, 695 11 Hodonín

MORFOLÓGIA A VÝSKYT SUPRAEPENDÝMOVÝCH ŠTRUKTÚR V KOMOROVOM SYSTÉME MOZGU OVIEC

V. Rajtová

RAJTOVÁ, V. (Vysoká škola veterinárska, Košice): *Morfológia a výskyt supraependýmových štruktúr v komorovom systéme mozgu oviec*. Veter. Med. (Praha), 32, 1987 (8) : 489-495.

Študovali sme morfológiu a distribúciu supraependýmových štruktúr v komorovom systéme oviec obidvoch pohlaví bežnými histologickými metódami. Podľa tvaru sme rozlíšili sedem foriem supraependýmových štruktúr. Najčastejšie a najvariabilnejšie sú v infundibulárnej oblasti tretej mozgovej komory. Ich výskyt v tejto oblasti závisí u bahnic od stavu ovariálneho cyklu, u baranov od ročného obdobia. Najhojnejšie sú polguľovité až sférické svetlé protrúzie a tzv. blebs u bahnic počas estru, v nepatrnom počte aj počas proestu, a u baranov v „kludovom“ období. Baraní v zimnom (kludovom) období majú na povrchu endymu v infundibulárnej oblasti útvary podobné butónom, v letnom období sú tu prítomné prstovité výrastky. U bahnic sa tieto štruktúry nevyskytujú. Domnievame sa, že väčšia časť supraependýmových štruktúr predstavuje produkt endymosekrécie, ktorý v infundibulárnej oblasti, nie však inde, súvisí s pohlavím — u bahnic s ovariálnym cyklom a u baranov s ročným obdobím.

cerebroneurálny systém; endym; bahnica; baran

Medzi regionálne zvláštnosti v stavbe endymovej výstielky ventrikulárneho systému mozgu CNS u vertebrát patria aj štruktúry, ktoré sú na jej povrchu a prominujú do cerebrospínálneho moku. Ide o tzv. supraependýmové štruktúry (SEŠ), za ktoré sa okrem cilií a mikrokľvkov považujú aj výbežky endymových a nervových buniek, rôzne bunečné protrúzie a pod. U niektorých cicavcov prítomnosť SEŠ opísali napr. Leonhardt (1977) u králika, Schwanitz (1969), Booz (1975) u potkana, Hannah a Geber (1972) u škrečka, Coates (1973, 1975, 1977) u človeka a makaka, Clementi a Marini (1972) u mačky. Z hospodárskych zvierat sa o prítomnosti mechúrikovitých štruktúr (blebs) v infundibule oviec zmieňujú Kozłowski a i. (1973), ktorí však neuvádzajú, či sú tieto štruktúry prítomné u bahnic alebo u baranov, ani neuvádzajú stav ich sexuálneho cyklu.

SEŠ tvoria súčasť endymovej výstielky a súvisia s jej funkciou, aj keď doteraz nie je známe, akého sú charakteru.

V tejto práci sa chceme zaoberať za pomoci bežných histologických metód morfológiou a distribúciou SEŠ u merinových oviec v závislosti od pohlavia, stavu ovariálneho cyklu a ročného obdobia.

MATERIÁL A METÓDA

Použili sme spolu 68 dospelých oviec plemena merino obidvoch pohlaví. U bahníc sme stav cyklu určovali na základe nálezu na ováriách, samcov sme usmrcovali v zimnom období (december—január), v mesiacoch jún a júl, v období pripúšťania (september—október), po kastrácii a po transpozícii semenníkov do brušnej dutiny (experimentálni kryptorchidi). Fixáciu mozgov sme vykonali perfúziou pufrovaným 3% formalinom alebo Bouinovým roztokom po predchádzajúcom prepláchnutí krvného riečišťa 0,2 M fosfátovým pufróm (pH 7,4). Parafínové rezy (7—8 μ m) sme farbili hematoxilín-eozínom, železitým hematoxilínom, chróm-hematoxylínom-floxínom, aldehyd-fuchsinom a PAS metódou na mukopolysacharidy.

VÝSLEDKY

Obidve metódy na stanovenie neurosekrétu [chróm-hematoxylín-floxín a aldehyd-fuchsin] boli v prípade SEŠ negatívne, podobne aj reakcia PAS na mukopolysacharidy. SEŠ sa zreteľne farbili len hematoxylín-eozínom a železitým hematoxylínom.

U bahníc a baranov sme v komorovom systéme pozorovali tieto formy SEŠ:

1. Rozsiahle štruktúry multielulárneho charakteru, ktoré úzkou stopkou súvisia s povrchom endymových buniek (obr. 1, 2). Nachádzajú sa len v *recessus infundibuli* (r. i.) a na povrchu *eminencia mediana* (EM) a pozorovali sme ich u bahníc na začiatku gravidity a u baranov v letnom období (jún — júl).

2. Polguľovité až mechúrkovité štruktúry rôznej veľkosti, ktoré širokou bázou súvisia s endymom (obr. 3, 4). Majú amorfný obsah, ktorý v rôznom stupni vakuolizuje. Bežne sa označujú ako „blebs“. Prí-



1. Veľká supraependymová štruktúra multielulárneho charakteru v úrovni *recessus infundibuli* (baran, jún) — A large supraependymal structure of multicellular nature at the level of *recessus infundibuli* (ram, June)

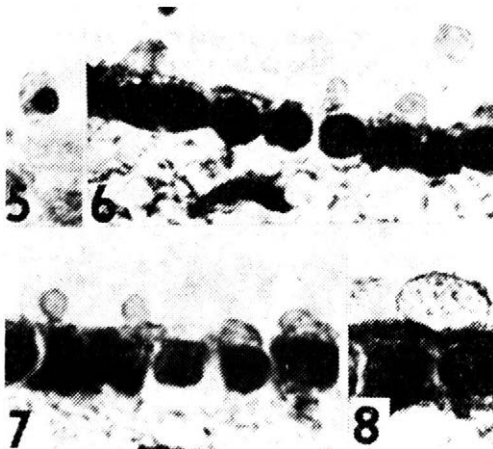
2. Supraependymová štruktúra multielulárneho charakteru v úrovni *eminencia mediana* (baran, jún) — Multicellular supraependymal structure at the level of *eminencia mediana* (ram, June)

3. Polguľovitá supraependymová štruktúra z oblasti *recessus infundibuli* (bahnica, anestrus) — Hemispherical supraependymal structure in the region of *recessus infundibuli* (ewe, anoestrus)

4. Mechúrikovitá supraependymová štruktúra z oblasti *recessus infundibuli* (bahnica, anestrus) — A vesicular supraependymal structure in the region of *recessus infundibuli* (ewe, anoestrus)

5. Voľná, bunke podobná supraependýmová štruktúra s tmavým jadrom — A loose, cell-like supraependymal structure with a dark nucleus

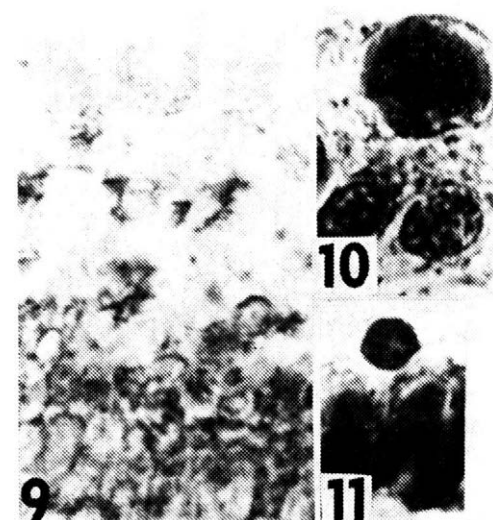
6, 7, 8. Svetlé polguľovité a sférické protrúzie z hornej polovice infundibulárnej oblasti (bahnica, anestrus) — Light-coloured hemi-spherical and spherical protrusions from the upper half of the infundibular region (ewe, anoestrus)



tomné sú na povrchu r. i. a EM. Tie, ktoré majú polguľovitý tvar, sme našli aj v oblasti *foramen intraventriculare* a nad *nucleus caudatus*. Blebs sú početné u bahníc v období anestrus, ojedinele aj v proestrus. Nápadne nízke a široké sú u baranov v čase sexuálneho kludu (január, február). Nález polguľovitých štruktúr mimo oblast tanycytového ependýmu je fakultatívny a bez závislosti od pohlavia.

3. Voľné väčšie alebo menšie bunkám podobné SEŠ s okrúhlym až pretiahnutým tmavým jadrom (obr. 5). Vyskytujú sa na povrchu *recessus infundibuli*, v malom počte aj v *aquaeductus mesencephali*, na dne štvrtej mozgovej komory, v *cornu rostrale* a v spojovacom kanáliku k *bulbus olfactorius* (*ventriculus lateralis*). Ich výskyt nie je závislý od pohlavia ani stavu sexuálneho cyklu.

4. Polguľovité svetlé (obr. 6—9) a tmavé (obr. 10, 11) sférické štruktúry, ktoré súvisia s povrchom ependýmových buniek alebo sú voľné. Niekedy sú väčšie ako bunky ležiace pod nimi. Vnútorňa stavba svetlých štruktúr je amorfná, stavba tmavých štruktúr nie je zreteľná pre ich sýte sfarbenie. Výskyt svetlých SEŠ je častejší. Prítomné sú v *cornu*



9. Svetlé sférické protrúzie nad *organum subcommissurale* — Light-coloured spherical protrusions above the *organum subcommissurale*

10, 11. Tmavé sférické protrúzie z infundibulárnej oblasti — Dark spherical protrusions from the infundibular region



12. Butónu podobná supraependýmová štruktúra z hornej polovice infundibulárnej oblasti (baran, zimné obdobie) — Button-like supraependymal structure in the upper half of the infundibular region (ram, winter season)

13. Prstovitý výrastok ependýmu z hornej polovice infundibulárnej oblasti (baran, zimné obdobie) — Finger-like protrusion of ependyma from the upper half of the infundibular region (ram, winter season)

14, 15. Butónom podobné štruktúry v úrovni *eminencia mediana* (bahnica dva mesiace po pôrode) — Button-like structures at the level of *eminencia mediana* (ewe, two months after parturition)

occipitale laterálnej komory, v celej tretej mozgovej komore s výnimkou r.i. Ich najčastejší výskyt sme zaznamenali u bahníc v čase anestrú, v malom počte aj v proestrí.

5. Malé okrúhle alebo oválne štruktúry, ktoré tenkou stopkou súvisia s príslušnou ependýmovou bunkou. Majú amorfný alebo slabo granulovaný obsah. Sporadicky sa vyskytujú v r.i. oboch pohlaví.

6. Prstovité výrastky (obr. 13) sa objavujú len v strednej tretine infundibulárnej oblasti u baranov v letnom období.

7. SEŠ podobné butónom sú prítomné v strednej tretine infundibulárnej oblasti baranov v zimnom období (obr. 12); na povrchu *eminencia mediana* sme ich našli u bahníc dva mesiace po pôrode (obr. 14, 15).

DISKUSIA

Na povrchu ependýmu oviec, podobne ako u mnohých iných cicavcov, sa vyskytujú štruktúry rôzneho tvaru, veľkosti a stavby. Ležia buď voľne na povrchu ependýmových buniek, alebo s nimi v rôznom stupni súvisia, a prominujú do ventrikulárneho lúmenu.

Zo štúdia protrúzií sférického tvaru v elektrónovom mikroskope vyplýva, že u potkana tieto štruktúry obsahujú viac alebo menej zahusťenú jemnozrnnú základnú plazmu a veľký počet polyribosómov (Booz, 1975). Histochemické štúdium na polysacharidy a katecholamíny v SEŠ ventrikulárneho systému potkana bolo negatívne (Booz, 1975). Potvrdilo to tiež naše štúdium u oviec, pri ktorom PAS-reakcia na polysacharidy a farbenie na neurosekrét boli vždy negatívne.

Viaceri autori (Anand Kumar, 1968; Schwanitz, 1969; Hannah a Geber, 1972; Booz, 1975; Shioda a i., 1977) na základe štúdia vo svetelnom, ale aj elektrónovom mikroskope sa zhodujú v tom, že SEŠ predstavujú produkt apikálnej sekrécie ependýmových buniek. Dierickx a de Waele (1975) našli sekrečné granuly na dne tretej mozgovej komory amfíbií aj po aplikácii katecholamínov, ho-

ci ich vôbec neobsahujú. Booz (1975) pozoroval sekrečné granuly u potkanov aj počas fetálneho života, ich funkciu však nemohol objasniť a predpokladá, že ide pravdepodobne len o prechodný stav.

SEŠ rôzneho tvaru a stavby sa vyskytovali na povrchu temer celého ventrikulárneho systému oviec obidvoch pohlaví. Frekvencia ich výskytu v mozgových komorách je najčastejšia a najhojnejšia v *regio infundibularis*, kde ich nález možno dať do súvislosti s pohlavím a so stavom ovariálneho cyklu bahníc, čiastočne aj so sezónnosťou baranov. Napr. v horných dvoch tretinách infundibulárnej oblasti sa najčastejšie vyskytujú polguľovité až sférické štruktúry so svetlým obsahom, prítomnosť ktorých je zvlášť charakteristická pre bahnice v anestre, v malej miere aj v proestre, nie však v iných štádiách ovariálneho cyklu, alebo u baranov. Na rozdiel od našich pozorovaní u bahníc našiel Anand Kumar (1968) SEŠ u samíc makaka v strede ovariálneho cyklu; postupne sa zmenšovali a zanikli počas menštruácie. Nápadné zmnoženie SEŠ v hornej polovici infundibulárnej oblasti bolo pozorované po celotelovom kontinuálnom ožiarení anestrických bahníc (Rajtová a i., 1983).

Počas anestrického štádia ovariálneho cyklu v infundibulárnom recese bahníc sú hojné SEŠ, ktoré sa označujú ako blebs (2. skupina); nízke a ojedinelé sú tiež počas proestru a u baranov v „kludovom“ zimnom období. U ostatných bahníc a baranov chýbajú. Ďalej napr. v hornej polovici r. i. sú u baranov v letnom období prítomné prstovité výrastky, v „kludovom“ zimnom období zasa štruktúry podobné butónom.

Prítomnosť mechúrikovitých útvarov (blebs) — ide o tzv. blebbing phenomenon (Knowles a Anand Kumar, 1969; Coates, 1973) — dáva sa do vzťahu s estrom samíc makaka alebo so zmenami gonadálnych steroidov. Ako uvádzajú Scott a i. (1975), tieto útvary predstavujú sekrečný produkt endodýmových buniek so špecifickým cieľovým účinkom. Môžu však predstavovať aj odpadový produkt metabolizmu, pretože CNS nemá vytvorenú pravú lymfatickú drenáž tak, ako ju majú iné orgány.

Tie voľné SEŠ u oviec, ktoré majú podobnú histologickú stavbu ako endodýmové bunky ležiace pod nimi, predstavujú bunky „vypadnuté“ zo súvislého radu. Po ich zväčšení a nabobtnaní sa rozpadnú a stanú sa súčasťou cerebrospinálneho moku. Tým, že sa na sekrét „obetuje“ celá bunka, endodým na niektorých miestach pripomína holokrinný typ sekrécie.

Obrovské SEŠ multicelulárneho charakteru, ktoré sme našli u oviec v r. i. a na povrchu *eminentia mediana*, sa u doteraz študovaných cicavcov neopisujú. Ani ich funkcia nám nie je známa, pravdepodobne aj tie predstavujú určitý druh sekrécie endodýmových buniek.

Nie všetky SEŠ cicavcov súvisia s apikálnou endodýmosekréciou. Ide najmä o bulbózne rozšírenia dendritov tzv. likvor-kontaktných neurónov (Shioda a i., 1977; Korf a i., 1983), alebo o makrofágy (Kolmerove bunky) u nižších vertebrát (Bleier a i., 1975; Shioda a i., 1977). Tieto štruktúry tvoria súčasť fagocytárneho systému mozgu; u oviec sme ich nepozorovali ani v riadkovacom elektrónovom mikroskope (Rajtová, v tlači).

Domnievame sa, že väčšia časť SEŠ, ktoré sme našli u oboch pohlaví oviec, predstavuje sekrečný produkt, ktorého prítomnosť alebo množstvo, podobne ako napr. u makaka (Anand Kumar, 1968), závisí u bahníc

od stavu ovariálneho cyklu a u baranov od ročného obdobia. Platí to však len pre infundibulárnu oblasť tretej mozgovej komory, nie pre celý ventrikulárny systém.

Literatúra

- ANAND KUMAR, T. C.: Sexual differences in the ependyma lining the third ventricle in the area of the anterior hypothalamus of adult rhesus monkeys. *Z. Zellforsch.*, 90, 1968, s. 28-36.
- BLEIER, R. — ALBRECHT, R. — CRUCE, J. A. F.: Supraependymal cells of hypothalamic third ventricle: identification as resident phagocytes of the brain. *Science*, 189, 1975, s. 299-301.
- BOOZ, K. H.: Secretory phenomena at the ependyma of the III-rd ventricle of the embryonic rat. *Anat. Embryol.*, 147, 1975, s. 143-159.
- CLEMENTI, F. — MARINI, D.: The surface fine structure of the walls of cerebral ventricles and of chorioid plexus in cat. *Z. Zellforsch.*, 123, 1972, s. 82-95.
- COATES, P. W.: Supraependymal cells and surface specializations on the floor of monkey third ventricle: scanning electron microscope studies. *Anat. Rec.*, 175, 1973, s. 294.
- COATES, P. W.: Scanning electron microscopy of a second type of supraependymal cells in the monkey third ventricle. *Anat. Rec.*, 182, 1975, s. 275-288.
- COATES, P. W.: The third ventricle of monkeys. Scanning electron microscopy of surface features in mature males and females. *Cell Tissue Res.*, 177, 1977, s. 307-316.
- DIERICKX, K. — DE WAELE, G.: Scanning electron microscopy of the wall of the third ventricle of the brain of *Rana temporaria*. II. Electron microscopy of the ventricular surface of the *pars ventralis* of the *tuber cinereum*. *Cell Tissue Res.*, 159, 1975, s. 81-90.
- HANNAH, R. S. — GEBER, W.: Specializations of the ependyma in the third ventricle of the developing hamster. *Amer. J. Anat.*, 135, 1972, s. 597-603.
- KNOWLES, F. R. S. — ANAND KUMAR, T. C.: Structural changes related to reproduction in the hypothalamus and in the *pars tuberalis* of the rhesus monkey. Part I. The hypothalamus. *Phil. Trans. Roy. Soc. London, Ser. B*, 256, 1969, s. 357-375.
- KORF, H. W. — VIGLIETTI-PANIZA, C. — PANIZA, G. C.: A Golgi study on the cerebrospinal fluid (CSF) — contacting neurons in the paraventricular nucleus of the Pekin duck. *Cell. Tissue Res.*, 228, 1983, s. 149-163.
- KOZŁOWSKI, G. P. — SCOTT, D. E. — DUDLEY, G. K.: Scanning electron microscopy of the third ventricle of sheep. *Z. Zellforsch.*, 136, 1973, s. 169-176.
- LEONHARDT, H.: Ependym. *Erkenntnisse und Probleme*. *Nova Acta Leop.*, N. F., Suppl., 9, 1977, s. 11-37.
- RAJTOVÁ, V. — STANIČOVÁ, A. — ARENDARČIK, J.: Das Ependym des Merinoschafes nach kontinuierlicher Bestrahlung. *Geg. morphol. Jb.*, Leipzig, 129, 1983, s. 625-633.
- RAJTOVÁ, V.: The ependyma lining the infundibular recess in the sheep: A scanning electron microscopy study. *Folia morphol. (Praha)*, v tlači.
- SCHWANITZ, W.: Die topografische Verteilung supraependymaler Strukturen in den Ventrikeln und Zentralkanal des Kaninchengehirns. *Z. Zellforsch.*, 100, 1969, s. 536-551.
- SCOTT, D. E. — KROBISCH-DUDLEY, G. — PAULL, W. K. — KOZŁOWSKI, G. P. — RIBAS, J.: The primate median eminence I. Correlative scanning-transmission electron microscopy. *Cell. Tissue Res.*, 162, 1975, s. 61-73.
- SHIODA, S. — HONMA, Y. — YOSHIE, S. — HOSOYA, Y.: Scanning electron microscopy of the third ventricular wall in the lamprey, *Lampetra japonica*. *Arch. histol. jap.*, 40, 1977, s. 41-49.

Došlo dňa 19. 12. 1986

РАЙТОВА, В. (Ветеринарный институт, Кошице): Морфология и появление супразендимальных структур в камерной системе мозга овец. *Veter. Med. (Praha)*, 32, 1987 (8): 489-495.

Мы изучали морфологию и дистрибуцию супразендимальных структур в камерной системе овец двух полов с помощью обычных гистологических методов. По общему виду мы различили семь форм супразендимальных структур; наичастейшие и наи-

более изменчивые находятся в инфундибулярной области третьей мозговой камеры. Их появление в этой области у племенных овец зависит от состояния цикла яичников, у баранов от времени года. Наиболее обильными являются полушаровые почти сферические светлые протрузии и так наз. blebs у овец во время анестра и в небольшом количестве во время проэстера, а у баранов в «спокойном» периоде. У баранов в зимнем «спокойном» периоде имеются на поверхности эпендимы в инфундибулярной области образования похожие на бутоны, в летний период здесь находятся пальцевидные выросты. У овец эти структуры не появляются. Думаем, что часть супраэпендимальных структур представляет собой продукт эпендимосекреции, который в инфундибулярной области, а не в другом месте, зависит от пола — у овец от цикла яичников, а у баранов от времени года.

церебронеуральная система; эпендим; овца; баран

RAJTOVÁ, V. (University of Veterinary Medicine, Košice): *The Morphology and Occurrence of the Supraependymal Structures in the Ventricular System of the Brain of Sheep*. Veter. Med. (Praha), 32, 1987 (8) : 489-495.

The morphology and distribution of supraependymal structures in the ventricular system of sheep of both sexes were studied by common histological methods. Seven forms of supraependymal structures were distinguished according to shape; they are most frequent and most variable in the infundibular region of the third cerebral ventricle. In the ewes their occurrence in this region depends on the status of the ovarian cycle and in the rams it depends on the year season. The most frequent forms are hemi-spherical to spherical light-coloured protrusions and the so-called blebs; in the ewes they occur during anoestrus and, to a minor extent, during proestrus, and in rams in the "rest" period. In the winter season (the rest period) the rams have button-like formations on ependyma surface in the infundibular region, and in summer there are finger-like protrusions. No such structures occur in the ewes. A larger part of the supraependymal structures are believed to be products of ependymosecretion which, in the infundibular region but nowhere else, is associated with sex: with the ovarian cycle in the ewes and with the year season in the rams.

cerebroneurall system; ependyma; ewe; ram

RAJTOVÁ, V. (Veterinärmedizinische Hochschule, Košice): *Morphologie und Vorkommen von Supraependymstrukturen im Hirnkammersystem des Schafes*. Veter. Med. (Praha), 32, 1987 (8) : 489-495.

Mit Hilfe geläufiger histologischer Methoden* studierten wir die Morphologie und Distribution von Supraependymstrukturen im Hirnkammersystem von Schafen beider Geschlechter. Der Form nach waren sieben Formen der Supraependymstrukturen auseinanderzuhalten; am häufigsten und variabelsten sind sie im Infundibularbereich der dritten Hirnkammer. Ihr Vorkommen in dieser Region hängt bei den Mutterschafen vom Stand des Ovarialzyklus, bei den Böcken von der Jahreszeit, ab. Am häufigsten sind halbkugelige bis sphärische helle Protrusionen und sog. „Blebs“ (Bläschen) bei Mutterschafen während des Anoestrus, in geringer Zahl auch während des Proestrus und bei den Böcken in der „Ruheperiode“ zu beobachten. Die Böcke haben im Winter (in der Ruheperiode) an der Ependymoberfläche in der infundibularen Region buttonähnliche Gebilde, in der Sommerperiode sind fingerartige Auswüchse vorhanden. Bei Mutterschafen kommen diese Gebilde nicht vor. Wir vertreten die Ansicht, daß der überwiegende Teil der Supraependymstrukturen ein Produkt der Ependymsekretion darstellt, das in der infundibularen Region — anderswo jedoch nicht — mit dem Geschlecht in Zusammenhang steht: bei den Mutterschafen mit dem Ovarialzyklus und bei den Böcken mit der Jahreszeit.

Cerebroneuralsystem; Ependym; Mutterschaf; Schafbock

Adresa autorky:

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

Upozorňujeme čtenáře, že v čísle 9 časopisu

VETERINÁRNÍ MEDICÍNA

mají být uveřejněny články:

- D. Zemanová, V. Komenda, B. Novotná, Z. Dvořák: Výskyt DFD masa a možnosti jeho zjišťování ihned po porážce
- B. Janková, J. Gilka, S. Standara, P. Krejčí, V. Růžičková: Kvalita masa kuřecích brojlerů postižených zánětem péřových folikulů
- V. Míčková: *Campylobacter jejuni* u jatečně opracované drůbeže
- J. Gilka, J. Habrda, B. Janková, P. Krejčí, S. Standara, V. Zezula, M. Pavlasová, R. Hais, E. Szotkowski: Jatečná hodnota a vlastnosti masa býků v žíru po zkrmování past, včetně pasty s drůbežím trusem
- J. Baláž, R. Cabadaj, J. Pleva, J. Borodáč: Vplyv žltnutia tukov na senzorické vlastnosti bravčového mäsa
- I. Tomancová, L. Steinhauser, Z. Matyáš: *Campylobacter jejuni* a jeho případný výskyt v mase baleném v teplém stavu
- J. Garčár, J. Hrušovský, M. Šmirják: Dynamika reziduí chlорованých pesticídov v dlhodobu skladovaných konzervovaných potravinách
- P. Škarka, I. Šestáková, B. Ševčík: Reziduální analytická chemie současnosti a její prognózy

LYOFILIZACE DERMATOFYTŮ

A. Rybníkář, J. Schmied, J. Strossa

RYBNÍKÁŘ, A. — SCHMIED, J. — STROSSA, J. (Bioveta, n. p., Ivanovice na Hané): *Lyofilizace dermatofytů*. Veter. Med. (Praha), 32, 1987 (8) : 497-508.

Při lyofilizaci 16 kmenů dermatofytů bylo dosaženo nejlepších výsledků přežívání u kultur složených převážně z mikrokonidií. Viabilita kmenů tvořících hlavně makrokonidie, chlamydospory a hyfy byla vlivem lyofilizace výrazně snížena. Jako účinné protékání lyofilizační médium při lyofilizaci a dvouletém udržování kultury *Trichophyton mentagrophytes* a *T. verrucosum* se osvědčil 2,5% roztok želatiny + 3,75% roztok sacharózy. Velmi dobrých výsledků bylo dosaženo také při použití roztoků sacharózy (3,75; 7,5 a 15%), u některých vzorků však byla zjištěna zvýšená relativní zbytková vlhkost lyofilizátů. Skladování lyofilizovaných kultur dermatofytů bylo úspěšné při chladničkové teplotě. Při udržování lyofilizátů v laboratorní teplotě se podstatně snížila životaschopnost kmenů nezávisle na tom, zda byly uchovávány na světle nebo v temnu. Živnou půdu při rekonstituci lyofilizovaných kmenů je nutné vybírat na základě růstových požadavků jednotlivých kultur. V našich pokusech se osvědčily zejména sladinkové půdy a Sabouraudův agar, ze zahraničních médií Mycological agar a Mycobiotic agar.

ochranná lyofilizační média; viabilita lyofilizovaných vzorků; udržování lyofilizátů; rekonstituce lyofilizovaných kultur

Konzervace mikroorganismů lyofilizací je již po několik desítek let úspěšně využívána při mikrobiologické práci. Významné uplatnění našla také v mykologii. Kultury mikroskopických hub uchovávané v lyofilizovaném stavu si po dlouhé období udržují charakteristické vlastnosti a nedochází u nich k pleomorfním ani jiným změnám. Pokusy však ukázaly, že pro některé druhy hub je tento způsob udržování málo vhodný. Jde především o houbové kultury s nízkou sporulační schopností. Do této skupiny patří i nesporulující kmeny dermatofytů.

V našem podniku — Bioveta, Ivanovice na Hané — se zabýváme otázkami lyofilizace kožních patogenních hub více než deset let. Zkušenosti získané při lyofilizaci vakcinačních a sbírkových kmenů a kultur dermatofytů izolovaných z kožních mykotických lézí zvířat uvádíme v předložené práci.

MATERIÁL A METODA

VÝBĚR OCHRANNÝCH LYOFILIZAČNÍCH MÉDIÍ

K lyofilizaci byl použit homogenizát sporulující kultury *Trichophyton verrucosum* Bodin 1902 CCM F-650, obsahující

- a) 2,5⁰/₀ roztok želatiny + 3,75⁰/₀ roztok sacharózy;
- b) 2,5⁰/₀ roztok želatiny;
- c) 3,75⁰/₀ roztok sacharózy;
- d) 50⁰/₀ hovězí sérum inaktivované;
- e) 0,8⁰/₀ fyziologický roztok — kontrolní vzorek.

V dalším pokusu byla lyofilizována sporulující kultura *Trichophyton mentagrophytes* (Robin 1853) Blanchard 1896 č. AB-80. Jako ochranné lyofilizační médium byl použit 2,5⁰/₀ roztok želatiny + 3,75⁰/₀ roztok sacharózy a dále roztoky sacharózy o různé koncentraci (3,75⁰/₀; 7,5⁰/₀; 15⁰/₀). Kontrolní vzorky byly lyofilizovány bez ochranného média ve fyziologickém roztoku.

Zmrazení vzorků v obou pokusech proběhlo při teplotě -50 °C po dobu 24 hodin, sušení v lyofilizačním zařízení LZ-9 (Frigera, n. p., Kolín) po dobu 40 až 45 hodin. Lékovky s lyofilizovanými vzorky byly uzavřeny lyofilizačními zátkami ve vakuu.

U pokusných vzorků (tři lékovky z každé pokusné varianty) bylo před lyofilizací, ihned po lyofilizaci a po jednom a dvou letech udržování v lyofilizovaném stavu při chladničkové teplotě plotnovou diluční metodou zjištěno množství životaschopných jednotek tvořících kolonie (CFU). Výsev ředěných vzorků byl proveden na Petriho misky se Sabouraudovým agarem. Narostlé kolonie byly počítány po sedmi dnech inkubace při teplotě 28 °C.

PŘEŽÍVÁNÍ DERMATOFYTŮ PŘI LYOFILIZACI

Kultury 16 kmenů dermatofytů byly pomnoženy po dobu 7 až 16 dnů na sladinkovém agaru při teplotě 28 °C a homogenizovány ve fyziologickém roztoku. Jako ochranné lyofilizační médium byl použit roztok želatiny (2,5⁰/₀) a sacharózy (3,75⁰/₀). Před rozplněním a lyofilizací houbových suspenzí bylo mikroskopicky vyšetřeno mikromorfologické složení kultur. Množství viabilních CFU před lyofilizací a po ní bylo zjištěno opět plotnovou diluční metodou výsevem ředěných vzorků na Sabouraudův agar. Také způsob lyofilizace kultur byl stejný jako v předchozím příkladu.

VLIV ZPŮSOBU UDRŽOVÁNÍ LYOFILIZOVANÝCH VZORKŮ NA ŽIVOTASCHOPNOST DERMATOFYTŮ

Homogenní suspenze 11 kmenů dermatofytů byly lyofilizovány s použitím roztoku 2,5⁰/₀ želatiny + 3,75⁰/₀ sacharózy jako ochranného lyofilizačního média. Ihned po ukončení lyofilizace byl zjištěn u každého kmene plotnovou diluční metodou na Sabouraudově agaru počet životaschopných jednotek CFU. Zbývající lyofilizované vzorky byly umístěny

- a) do chladničkové teploty 2 až 6 °C;
- b) do laboratorní teploty (18 až 26 °C) na světle;
- c) do laboratorní teploty (18 až 26 °C) v temnu.

Po jednom roce udržování v uvedených poměrech byla uskutečněna zkouška životaschopnosti kultur opět plotnovou diluční metodou. Relativní zbytková vlhkost lyofilizátů byla zjišťována ihned po lyofilizaci a ani u jednoho vzorku nepřesáhla 3⁰/₀.

VÝBĚR VHODNÉ ŽIVNÉ PŮDY PŘI REKONSTITUCI LYOFILIZOVANÝCH KULTUR

Lyofilizované vzorky čtyř kultur dermatofytů (*Trichophyton equinum*, *T. mentagrophytes*, *T. terrestre* a *T. verrucosum*) byly po jednom roce uchovávání v chladničce ředěny fyziologickým roztokem a vysety standardním způsobem na 12 druhů čerstvě připravených živných půd: Bacto *Trichophyton* agar 1 až 7 (Difco), Bacto Mycological agar (Difco), Bacto Mycobiotic agar (Difco), Sabouraudův agar (Imuna, n. p., Šarišské Michařany), agar se sladinkovým extraktem (Imuna) a sladinkový agar s peptonem (5 g.l⁻¹), připravený z čerstvé pivovarské sladinky. pH všech půd bylo upraveno na 6,2 až 6,6.

Po sedmi až devíti dnech kultivace při teplotě 28 °C byly u všech kmenů spočítány narostlé kolonie. Získané hodnoty byly použity k výpočtu množství životaschopných jednotek CFU v 1 cm³ ředěného lyofilizátu (kultivační záchytnost), zjištěného na jednotlivých živných médiích.

VÝSLEDKY

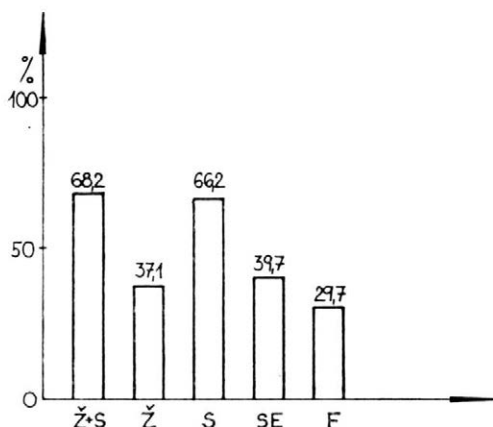
VÝBĚR OCHRANNÝCH LYOFILIZAČNÍCH MÉDIÍ

Nejvyšší protekční vliv při lyofilizaci a jednoročním udržování kultury *T. verrucosum* v chladničce byl zjištěn u roztoku 2,5% želatiny + 3,75% sacharózy (obr. 1 a 2). Při porovnání se stavem po lyofilizaci byl však relativní pokles životaschopnosti kultury po dvou letech udržování ve všech pokusných variantách přibližně stejný.

1. Přežívání kultury *Trichophyton verrucosum* při lyofilizaci za použití několika ochranných lyofilizačních médií
osa *x*: použité ochranné lyofilizační médium: Ž + S = 2,5% roztok želatiny + 3,75% roztok sacharózy; Ž = 2,5% roztok želatiny; S = 3,75% roztok sacharózy; SE = 50% hovězí sérum inaktivované; F = 0,8% fyziologický roztok; osa *y*: procentuální množství jednotek tvořících kolonie (CFU) po lyofilizaci proti počtu před lyofilizací (počet před lyofilizací = 100 %) —

The survival of *Trichophyton verrucosum* culture lyophilized with several protective lyophilization media

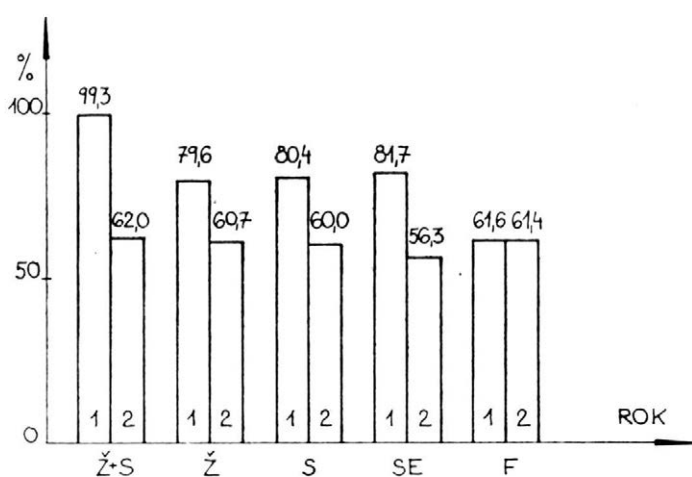
x-axis: the protective lyophilization media: Ž + S = 2.5% solution of gelatine + 3.75% solution of saccharose; Ž = 2.5% solution of gelatine; S = 3.75% solution of saccharose; SE = 50% inactivated bovine serum; F = 0.8% saline. *y*-axis: percentual amount of colony-forming units (CFU) after lyophilization vs. the number before lyophilization (number before lyophilization = 100 %)

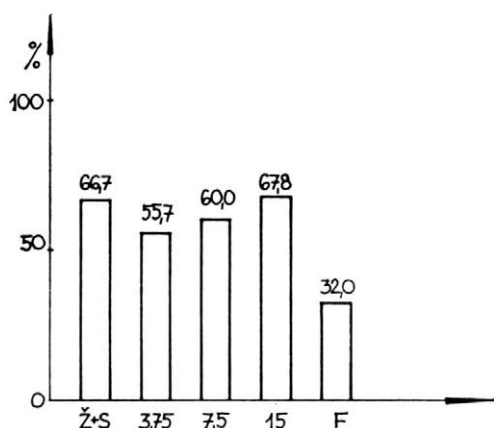


2. Vliv ochranných lyofilizačních médií na přežívání kultury *T. verrucosum* po roce a po dvou letech udržování v lyofilizovaném stavu v chladničkové teplotě
osa *x*: použité ochranné lyofilizační médium (stejně symboly jako u obr. 1); doba udržování. osa *y*: procentuální množství CFU po roce a po dvou letech udržování proti počtu ihned po lyofilizaci (počet ihned po lyofilizaci = 100 %) —

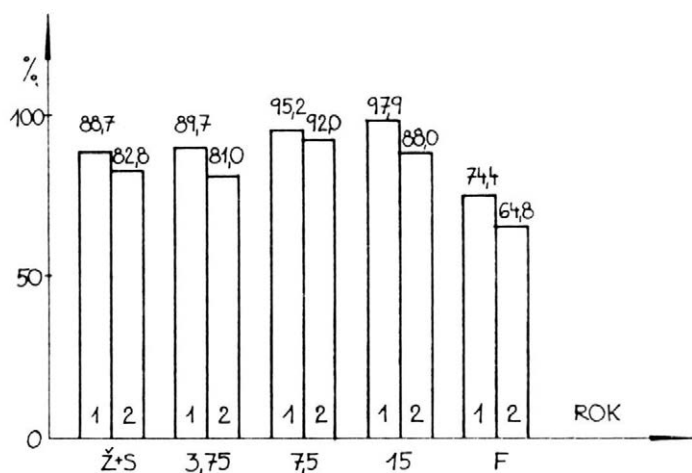
The effect of protective lyophilization media on the survival of *T. verrucosum* culture after one and two years of storage in lyophilized state at refrigerator temperature

x-axis: protective lyophilized medium (symbols the same as in Fig. 1); time of storage. *y*-axis: percentual amount of CFU after one and two years of storage vs. the number just after lyophilization (number just after lyophilization = 100 %)





3. Přežívání kultury *Trichophyton mentagrophytes* při lyofilizaci za použití několika ochranných lyofilizačních médií
 osa x : použité ochranné lyofilizační médium: Ž + S = 2,5% roztok želatiny + 3,75% roztok sacharózy; 3,75; 7,5; 15 = 3,75%; 7,5%; 15% roztok sacharózy; F = 0,8% fyziologický roztok; osa y : stejně jako u obr. 1 —
 The survival of *Trichophyton mentagrophytes* culture lyophilized with several protective lyophilization media
 x -axis: the protective lyophilization media: Ž + S = 2.5% gelatine solution + 3.75% solution of saccharose; 3.75, 7.5, 15 = 3.75%, 7.5%, 15% saccharose solution; F = 0.8% saline; y -axis: the same as in Fig. 1



4. Vliv ochranných lyofilizačních médií na přežívání kultury *T. mentagrophytes* po roce a po dvou letech udržování v lyofilizovaném stavu v chladničkové teplotě
 osa x : použité ochranné lyofilizační médium (stejně symboly jako u obr. 3); doba udržování; osa y : stejně jako u obr. 2 —
 The effect of protective lyophilization media on the survival of *T. mentagrophytes* culture after one and two years of storage in lyophilized state at refrigerator temperature

x -axis: the protective lyophilization media (symbols the same as in Fig. 3); time of storage. y -axis: the same as in Fig. 2

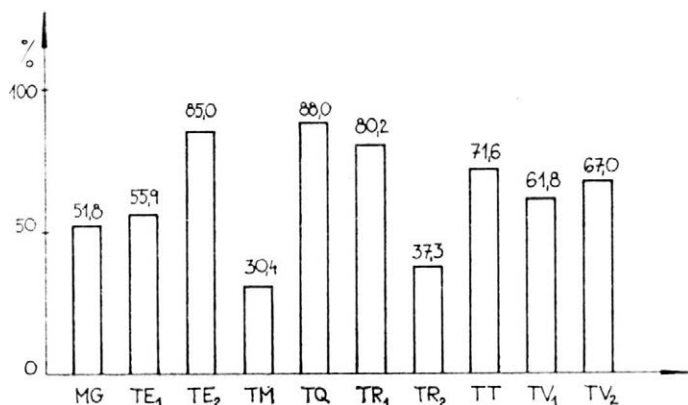
Zkoumané roztoky sacharózy v 3,75 až 15% koncentraci prokázaly protekční účinek při lyofilizaci a dvouletém udržování kultury *T. mentagrophytes* stejně dobrý jako roztok 2,5% želatiny + 3,75% sacharózy (obr. 3 a 4) nebo i vyšší. U vzorků se 7,5% a 15% sacharózou byla zjištěna zvýšená zbytková vlhkost lyofilizátů (3 až 4 %), která u ostatních vzorků nepřesáhla 2,5 %.

PŘEŽÍVÁNÍ DERMATOFYTŮ PŘI LYOFILIZACI

Nejlepších výsledků přežívání při lyofilizaci bylo dosaženo u kultur složených převážně z mikrokonidií (obr. 5). Množství životaschopných CFU po lyofilizaci bylo u těchto kultur v porovnání se stavem před lyofilizací 30 až 88 %. Relativní snížení životaschopnosti u kmenů složených hlavně z hyf, makrokonidií a chlamydospor bylo vlivem lyofilizace výrazně vyšší (obr. 6).

5. Přežívání kultur dermatofytů, složených převážně z mikrokonidií, při lyofilizaci

osa x: použitá kultura; MG = *Microsporum gypseum*; TE₁ = *Trichophyton equinum* č. 4036; TE₂ = *T. equinum* č. 4043; TM = *T. mentagrophytes* var. *mentagrophytes*; TQ = *T. mentagrophytes* var. *quinckeanum*; TR₁ = *T. rubrum* č. 197; TR₂ = *T. rubrum* č. 454; TT = *T. terrestre*; TV₁ = *T. verrucosum* č. 47; TV₂ = *T. verrucosum* č. 52; osa y: stejně jako u obr. 1 —



The survival of dermatophyte cultures, consisting mostly of conidia, when subjected to lyophilization

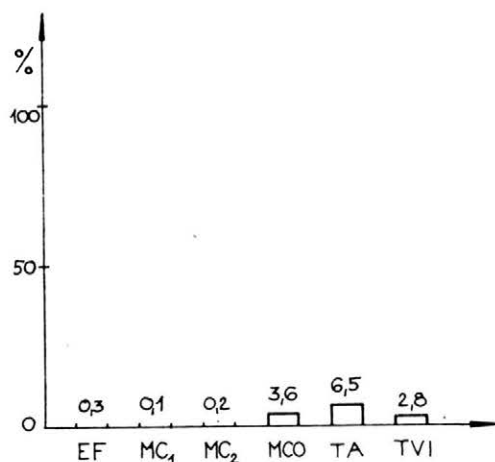
x-axis: the culture used; MG = *Microsporum gypseum*; TE₁ = *Trichophyton equinum* no. 4036; TE₂ = *T. equinum* no. 4043; TM = *T. mentagrophytes* var. *mentagrophytes*; TQ = *T. mentagrophytes* var. *quinckeanum*; TR₁ = *T. rubrum* no. 197; TR₂ = *T. rubrum* no. 454; TT = *T. terrestre*; TV₁ = *T. verrucosum* no. 47; TV₂ = *T. verrucosum* no. 52; y-axis: the same as in Fig. 1

6. Přežívání kultur dermatofytů, složených převážně z chlamydospór (*E. floccosum*), hyf (*M. canis*, *T. violaceum*) a makrokonidií (*M. cookei*, *T. ajelloi*), při lyofilizaci

osa x: použitá kultura; EF = *Epidermophyton floccosum*; MC₁ = *Microsporum canis* č. 4063; MC₂ = *M. canis* č. 6602; MCO = *M. cookei*; TA = *Trichophyton ajelloi*; TVI = *T. violaceum*; osa y: stejně jako u obr. 1 —

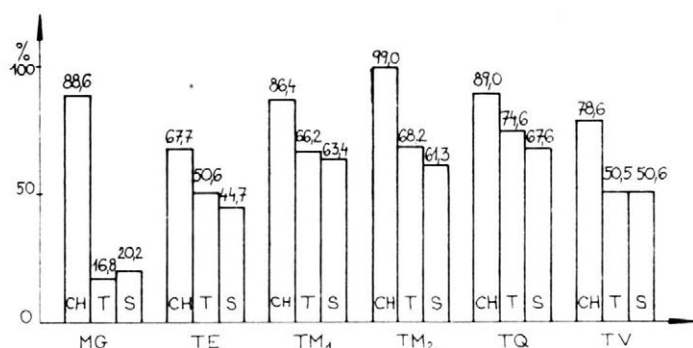
The survival of dermatophyte cultures with a predominance of chlamydospores (*E. floccosum*), hyphae (*M. canis*, *T. violaceum*) and macroconidia (*M. cookei*, *T. ajelloi*) during lyophilization

x-axis: the culture used; EF = *Epidermophyton floccosum*; MC₁ = *Microsporum canis* no. 4063; MC₂ = *M. canis* no. 6602; MCO = *M. cookei*; TA = *Trichophyton ajelloi*; TVI = *T. violaceum*; y-axis: the same as in Fig. 1



VLIV ZPŮSOBU UDRŽOVÁNÍ LYOFILIZOVANÝCH VZORKŮ NA ŽIVOTASCHOPNOST DERMATOFYTŮ

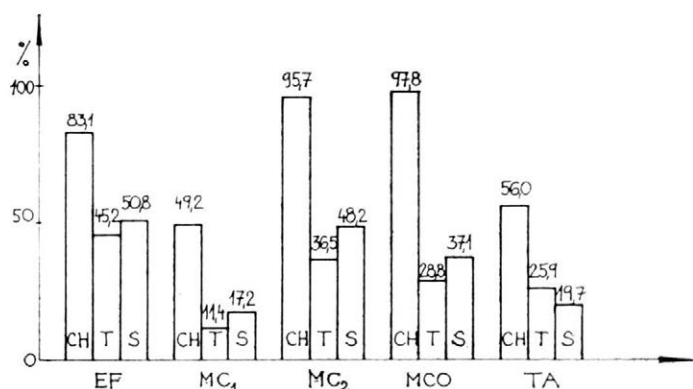
Relativní snížení viability kultur po jednom roce udržování bylo nejnižší u vzorků uchovávaných v chladničce. Relativní pokles životaschopnosti u vzorků udržovaných při laboratorní teplotě byl výrazně vyšší. Viabilita kultur nebyla významně ovlivněna podmínkou, zda byly vzorky udržovány na světle nebo v temnu (obr. 7 a 8).



tes var. *quinckeanum*; TV = *T. verrucosum*; osa y: procentuální množství CFU po ročním udržování proti stavu ihned po lyofilizaci (počet ihned po lyofilizaci = 100 ‰) —

The survival of the lyophilized cultures of dermatophytes with a predominance of microconidia after a year of exposure to refrigerator temperature (CH) and to room temperature in light (S) and in the dark (T)

x-axis: the culture used: MG = *Microsporum gypsum*; TE = *Trichophyton equinum*; TM₁ = *T. mentagrophytes* no. 506; TM₂ = *T. mentagrophytes* no. 509; TQ = *T. mentagrophytes* var. *quinckeanum*; TV = *T. verrucosum*; y-axis: percentual amount of CFU after a year of storage vs. the status immediately after lyophilization (number just after lyophilization = 100 ‰)



dermatophytes with a predominance of chlamydospores (*E. floccosum*), hyphae (*M. canis*) and macroconidia (*M. cookei*, *T. ajelloi*), after a year of exposure to refrigerator temperature (CH) and to room temperature in the light (S) and in the dark (T)

x-axis: the culture used (symbols the same as in Fig. 6); y-axis: the same as in Fig. 7

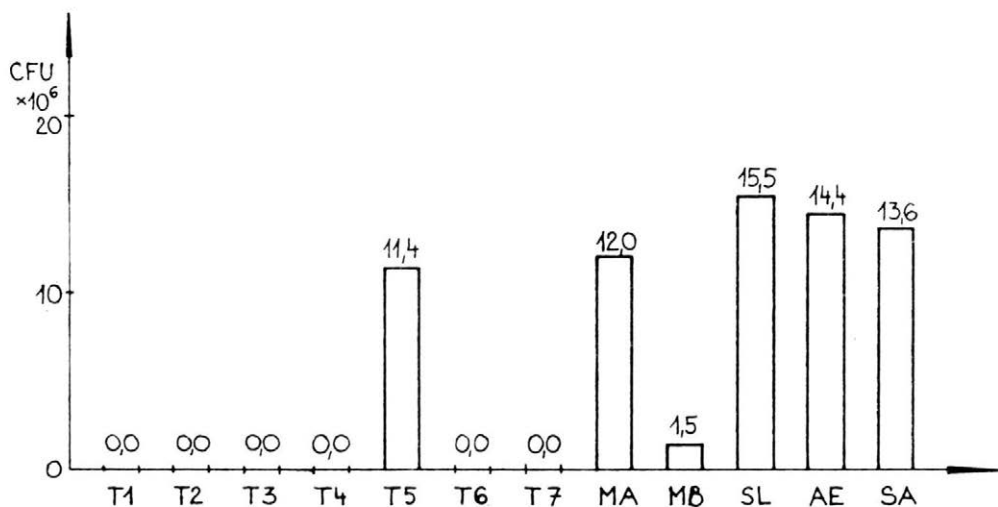
7. Přežívání lyofilizovaných kultur dermatofytů, složených převážně z mikrokonidií, po ročním uchovávání v chladničkové teplotě (CH) a při pokojové teplotě na světle (S) a v temnu (T) osa x: použitá kultura: MG = *Microsporum gypsum*; TE = *Trichophyton equinum*; TM₁ = *T. mentagrophytes* č. 506; TM₂ = *T. mentagrophytes* č. 509; TQ = *T. mentagrophytes* var. *quinckeanum*; TV = *T. verrucosum*; osa y: procentuální množství CFU po ročním udržování proti stavu ihned po lyofilizaci (počet ihned po lyofilizaci = 100 ‰) —

8. Přežívání lyofilizovaných kultur dermatofytů, složených převážně z chlamydospór (*E. floccosum*), hyf (*M. canis*) a makrokonidií (*M. cookei*, *T. ajelloi*), po ročním uchovávání v chladničkové teplotě (CH) a při pokojové teplotě na světle (S) a v temnu (T) osa x: použitá kultura (symboly stejné jako u obr. 6); osa y: stejné jako u obr. 7 —

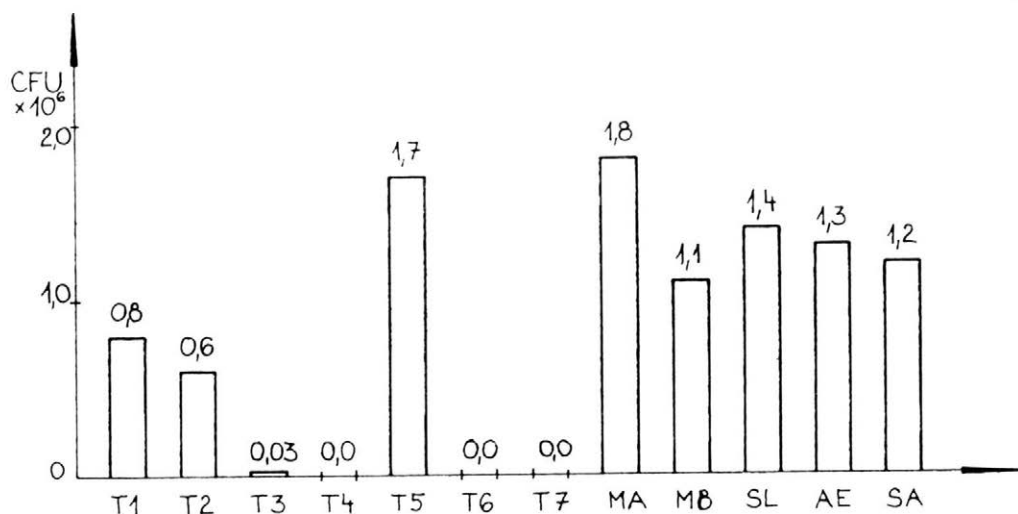
The survival of lyophilized cultures of (*E. floccosum*), hyphae (*M. canis*) and macroconidia (*M. cookei*, *T. ajelloi*), after a year of exposure to refrigerator temperature (CH) and to room temperature in the light (S) and in the dark (T)

VÝBĚR VHODNÉ ŽIVNÉ PŮDY PŘI REKONSTITUCI LYOFILIZOVANÝCH KULTUR

Nejvyšší hodnoty kultivační záchytnosti u kmene *T. mentagrophytes* jsme zjistili na Mycological agaru a *Trichophyton* agaru 5 (obr. 10), u kultury *T. terrestre* na *Trichophyton* agaru 1, 4 a 5 (obr. 11). Po výsevu ředěné suspenze *T. equinum* byl zjištěn největší počet životaschopných jednotek na sladinkových půdách a na Sabouraudově agaru, zatím-



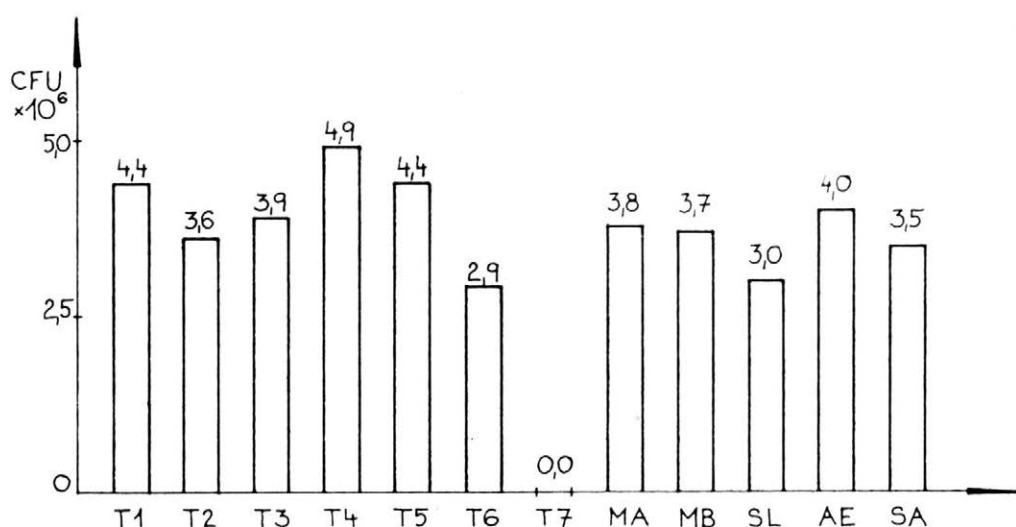
9. Kultivační záchytnost lyofilizované kultury *Trichophyton equinum* č. 4043 na agarových médiích (osa x: živné médium: T₁ až T₇ = Trichophyton agar č. 1 až 7; MA = Mycological agar; MB = Mycobiologic agar; SL = sladinkový agar; AE = agar se sladinkovým extraktem; SA = Sabouraudův agar; osa y: kultivační záchytnost = množství CFU v 1 cm³ standardní suspenze kultury) — Cultivation recovery of *Trichophyton equinum* no. 4043 lyophilized culture on agar media (x-axis: the nutrient media: T₁ to T₇ = Trichophyton agar no. 1 to 7; MA = Mycological agar; MB = Mycobiologic agar; SL = sweet wort agar; AE = agar with sweet wort extract; SA = Sabouraud's agar; y-axis: cultivation recovery = amount of CFU per 1 cm³ of standard culture suspension)



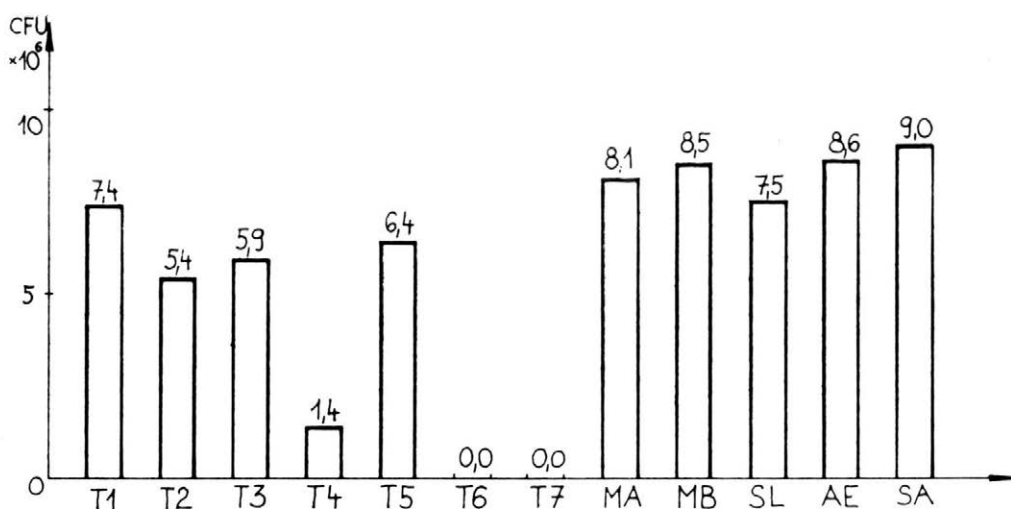
10. Kultivační záchytnost lyofilizované kultury *Trichophyton mentagrophytes* č. 506 na agarových médiích (osa x i osa y: stejné jako u obr. 9) — Cultivation recovery of lyophilized culture of *Trichophyton mentagrophytes* no. 506 on agar media (x- and y-axes: the same as in Fig. 9)

co na Trichophyton agarech (s výjimkou Trich. agaru 5) nebyl růst této kultury v použitém ředění vůbec pozorován (obr. 9).

Také kultivační záchytnost kmene *T. verrucosum* byla nejvyšší na Sabouraudově agaru a sladinkových půdách a dále na Mycobiologic agaru a Mycological agaru (obr. 12).



11. Kultivační záchytnost lyofilizované kultury *Trichophyton terrestre* č. 1187 na agarových médiích (osa x i osa y : stejně jako u obr. 9) — Cultivation recovery of lyophilized culture of *Trichophyton terrestre* no. 1187 on agar media (x - and y -axes: the same as in Fig. 9)



12. Kultivační záchytnost lyofilizované kultury *Trichophyton verrucosum* č. 036 na agarových médiích (osa x i osa y : stejně jako u obr. 9) — Cultivation recovery of lyophilized culture of *Trichophyton verrucosum* no. 036 on agar media (x - and y -axes: the same as in Fig. 9)

DISKUSE

Dobré výsledky při lyofilizaci biologických systémů jsou závislé na dodržení mnoha podmínek v jednotlivých fázích lyofilizačního procesu. Vedle způsobu přípravy, parametrů zmrazování a dehydratace produktu mohou důležitou úlohu hrát i podmínky uskladnění a rekon-

stituce lyofilizovaného materiálu. Výsledek lyofilizace mikroorganismů je často rozhodující měrou ovlivněn kvalitou připravené mikrobiální kultury a výběrem vhodného ochranného lyofilizačního média.

Některé tyto otázky byly studovány také u mikroskopických hub. Obecnou zkušeností je, že životaschopnost mikromycet je při lyofilizaci nejméně snížena při použití sporulujících kultur. Nikiforov (1976) uvádí, že zatímco hyfy dermatofyta *Trichophyton verrucosum* vlivem lyofilizace hynuly, spóry (mikrokonidie) lyofilizační proces převážně přežívaly. Podobné výsledky jsme získali i v naší práci. Viabilita kmenů dermatofytů složených hlavně z hyf vlivem lyofilizace prudce poklesla. Životaschopnost se výrazně snížila také při lyofilizaci kmenů, u kterých byl při mikromorfologickém vyšetření zjištěn největší podíl makrokonidií a chlamydospór. Nejvyšší přežívání při lyofilizaci bylo zjištěno u kultur tvořících velké množství mikrokonidií. Schopnost jednotlivých útvarů dermatofytů přežívat lyofilizaci je zřejmě závislá na jejich velikosti a na síle buněčné stěny. Větší houbové elementy (hyfy, makrokonidie, chlamydospóry) jsou výrazně poškozeny pravděpodobně již v první etapě lyofilizace — při zmrazení, kdy krystalky ledu mohou způsobit irreverzibilní změny buněk.

Správný výběr ochranného lyofilizačního média je dalším rozhodujícím faktorem úspěšné lyofilizace. Při lyofilizaci mikroskopických hub je běžně používáno normální inaktivované hovězí sérum (Raper a Alexander, 1945; Fennell, 1960; Wawrzkievicz, 1976). Smith a Onions (1983) udržovali lyofilizované kultury mikromycet v životaschopném stavu po dobu 15 let při použití 10% sbíraného mléka (skim milk) nebo 10% sbíraného mléka + 5% inositolu jako ochranných médií. Nikiforov (1981) dosáhl při lyofilizaci mikrokonidií *T. verrucosum* nejlepších výsledků s roztokem želatiny (4%) a sacharózy (20%) nebo s roztokem želatiny (4%) a sorbitu (20%).

Podobně i v naší práci prokázalo ochranné médium složené ze želatiny a sacharózy velmi dobrý protekční účinek, i když jsme použili nižší koncentrace obou látek (2,5 resp. 3,75%). Jako účinné a zcela srovnatelné prostředí k ochraně zkoumaných dermatofytických kultur při lyofilizaci a dvouletém udržování se ukázal roztok sacharózy v 3,75, 7,5 a 15% koncentraci, třebaže u některých vzorků byla zjištěna zvýšená relativní zbytková vlhkost lyofilizátů.

Při použití inaktivovaného hovězího séra k lyofilizaci *T. verrucosum* jsme dosáhli hodnot přežívání kultur nižších (asi 40 % životaschopných jednotek) než u uvedených ochranných lyofilizačních agens. Poměrně velké množství mikrokonidií *T. verrucosum* a *T. mentagrophytes* (asi 30 %) přežívalo lyofilizační procedury i bez ochranného média ve fyziologickém roztoku.

Životaschopnost houbových elementů se snižuje jednak v průběhu lyofilizace, jednak při jejich dlouhodobém udržování v lyofilizovaném stavu. Při skladování lyofilizátů jsou významné zejména teplotní poměry. Bosmans (1974) sice uvedl, že lyofilizované kultury patogenních hub byly viabilní i po deseti letech uchovávání při pokojové teplotě, neporovnával však kvantitativně pokles životaschopnosti s výchozím stavem ihned po lyofilizaci. Naše pokusy ukazují, že při jednorocním udržování lyofilizovaných kmenů dermatofytů v chladničce se jejich viabilita snížila většinou jen nepatrně. U lyofilizovaných vzorků umístěných jeden

rok v laboratorní teplotě výrazně poklesla životaschopnost kultur. Uvedené výsledky jsou kvantitativním potvrzením údajů, které uvedl Rhodes (1970). Tento autor dlouhodobě udržoval lyofilizované kultury bakterií, plísní a kvasinek.

Na základě našich pokusů nelze říci, že při skladování lyofilizátů v laboratorní teplotě byla viabilita kultur negativně ovlivněna světlem. Tyto výsledky jsou překvapivé, neboť inhibiční vliv světla na životaschopnost kultur dermatofytů je obecně znám (Buchníček, 1974). Vysvětlením může být nepropustnost UV-záření stěnami lékovek, světelná expozice pouze povrchových vrstev lyofilizátů, popřípadě zvýšená odolnost lyofilizovaných spor udržovaných ve vakuu vůči světlu.

Výběr kultivačního média při rekonstrukci lyofilizovaných kultur může významně ovlivnit výsledky jejich kultivační záchytnosti. Z našich pokusů je patrné, že počet narostlých kolonií po výsevu standardního množství ředěných lyofilizovaných kmenů dermatofytů byl na různých živných půdách rozdílný. Dobrých výsledků jsme dosáhli zejména na sladinkových agarových půdách a na Sabouraudově agaru. Kultivační záchytnost dermatofytů na těchto živných půdách byla plně srovnatelná se speciálními zahraničními médii (Mycological agar, Mycobiotic agar).

Použití Trichophyton agarů (Difco) pro zpětnou kultivaci lyofilizovaných kultur dermatofytů se ve většině případů ukázalo jako málo vhodné. Dosažené výsledky jsou v souladu s návodem k použití těchto živných půd, neboť se jedná o média určená především k diferenciaci kultur dermatofytů.

Z našich pokusů i z údajů dalších autorů je zřejmé, že konzervace patogenních hub lyofilizací představuje vhodný způsob dlouhodobého udržování v životaschopném stavu zejména u těch kultur, které tvoří dostatečné množství mikrokonidií. Úspěšné výsledky lyofilizace jsou dále podmíněny správným výběrem účinného protekčního lyofilizačního média a dodržení optimálních parametrů jednotlivých fází lyofilizačních procedur. Zanedbatelné nejsou ani podmínky skladování a způsob rekonstituce lyofilizovaných kultur.

Literatura

- BOSMANS, J.: Ten years lyophilization of pathogenic fungi. Mycopath. et Mycol. appl., 3, 1974, s. 13-23.
- BUCHNÍČEK, J.: Biologische Inhibition durch Licht. Acta Univ. Palack. olomuc., Fac. Med., 71, 1974, s. 161-237.
- FENNELL, D. I.: Conservation of fungus cultures. Bot. Rev., 26, 1960, s. 79-141.
- NIKIFOROV, L. I.: Ispytanie immunogennoj aktivnosti opytnych serij suchoj protivotrichofitnoj vakciny LTF-130. Bjull. Vsesojuz. Inst. eksp. Veter., 25, 1976, s. 11-13.
- NIKIFOROV, L. I.: Zaščitnye sredy dlja liofilizacii živych gribnyh vakcin. Bjull. Vsesojuz. nauč.-issled. Inst. eksp. Veter., 42, 1981, s. 27-29.
- RAPER, K. B. — ALEXANDER, D. F.: Preservation of molds by the lyophil process. Mycologia, 37, 1945, s. 499-525.
- RHOADES, H. E.: Effects of 20 years storage on lyophilized cultures of bacteria, molds, viruses, and yeasts. Amer. J. veter. Res., 31, 1970, s. 1867-1870.
- SMITH, D. — ONIONS, A. H. S.: A comparison of some preservation techniques for fungi. Trans. Brit. mycol. Soc., 81, 1983, s. 535-540.
- WAWRZKIEWICZ, K.: Liofilizacja jako metoda przechowywania szczepów *Trichophyton verrucosum*. Med. veter., 32, 1976, s. 116-119.

Došlo dne 8. 1. 1987

РЫБНИКАРЖ, А. — ШМИД, Й. — СТРОССА, Я. (Биовета, нац. предпр., Ивановице на Гане): **Лиофилизация дерматофитов.** Veter. Med. (Praha), 32, 1987 (8) : 497-508.

При лиофилизации 16 штаммов дерматофитов наилучших результатов выживания было достигнуто у культур, преимущественно состоящих из микроконидий. Жизнеспособность штаммов, образующих главным образом макроконидии, хламидоспоры и гифы, лиофилизацией резко понижалась. В качестве протекционной лиофилизационной среды во время лиофилизации и двухлетнем поддержании культур *Trichophyton mentagrophytes* и *T. verrucosum* оправдал себя 2,5% раствор желатины + 3,75% раствор сахарозы. Очень хорошие результаты резко понизились также при применении растворов сахарозы (3,75; 7,5 и 15%), однако у некоторых была установлена повышенная относительная остаточная влажность лиофилизатов. Хранение лиофилизированных культур дерматофитов было успешным и в холодильнике. При хранении лиофилизатов в лабораторной температуре резко понизились также при применении штаммов независимо от того, хранились ли они на свету или в темноте. Питательную среду при реконституции лиофилизированных штаммов необходимо выбирать на основе требований роста отдельных культур. В наших опытах оправдали себя главным образом среды из пивного сусла и агар Сабу́ро, из заграничных — Mycological agar и Mycobiotic agar.

охранная лиофилизационная среда; изменчивость лиофилизированных образцов; поддержание (хранение) лиофилизатов; реконституция лиофилизированных культур

RYBNIKAR, A. — SCHMIED, J. — STROSSA, J. (Bioveta, National Corp., Ivanovice na Hané): **The Lyophilization of Dermatophytes.** Veter. Med. (Praha), 32, 1987 (8) : 497-508.

When 16 dermatophyte strains were lyophilized, the highest survival was recorded in cultures where microconidia constituted a prevalent part. The viability was considerably reduced by lyophilization in the strains producing mainly macroconidia, chlamydospores and hyphae. A 2.5% solution of gelatine + 3.75% solution of saccharose proved to be an effective protecting lyophilization medium for the cultures of *Trichophyton mentagrophytes* and *T. verrucosum* to be lyophilized and maintained for two years. Very good results were also obtained when saccharose solutions (3.75, 7.5 and 15%) were used alone; however, an increased relative residual moisture content of the lyophilizates was recorded in some samples. Lyophilized cultures of dermatophytes were stored with success at refrigerator temperatures. When the lyophilizates were kept at laboratory temperature, the viability of the strains was reduced substantially irrespective of their being kept in the dark or exposed to light. The nutrient medium for the reconstitution of the lyophilized strains should be chosen on the basis of the growth requirements of individual cultures. In our trials the best results were obtained with the sweet wort media and the Sabouraud agar; the best media imported from foreign countries were the Mycological agar and Mycobiotic agar.

protective lyophilization media; viability of lyophilized samples; maintenance of lyophilizates; reconstitution of lyophilized cultures

RYBNIKAR, A. — SCHMIED, J. — STROSSA, J. (Bioveta, Ivanovice na Hané): **Lyophilisierung der Dermatophyten.** Veter. Med. (Praha), 32, 1987 (8) : 497-508.

Bei der Lyophilisierung der 16 Stämme der Dermatophyten wurden die besten Ergebnisse auf dem Gebiet des Überlebens bei den vorwiegend aus Mikrokonidien bestehenden Kulturen erzielt. Die Vitalität der Stämme, die vor allem Makrokonidien, Chlamydosporen und Hyphen bilden, wurde unter dem Einfluß der Lyophilisierung bedeutend vermindert. Als ein sehr wirksames schützendes Lyophilisierungsmedium bei der Lyophilisierung und bei einem zweijährigen Aufrechterhalten der Kultur *Trichophyton mentagrophytes* und *T. verrucosum* bewährten sich die 2,5%-ige Gellösung + 3,75%-ige Saccharoselösung. Sehr gute Ergebnisse wurden auch bei der Applikation der Saccharoselösungen (3,75; 7,5 und 15%) ermittelt, bei einigen Proben wurde eine erhöhte relative Restfeuchtigkeit der Lyophilisate beobachtet. Die Lagerung der lyophilisierten Kulturen von Dermatophyten war bei Kühlschranktemperatur erfolgreich. Bei der Lagerung der Lyophilisate bei Labor-

temperatur wurde die Vitalität der Stämme wesentlich vermindert und zwar unabhängig davon ob sie im Finstern oder bei Licht aufbewahrt worden waren. Der Nährboden bei der Rekonstitution der lyophilisierten Stämme muß aufgrund der Wachstumsanforderungen der einzelnen Kulturen ausgewählt werden. Bei unseren Versuchen bewährten sich vor allem die sog. Würzeböden und der Sabouraud-Agar, von den ausländischen Medien der Mycological Agar und der Mycobiotic Agar.

lyophilisierende Schutzmedien; Vitalität der lyophilisierten Proben; Lagerung der Lyophilisate; Rekonstitution der lyophilisierten Kulturen

Adresa autorů:

RNDr. Alois Rybníkář, Jiří Schmied, PhMr. Jan Strossa, Bioveta, n. p.,
Komenského 212, 683 23 Ivanovice na Hané

KRÁTKÁ SDĚLENÍ

Rychlá metoda detekce oocyst kokcií rodu *Cryptosporidium* u kuřat

Kryptosporidiózní infekce u drůbeže za živa se doposud diagnostikují metodou průkazu oocyst vylučovaných výkaly infikovaných hostitelů různými koprologickými, flotačně-centrifugačními nebo barvicími metodami roztěrů trusu. Všechna dosud známá vývojová stadia kokcií rodu *Cryptosporidium* u pitvaných hostitelů se diagnostikují různými způsoby barvení roztěrů z povrchových slizničních epitelů, histologickými metodami nebo náročnějšími metodami elektronové mikroskopie. Používané koprologické metody diagnostiky jsou časově poměrně náročné, a to jak při získávání identického materiálu — trusu, tak i při jeho přípravě a zpracování k parazitologickému vyšetření. U většiny metodik je zapotřebí, kromě odběru trusu, minimálně 7 až 10 minut k přípravě jednoho vzorku k vyšetření; vyžadují použití centrifugy, laboratorního skla, které musí být při přípravě každého dalšího vzorku čisté, a různých chemikálií k přípravě flotačních nebo speciálních barvicích roztoků.

Uvedené nedostatky odstraňuje metoda rychlé detekce oocyst kryptosporidií rodu *Cryptosporidium* u drůbeže, která vychází z výsledků našich studií o vývoji a průběhu kryptosporidiózních infekcí kuřat. Z nich je zřejmé, že maximální produkce oocyst, podle kterých lze určit přítomnost parazita v organismu hostitele za živa, je soustředěna v burse Fabricii a v kloace.

Podstatou metody rychlé detekce oocyst kryptosporidií u kuřat je výplach kloaky. K výplachu se používá fyziologický roztok nebo voda. Injekční stříkačkou (bez jehly) se do kloaky vpraví dva až pět milimetrů tekutiny (podle objemu a věku kuřat), která se opět nasaje zpět do injekční stříkačky.

METODIKA

1. Injekční stříkačky o objemu 2 až 5 ml (podle objemu kloaky) se před odběrem naplní fyziologickým roztokem nebo vodou, temperovanými na 37 až 40 °C.
2. Příslušné množství tekutiny se pomalu vstříkne do kloaky.
3. Po dvou až třech sekundách se tekutina opět nasává zpět do injekční stříkačky.
4. Obsah stříkačky se mírně protřepe a dvě až tři kapky tekutiny z výplachu se nanesou na podložní sklíčko.
5. Po přiložení krycího sklíčka se tekutina okamžitě prohlíží pod mikroskopem při zvětšení 400 až 1000×. Oocysty kryptosporidií se projevují jako ovoidní, bezbarvé nebo žlutě opaleskující organismy.

V závislosti na vývoji a průběhu kryptosporidiózní infekce, a to již v období prepatentní periody, je možné touto metodou při některých vyšetřeních nalézt volně se pohybující merozoity. Velmi často se objevují i různá vývojová stadia pevně přichycená a obklopená parazitoforními

vakuolou v odloupnutém slizničním epitelu, která jsou ještě zřetelnější po dobarvení roztěru metodou podle Giemsy.

Ze zjišťování experimentálních infekcí kuřat vyplynulo, že metodou výplachů kloaky lze přítomnost oocyst prokázat o jeden až dva dny dříve než při běžně používaných koprologických vyšetřováních vzorků trusu. Metoda je velmi jednoduchá, nevyžaduje náročné přístrojové vybavení, vyznačuje se vysokým stupněm zachytnosti oocyst, zorné pole mikroskopu je ve většině případů velmi čisté a přehledné. Umožňuje rychlý odběr parazitologického materiálu a kromě nanesení několika kapek tekutiny z výplachu kloaky na podložní sklíčko není třeba vykonávat jinou přípravu a manipulaci se vzorkem určeným k vyšetření.

V případě, že výsledek vyšetření je negativní, je možné tekutinu z výplachu kloaky centrifugovat a po odstranění supernatantu zjišťovat přítomnost oocyst kryptosporidií v sedimentu, nebo sediment vyšetřovat některou z flotačně centrifugačních koprologických metod.

*Ing. Ivan Pavlášek, CSc.
Parazitologický ústav ČSAV, České Budějovice*

ANAEROBNÍ BAKTERIE A ANAEROBNÍ INFEKCE

M. Zavadová

Avicenum, Zdravotnické nakladatelství, Praha 1986

V roku 1987 sa na knižný trh dostala táto veľmi cenná a očakávaná publikácia. Kniha má 212 strán a je spracovaná do 14 kapitol, 30 tabuliek a má 51 obrázkov fotografickej dokumentácie.

V úvodných kapitolách (*Co jsou anaeroby, Taxonomie anaerobů*) popisuje význam a postavenie anaeróbov v klinickej bakteriológii. Konštatuje, že diagnostika anaeróbných infekcií sa v minulosti považovala za záležitosť príležitostných kazuistik z pohľadu mnohých klinických disciplín. Súčasne poznatky a požiadavky z klinickej praxe však ukazujú, že je potrebné budovať špecializované pracoviská pre anaeróby, ktoré by mali metodicky usmerňovať rutinnú diagnostiku anaeróbov v oblasti klinickej mikrobiológie. Dokladom toho sú pracoviská vo Francúzku — Pasteurov ústav, v USA — Virginský polytechnický ústav a podobné ústavy v ZSSR, Anglicku, Japonsku a inde.

Poznatky u nás i v zahraničí už širšie zdôvodňujú diagnostiku anaeróbov ako jednu z kľúčových úloh klinickej mikrobiológie i napriek tomu, že táto činnosť je časovo i pracovne dosť náročná. Historické retrospektívy o dôkaze tetano-botulotoxínu, aktinomykózy, toxických klostridióz a infekcií vyvolaných anaeróbnymi nesporulujúcimi baktériami tiež podporujú význam rozvoja rutinnej diagnostiky anaeróbných infekcií.

V taxonómii nesporulujúcich baktérií sa poukazuje na niektoré zmeny u zvlášť sledovaných rodov, ako sú rod *Bacteroides* a rod *Fusobacterium*.

V taxonómii sporulujúcich anaeróbných baktérií autorka vychádza z práce, ktorú uverejnila Sebalďová (1981), ako i z prác iných autorov, ktorí obohatili taxonómiu novými druhmi (napr. *Cl. cocleatum*, *Cl. spiroforme*, *Cl. clostridiiformis* a iné). Tieto druhy sa od grampozitívnych, rovných, pohyblivých sporulujúcich paličiek líšia aj morfológicky.

Jednou z rozsiahlejších kapitol je úsek *Lékařsky významné anaeroby*. Sú to rody: *Veillonella*, *Acidaminococcus*, *Megasphaera* (gramnegatívne anaeróbné koky), *Peptococcus*, *Peptostreptococcus* (grampozitívne anaeróbné koky), *Bacteroides*, *Fusobacterium*, *Campylobacter* (gramnegatívne nesporulujúce paličky), *Propionibacterium*, *Eubacterium*, *Actinomyces*, *Bifidobacterium* (grampozitívne anaeróbné nesporulujúce paličky).

Napokon je obsiahly a diagnosticky široko významný rod *Clostridium* prezentovaný grampozitívnymi anaeróbnymi sporulujúcimi paličkami, jeho jednotlivé druhy sa vyznačujú rôznorodosťou a pestrťou po stránke morfologickej a biochemickej, čo je často zložitým problémom ich taxonomického zatriedenia.

Z ďalších dôležitých úsekov publikácie je kapitola *Toxíny klostridií*. V tejto časti autorka najprv demonštruje prehľad o klostridiových toxínoch a ich dôkaze (tab. 24), potom podáva informácie o toxínoch jednotlivých druhov (*Cl. botulinum*, *Cl. tetani*, *Cl. perfringens* a iné). Okrem toho podrobne podáva prehľad o dôkaze toxínov *Cl. perfringens* (tab. 27, 28), čo je zvlášť významné pre rutinnú diagnostiku humánnej a veterinárnej mikrobiológie z hľadiska epidemiológie a epizootológie.

Podobne významné sú informácie o ostatných klostridiových toxínoch (*Cl. oedematiens*, *Cl. chauvoei*, *Cl. septicum*, *Cl. histolyticum*, *Cl. sordelli*, *Cl. fallax*, *Cl. difficile*) ako i o dôkaze enterotoxínu *Cl. perfringens* typ A na segmentoch tenkého čreva kráľika, ktorý popisali Duncan a i. (1972).

V kapitole *Diagnostika anaerobních infekcí* sú zdôraznené požiadavky na zisťovaný materiál, a to hlavne na jeho voľbu a odber a na transport pevných a tekutých materiálov (krv, hnis, exsudáty a iné), aby sa zachovali optimálne anaeróbné podmienky.

Osobitný prínos tejto knihy — na rozdiel od mnohých zahraničných publikácií — spočíva v tom, že v kapitole *Technika práce s anaeroby* pomerne podrobne oboznamuje odbornú verejnosť s rutinnou diagnostikou anaeróbných infekcií.

pokiaľ jej to umožňuje priestor čiastočne limitovaný vydavateľom. Predmetom tejto kapitoly sú základné pracovné postupy, ako je spracovanie materiálu, mikroskopia, kultivácia, zásady anaerobiózy, hodnotenie primokultúr, zakladanie subkultúr a hodnotenie identifikačných postupov.

Prevážne náročnejšie pracovné postupy sú rozpracované v kapitole *Zvláštni techniky*. V tejto časti popisuje autorka postupy pri dôkaze klostrídiových toxínov, enterotoxínu *Cl. perfringens* typ A, ďalej popisuje semikvantitatívne (difúzne) a kvantitatívne testy pri zisťovaní citlivosti anaeróbov voči antibiotikám ako i metódu pre kvantitatívne stanovenie anaeróbov vo vyšetrovanom materiáli. Osobitne poukazuje na použitie plynovej chromatografie pre stanovenie nižších neunikavých mastných kyselín v biologickom materiáli a v kultivačných médiách. V tejto súvislosti uvádza práce autorov Baše (1986) a Holdemanová (1981).

Na predchádzajúcu časť nadväzuje kapitola *Testy a pôdy*, v ktorej sú popísané receptúry a ich použitie pre základné i špeciálne (selektívne) pôdy a testy.

Ďalšie kapitoly informujú o anaeróbnej flóre dutiny ústnej, zažívacieho traktu človeka, ako i vaginálnej a cervikálnej anaeróbnej mikroflóry.

Významnou kapitolou je *Charakteristika a obecné poznatky o anaerobných infekciách*. V tejto časti sa poukazuje na exogénne a endogénne faktory vzniku anaeróbných infekcií, na rozvoj anaeróbných infekcií a ich vzájomný synergizmus tak medzi anaeróbnymi samotnými, ako aj medzi aeróbnou a anaeróbnou mikroflórou.

Záverečné kapitoly *Obrana proti anaeróbom* a *Prehľad hlavných druhů anaerobních infekcií* podávajú prehľad — so zreteľom na špecifickú problematiku — o prevencii, terapii a imunoprofylaxii anaeróbných infekcií u človeka.

Keby sme chceli celkove hodnotiť publikáciu MUDr. M. Závadovej, CSc., treba spomenúť, že autorka v tomto životnom diele hmatateľne transformovala do prítomnosti svoju činnosť v bakteriológii — od čias svojich začiatkov s anaeróbnymi pod vedením prof. MUDr. F. Patočku, DrSc., na lekárskej fakulte Univerzity Karlovej, cez stážový pobyt v Pasteurovom ústave v Paríži až po svoju dlhodobú činnosť ako vedúca NRL pre anaeróby v ČSSR, rutinne napojeného na klinickú diagnostiku v Thomayerovej nemocnici v Prahe-Krči. Za týchto podmienok sa z pozície bakteriológa a klinika dopracovala k ucelenému pohľadu na problematiku anaeróbných infekcií u človeka, čo je aj spoločným menovateľom uvedenej publikácie.

V tejto súvislosti treba uviesť, že NRL pre anaeróby v Prahe pod vedením MUDr. M. Závadovej, CSc., v nedávnej minulosti pomohlo doriešiť v niektorých prípadoch aj naliehavú anaeróbnu diagnostiku veterinárnej problematiky, napr. botulizmus u divých kačíc na Slovensku, kožušínových zvierat v ČSSR ako i niektorých hromadných klostrídiových infekcií *Cl. perfringens* u hospodárskych zvierat.

Prínos publikácie pre veterinárnu bakteriológiu a epizootológiu spočíva v tom, že je zdrojom metodických informácií pri inovácii metodík v bakteriologickej diagnostike anaeróbných klostrídiových infekcií hospodárskych zvierat. V oblasti diagnostiky anaeróbných nesporelujúcich baktérií bude podnetom pre analýzu ekologickej mikroflóry, hlavne pre správne hodnotenie fyziologickej i potenciálne patogénnej anaeróbnej i aeróbnej mikroflóry v jednotlivých orgánových systémoch (dýchacích, zažívacích i urogenitálny trakt a iné) a nielen v reprodukcií hospodárskych zvierat, ale i pri formovaní koncepcie so zameraním na biotechnológiu v oblasti rozvoja živočíšnej výroby.

V tomto smere je uvedená publikácia veľmi užitočná a vítaná nielen pre epizootológiu a rutinnú bakteriologickú diagnostiku, ale je aj inšpiráciou pre špecializované pracoviská bakteriologickej diagnostiky anaerobiontov vo veterinárnej praxi i výskumu.

MVDr. Jozef Šabo, CSc.
Štátny veterinárny ústav, Nitra

CONTENTS

Brouček J., Kovalčík K., Gajdošík D., Brestenský V.: Changes in the Biochemical Parameters of Dairy Cows Induced by Extremely Low Temperatures	449
Bekeová E., Elečko J., Hendrichovský V., Choma J., Lázar L., Krajničáková M.: The Effect of Beta-Carotene on Thyroxine and Cholesterol Concentrations in Pregnant Heifers before and after Parturition	459
Škollová Z., Goiš M.: Detection of the Strains of <i>Haemophilus pleuropneumoniae</i> by the Coagglutination Test	469
Raszyk J. a kol.: Etiology and Pathogenesis of Papular Dermatitis in Fattened Pigs	479
Rajtová V.: The Morphology and Occurrence of the Supraependymal Structures in the Ventricular System of the Brain of Sheep	489
Rybníkář A., Schmied J., Strossa J.: The Lyophilization of Dermatophytes	497

INHALT

Brouček J., Kovalčík K., Gajdošík D., Brestenský V.: Veränderungen biochemischer Merkmale der Milchkühe hervorgerufen durch extrem niedrige Temperaturen	449
Bekeová E., Elečko J., Hendrichovský V., Choma J., Lázar L., Krajničáková M.: Einfluß von Beta-Karotin auf die Konzentration von Thyroxin und Cholesterol bei trächtigen Färsen vor und nach der Geburt	459
Škollová Z., Goiš M.: Nachweis von Stämmen <i>Haemophilus pleuropneumoniae</i> mittels Koagglutinationstest	469
Raszyk J. a kol.: Ätiologie und Pathogenese der papulösen Dermatitis bei Mastschweinen	479
Rajtová V.: Morphologie und Vorkommen von Supraependymstrukturen im Hirnkammersystem des Schafes	489
Rybníkář A., Schmied J., Strossa J.: Lyophilisierung der Dermatophyten	497

Rukopisy odevzdány k tisku 27. 4. 1987 — Podepsáno k tisku 2. 7. 1987

Vědecký časopis VETERINÁRNÍ MEDICÍNA • Vydává Československá akademie zemědělská — Ústav vědeckotechnických informací pro zemědělství • Vychází měsíčně • Redaktorka ing. Jovanka Václavíčková • Redakce: 120 56 Praha 2, Slezská 7, telefon 257541 • Vytiskl MÍR, Novinářské závody, n. p., závod 6, tř. Lidových milicí 22, 120 00 Praha 2 • © Ústav vědeckotechnických informací pro zemědělství, Praha 1987

Rozšiřuje PNS. Informace o předplatném podá a objednávky přijímá každá administrace PNS, pošta, doručovatel a PNS-ÚED Praha, závod 01 — AOT, Kafkova 19, 160 00 Praha 6; PNS-ÚED Praha, závod 02, Obránců míru 2, 656 07 Brno; PNS-ÚED Praha, závod 03, Kubánská 1539, 708 72 Ostrava-Poruba. Objednávky do zahraničí vyřizuje PNS — ústřední expedice a dovoz tisku Praha, závod 01, administrace vývozu tisku, Kafkova 19, 160 00 Praha 6.