

VĚDECKÝ ČASOPIS



VETERINÁRNÍ MEDICÍNA

6

ČÍSLO 33 (LXI)
CENA 10 Kčs
ISSN 0375-8427

ČESKOSLOVENSKÁ AKADEMIE ZEMĚDĚLSKÝCH VĚD
ÚSTAV VĚDECKOTECHNICKÝCH INFORMACÍ
PRO ZEMĚDĚLSTVÍ

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

Za vedení časopisu odpovídá akademik Jaroslav Otto Vrtiak

Redaktorka ing. Jovanka Václavíčková

OBSAH

Bekeová E., Elečko J., Lazár L., Krajničáková M.: Vplyv beta-karoténu na zmeny koncentrácie tyroxínu, glukózy a inzulínu u teľných jalovic v období pôrodu	321
Baran M., Holeva L.: Kvalita siláží a senáží vo vzťahu k fermentačným procesom v bachore prežúvavcov	329
Zajac J., Žuffa T., Šedivá L.: Použitie priamej imunofluorescencie pri dôkaze parvovírusu psov v tkanivovej kultúre	337
Konrád J., Cupák M., Hrušovský J., Husák S., Šmíd K.: Vliv výcvikové a pracovní zátěže na bílkovinný metabolismus psa	347
Vyhnálek J.: Farmakokinetika oxytetracyklinu u savců a ptáků	357
Lukešová D., Trojáková H., Celerová L.: Experimentální invaze laboratorních zvířat kokciidiami z rodu <i>Cryptosporidium</i>	365
Koubek P., Mrlík V.: Imobilizace samců jelena evropského (<i>Cervus elaphus</i> L.) etorfinem	375
Muška M., Máca J.: Forézie <i>Bovicola bovis</i> (Mallophaga) na mouchách čeledi <i>Muscidae</i>	381

СОДЕРЖАНИЕ

Бекеова Э., Элечко Я., Лазар Л., Крайничакова М.: Влияние бета-каротина на концентрацию тироксина, глюкозы, инсулина у стельных коров в родовом периоде	321
Баран М., Голева Л.: Качество силосов и сенажей по отношению к ферментативным процессам в рубце жвачных	329
Заяц Я., Жуффа Т., Шедива Л.: Использование прямой иммунофлуоресценции для доказательства парвовируса собак в тканевой культуре	337
Конрад Я., Цупак М., Грушовски Й., Гусак С., Шмид К.: Влияние дрессировочной и рабочей нагрузки на белковый метаболизм собак	347
Выгналек Й.: Фармакокинетика окситетрациклина у млекопитающих и пернатых	357
Лукешова Д., Троякова Г., Целерова Л.: Экспериментальная инвазированность лабораторных животных кокцидиями рода <i>Cryptosporidium</i>	365
Коубек П., Мрлик В.: Иммобилизация самцов оленя благородного (<i>Cervus elaphus</i> L.) эторфином	375
Мушка М., Маца Я.: Форезия <i>Bovicola bovis</i> (Mallophaga) на мухах семейства <i>Muscidae</i>	381

VPLYV BETA-KAROTÉNU NA ZMENY KONCENTRÁCIE TYROXÍNU, GLUKÓZY A INZULÍNU U TEĽNÝCH JALOVÍČ V OBDOBÍ PÔRODU

E. Bekeová, J. Elečko, L. Lazár, M. Krajničáková

BEKEOVÁ, E. — ELEČKO, J. — LAZÁR, L. — KRAJNÍČÁKOVÁ, M. (Ústav experimentálnej veterinárnej medicíny, Košice): *Vplyv beta-karoténu na zmeny koncentrácie tyroxínu, glukózy a inzulínu u teľných jalovíc v období pôrodu*. Veter. Med. (Praha), 33, 1988 (6) : 321-328.

Sledovali sme zmeny v koncentráciách tyroxínu (T_4), inzulínu (Ins) a glukózy (Gl) u 20 teľných jalovíc slovenského strakatého plemena v predpôrodnom a popôrodnom období. U desiatich pokusných zvierat ustajnených v maštali sa päť mesiacov pred insemináciou, počas gravidity až do konca sledovania krmná dávka zostavená podľa ČSN 46 7070 denne obohacovala syntetickým beta-karoténom v množstve 300 mg na kus. Krv sa odoberala jedenásť a tri dni (—11.; —3. deň) pred pôrodom, jednu hodinu, tri a sedem dní po pôrode. S výnimkou jednej hodiny po pôrode sme priemerne nižšie koncentrácie T_4 so štatistickou preukaznosťou v —3., 3. a 7. dni ($P < 0,05$; $P < 0,01$; $P < 0,001$) zistili u pokusných zvierat. Od —3. dňa do 3. dňa po pôrode sa na rozdiel k —11. dňu zistili vyššie priemerné koncentrácie Ins so štatistickou preukaznosťou jednu hodinu po pôrode ($P < 0,05$) u pokusných jalovíc. Priemerné koncentrácie Gl boli v časovom rozpätí od —3. do 7. dňa po pôrode u pokusných zvierat v porovnaní so zvieratami kontrolnými nesignifikantne nižšie. Štatisticky významnú korelačnú závislosť vzťahov T_4 : Ins a T_4 : Gl sme zaznamenali vo vzťahu T_4 : Ins u pokusných zvierat jednu hodinu po pôrode ($r = 0,66913$; $P < 0,05$) a vo vzťahu T_4 : Gl taktiež u pokusných zvierat v 3. dni po pôrode ($r = 0,73380$; $P < 0,05$). Predpokladáme, že cestou štítnej žľazy pôsobí beta-karotén na celkový energetický metabolizmus organizmu a touto cestou okrem iného vplýva i na popôrodné funkcie pohlavných orgánov.

predpôrodné obdobie; popôrodné obdobie; gravidita; krmná dávka

Obdobie krátko pred pôrodom a rané puerperium dojnic je okrem iných metabolických a hormonálnych zmien charakterizované poklesom systémových koncentrácií tyroxínu a jeho pozvoľným stúpaním v druhom mesiaci po pôrode (Heitzman a Mallinson, 1972; Shoda a Ishii, 1976; Kesler a i., 1981; Thilsted, 1985). Obohatenie krmnej dávky beta-karoténom (Lotthammer a i., 1978; Bekeová a i., 1987) nezmenilo dynamiku koncentrácií tyroxínu, ale viedlo k signifikantnému poklesu jeho koncentrácií so súčasnou pozitívnou koreláciou medzi hladinami krvného cholesterolu a beta-karoténu, resp. s vyššími priemernými koncentraciami cholesterolu. Zdá sa, že pokles koncentrácií tyroxínu v období okolo pôrodu bude jedným z kľúčových adaptačných faktorov šetriacich energetické substráty organizmu, ktoré sú u prežúvavcov kryté trvalou glukoneogenezou (Bartoš, 1974). Vychádzajúc z uvedeného, stanovili sme za cieľ tejto práce zisťovanie rozdielov v dynamike a koncentráciách tyroxínu, inzulínu a glukózy u teľ-

ných jalovic pred pôrodom a po pôrode, kŕmených nízkokaroténovou diétou bez dotácie beta-karoténu alebo s dotáciou 300 mg na kus a deň. Zároveň sme určovali vzájomné korelačné vzťahy medzi koncentraciami tyroxínu a inzulínu a tiež tyroxínu a glukózy.

MATERIÁL A METÓDY

POKUSNÉ ZVIERATÁ

K štúdiu sme použili pokusné zvieratá držané v podobných podmienkach, ako uvádzajú v práci Bekeová a i. (1987). Do sledovania sa zaradilo 20 tečných jalovic slovenského strakatého plemena pri celoročnom väznom ustajnení. Kŕmnu dávku, zostavenú podľa ČSN 46 7070, sme päť mesiacov pred insemináciou a počas gravidity až do ukončenia experimentu u desiatich pokusných zvierat denne dotovali syntetickým beta-karoténom v množstve 300 mg na kus. Používali sme syntetický 10% beta-karotén v suchom prášku s prídavkom antioxidantu na stabilizáciu (fy BASF Ludwigshafen, NSR).

ODBER VZORIEK KRVÍ

Jednotlivé parametre sme stanovili v krvnom sére získanom z krvi odobereanej medzi 10.00 až 12.00 hodinou v jedenásty a tretí deň pred pôrodom (—11. a —3. deň), jednu hodinu, tri a sedem dní po pôrode.

LABORATÓRNE ANALÝZY

Koncentrácie tyroxínu sme stanovili RIA-testom T₄, ÚRVJT Košice. K stanoveniu koncentrácie inzulínu bol použitý RIA KIT INS (fy METRONEX, PLR). Glukózu sme určovali BIO-LACHEMA-TESTOM (n. p. Lachema Brno).

ŠTATISTICKÉ HODNOTENIE

Významnosť diferencií sledovaných parametrov sme testovali Studentovým t-testom, miera závislosti medzi jednotlivými parametrami sa určovala výpočtom korelačného koeficientu (r) a jeho štatistickej významnosti (Červenka, 1975).

VÝSLEDKY

U zvierat dotovaných beta-karoténom (tab. I, obr. 1) sa koncentrácie tyroxínu (T₄) jedenásť dní pred pôrodom pohybovali na hladine $51,2 \pm 10,6$ nmol.l⁻¹ séra. Boli temer rovnaké s koncentraciami T₄ zvierat kontrolných ($52,3 \pm 6,0$ nmol.l⁻¹ séra). Tri dni pred pôrodom, ako aj tri dni po pôrode sme u pokusných jalovic zaznamenali výrazný pokles koncentrácií T₄ k hodnotám $33,7 \pm 6,82$ až $35,8 \pm 8,48$ nmol.l⁻¹ séra; v porovnaní k zvieratám kontrolným, u ktorých sa v uvedených dňoch zistili hodnoty $47,2 \pm 11,79$ až $54,5 \pm 8,5$ nmol.l⁻¹ séra, boli signifikantne nižšie ($P < 0,05$; $P < 0,01$; $P < 0,001$). Jednu hodinu po pôrode sme u pokusných zvierat zaznamenali vyššie koncentrácie T₄, nie však signifikantne.

V koncentráciách inzulínu (tab. I, obr. 2) sme po miernom náraste z hodnôt $15,13 \pm 7,4$ μ U.l⁻¹ séra v jedenástom dni pred pôrodom k hodnotám $17,59 \pm 7,4$ μ U.l⁻¹ séra jednu hodinu po pôrode zaznamenali prechodný pokles v treťom dni po pôrode ($12,3 \pm 4,2$ μ U.l⁻¹ séra). Tento pokles bol vystriedaný opätovným vzostupom v siedmom popôrodnom dni ($14,5 \pm 6,4$ μ U.l⁻¹ séra). U kontrolných zvierat sa pozoroval pozvoľný pokles inzulínových koncentrácií z hodnôt $18,2 \pm 4,1$ μ U.l⁻¹ séra, zistených v 11. dni pred pôrodom, k hodnotám $8,2 \pm 4,0$ μ U.l⁻¹ séra, zaznamenaný v treťom dni po pôrode. V siedmom popôrodnom dni

I. Koncentrácia tyroxínu, inzulínu a glukózy v čase pôrodu jalovic kŕmených kŕmnou dávkou s prídavkom beta-karoténu — The concentrations of thyroxine, insulin and glucose during parturition in heifers administered feed rations with β -carotene supplement

Doba odberu vzoriek	Koncentrácia					
	tyroxín (nmol . l ⁻¹)		inzulín (μ U . l ⁻¹)		glukóza (mmol . l ⁻¹)	
	B.K. +	B.K. —	B.K. +	B.K. —	B.K. +	B.K. —
— 11 dní	51,20 ± 10,60	52,30 ± 6,00	15,10 ± 7,40	18,20 ± 4,10	5,40 ± 1,00	4,70 ± 0,42
— 3 dní	35,80 ^a ± 8,48	47,20 ^{a'} ± 11,79	15,80 ± 4,40	14,60 ± 3,50	2,43 ± 0,31	2,82 ± 0,34
Porôd 1 h	45,80 ± 8,32	41,90 ± 8,39	17,59 ^d ± 4,40	13,20 ^{d'} ± 2,60	3,90 ± 0,73	4,20 ± 1,00
3 h	34,60 ^b ± 7,50	49,40 ^{b'} ± 11,04	12,30 ± 4,20	8,20 ± 4,00	3,46 ± 0,48	3,63 ± 0,28
7 h	33,70 ^c ± 6,82	54,50 ^{c'} ± 8,50	14,50 ± 6,40	14,50 ± 6,00	3,57 ± 0,66	3,73 ± 0,79

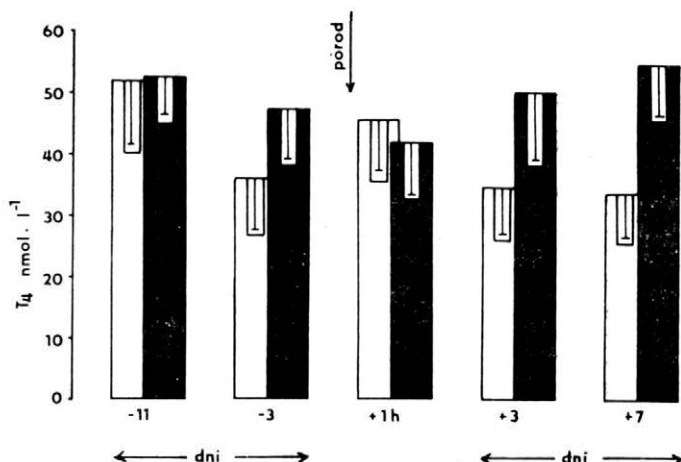
Štatistické hodnotenie rozdielov sledovaných parametrov Studentovým t -testom
 $P < 0,05$; a : a' d : d'; $P < 0,01$; b : b'; $P < 0,001$; c : c';

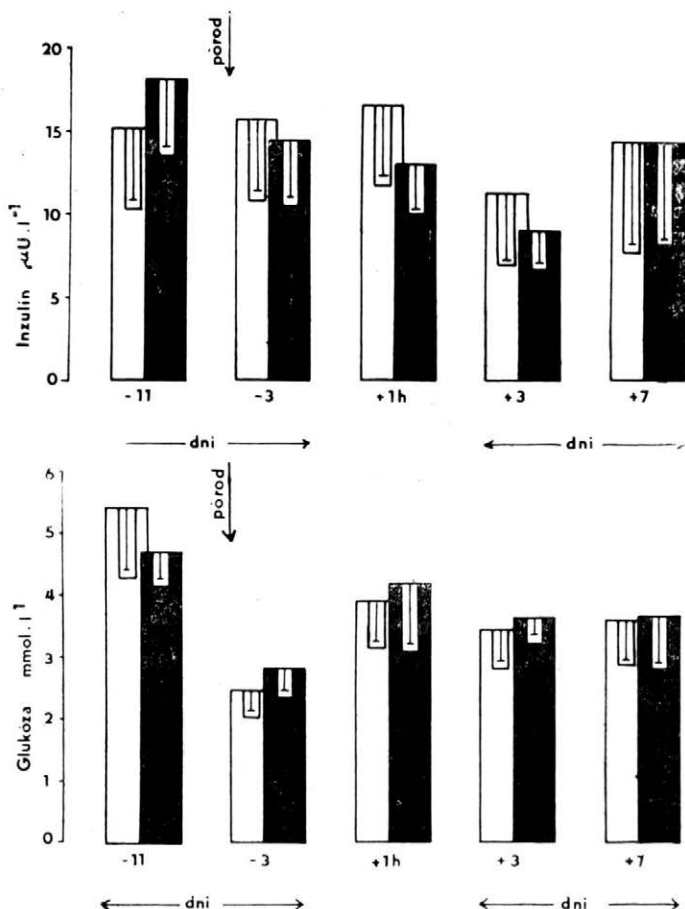
dosiahli koncentrácie inzulínu hodnoty $14,5 \pm 6,0 \mu\text{U} \cdot \text{l}^{-1}$ séra. Štatisticky významný medziskupinový rozdiel v koncentráciách inzulínu bol zistený jednu hodinu po pôrode ($P < 0,05$).

Najnižšie koncentrácie glukózy (tab. I, obr. 3) $2,43 \pm 0,31 \text{ mmol} \cdot \text{l}^{-1}$ séra u pokusných a $2,82 \pm 0,34 \text{ mmol} \cdot \text{l}^{-1}$ séra u kontrolných jalovic, ku ktorým poklesli koncentrácie glukózy z hodnôt $5,4 \pm 1,0 \text{ mmol} \cdot \text{l}^{-1}$

1. Koncentrácie tyroxínu (T₄) u jalovic v dobe okolo pôrodu kŕmených kŕmnou dávkou s prídavkom (BK+) a bez prídavku (BK—) beta-karoténu — Thyroxine (T₄) concentrations on the days around parturition in the heifers administered feed rations with β -carotene supplement (BK+) and without β -carotene supplement (BK—)

□ BK+ ■ BK—





2. Koncentrácie inzulínu u jalovíc v dobe okolo pôrodu kŕmených kŕmnou dávkou s prídavkom (BK+) a bez prídavku (BK-) beta-karoténu — Insulin concentrations on the days around parturition in the heifers administered feed rations with β -carotene supplement (BK+) and without β -carotene supplement (BK-)

3. Koncentrácie glukózy u jalovíc v dobe okolo pôrodu kŕmených kŕmnou dávkou s prídavkom (BK+) a bez prídavku (BK-) beta-karoténu — Glucose concentrations on the days around parturition in the heifers administered feed rations with β -carotene supplement (BK+) and without β -carotene supplement (BK-)

a $4,7 \pm 0,42 \text{ mmol.l}^{-1}$ séra pozorovaných v 11. dni pred pôrodom, sme zaznamenali v treťom dni pred pôrodom. V ďalšom sledovanom období mali koncentrácie glukózy v porovnaní k tretiemu dňu u pokusnej i kontrolnej skupiny vzostupnú tendenciu s hodnotami pohybujúcimi sa v rozpätí $3,46 \pm 0,48$ až $3,9 \pm 0,73$ u pokusných a $3,63 \pm 0,28$ až $4,2 \pm 1,0 \text{ mmol.l}^{-1}$ séra u kontrolných zvierat. Štatisticky významná medziskupinová preukaznosť nebola zaznamenaná ani v jednom prípade. Štatisticky významná korelačná závislosť sa zaznamenala u pokusných zvierat vo vzťahoch tyrozín:inzulín jednu hodinu po pôrode ($r = 0,66913$; $P < 0,05$) a tyroxín:glukóza v treťom dni po pôrode ($r = 0,73388$; $P < 0,05$).

DISKUSIA

Predpôrodný pokles koncentrácií tyroxínu u oboch skupín teľných jalovíc zodpovedá nálezom, ktoré boli zaznamenané v dynamike tyroxínu ku koncu gravidity a pred pôrodom dojnic (Shoda a Ishii, 1976), byvolíc (Pichaicharnong a i., 1974), oviec (Sutherland a Irvine, 1974), ošípaných (Benjaminsen, 1981) a krýs (Fukuda a i., 1980). Exaktné vysvetlenie pre uvedené predpôrodné zmeny v koncentráciách tyroxínu nie je a doterajšie názory sú rozporné. Z prác,

ktoré demonštrujú zníženie uvoľnenia TSH a tyroïdných hormónov u ľudí ošetrovaných ACTH a hydrokortisonom (Nicoloiu a i., 1970), ako aj redukciu plazmatického TSH po exogénnom prívode dexamethasonu u krýs (Wilber a Utiger, 1969) a bazálnych plazmatických koncentrácií tyroxínu a trijódtyronínu po ošetrovaní psov prednizónom (Kempainen a i., 1983), sa dá predpokladať, že príprava organizmu na pôrod a pôrodný stres (Banovac a i., 1980, cit. Rajkovič a i., 1982) nepriamo, cestou zvýšenia hypofyziárno-adrenálnej aktivity môže inhibovať činnosť štítnej žľazy.

Prechodný vzostup koncentrácií tyroxínu, zistený jednu hodinu po pôrode u zvierat dotovaných beta karoténom, môže súvisieť so stresom indukovaným znížením aktivity 5' deiodinázy (Rajkovič a i., 1982).

Po pôrode sa u pokusných zvierat v porovnaní k vzostupnej tendencii koncentrácií u kontrolných zaznamenal ich signifikantný pokles. Tieto výsledky sú podobné zisteniam u jalovíc po skrmovaní vitamínu A v množstve 100 m. j. a 0,3 mg beta-karoténu na kilogram živej hmotnosti (Lotthammer, 1978), resp. po skrmovaní 300 mg beta-karoténu na kus a deň (Bekeová a i., 1987). Na rozdiel od výsledkov citovaných prác, v ktorých sa zaznamenal signifikantný nárast tyroxínu u jalovíc bez dotácie beta-karoténu v porovnaní so zvieratami, ktoré dostávali krmnu dávku obohacovanú beta-karoténom, už v druhom mesiaci laktácie, sme v našom pokuse pozorovali signifikantný vzostup koncentrácií tyroxínu u kontrol už v treťom dni po pôrode. Podľa nášho názoru je uvedený vzostup tyroxínu výsledkom adaptačnej aktivácie štítnej žľazy na nedostatok vitamínu A potrebného pre jej normálnu činnosť (Gažo a Landau, 1959; Krudopp, 1979).

Klesajúca tendencia koncentrácie T_4 zistená po pôrode u pokusných jalovíc je porovnateľná s výsledkami autorov, ktorí podobne zistili náhly pokles koncentrácie tyroxínu po pôrode, resp. počas laktácie dojnic (Mixner a i., 1962; Vanjonack a Johnson, 1974; Kesler a i., 1981), kôz (Riis a Madsen, 1985), kobýl (Katovitch a i., 1974) a žien (Štrbák a i., 1978). Pokles koncentrácie tyroxínu, zvlášť na začiatku laktácie, pravdepodobne súvisí s udržiavaním energetickej rovnováhy organizmu. Odčerpávanie živín mliečnou žľazou môže viesť k značnému nutričnému deficitu iných orgánov spojených s negatívnou energetickou rovnováhou organizmu. Zníženie sekrécie tyroxínu pravdepodobne redukuje rýchlosť oxidácie ako aj kontinuálne štiepenie a syntézu proteínov i tukov vo väčšine, ak nie vo všetkých orgánoch, čím znižuje nepriaznivé účinky nutričného deficitu v telesných tkanivách na začiatku laktácie (Riis a Madsen, 1985).

Celkove nižšie priemerné koncentrácie glukózy sa zistili u pokusných jalovíc. Na rozdiel od našich výsledkov zaznamenal Lotthammer (1981) u dojnic prikrmovaných beta-karoténom pokles koncentrácií glukózy až po prvom týždni laktácie. Domnievame sa, že dôvodom uvedených rozdielov môže byť rôzny experimentálny materiál a odlišná doba odberu vzoriek. Pokles koncentrácií glukózy u pokusných zvierat s nižšími hladinami tyroxínu i jej vzostup u kontrol s vyššími koncentraciami glukózy je, ako predpokladáme, v úzkom vzťahu s celkovým energetickým hospodárením organizmu v čase laktácie. Podstatná časť glukózy u prežívavcov je získaná trvalou glukoneogenezou (Bergman a i., 1974; Lindsay, 1978; Wilson a i., 1983). Prežívavce majú rozvinuté viaceré mechanizmy pre zadržiavanie glukózového uhlíka, zvlášť

v období neskorej gravidity a na začiatku laktácie (Linzell, 1974; Baird a i., 1983). Jednou z ciest hospodárenia glukózou je Coriho a alanínový cyklus, t. zn. recyklácia glukózového uhlíka ako laktátu, pyruvátu a alanínu, ktoré sú v čase potreby spätne konvertované cestou glukoneogenézy na glukózu (Bergman, 1982; Wastney a i., 1983).

Nižšie hladiny glukózy spätne vedú k zníženiu produkcie tyroxínu a inhibujú jeho periférnu konverziu na viacúčinný trijódtyronin (Bertoni a i., 1983) pri súčasnom zvýšení hladín inzulínu umožňujúcemu prienik glukózy do buniek.

Vzostup koncentrácie tyroxínu u jalovic s nízkokaroténovou diétou potencuje pôrodný a laktálny stres spojený so zvýšenou produkciou glukokortikoidov inhibujúcich produkciu inzulínu (Vanstapel a i., 1982) podieľajúceho sa na stimulácii steroidogenézy (Ill a i., 1984), inkorporácii glukózy do buniek (Trenkle, 1981) a jej využívanie ako zdroja energie.

Na základe dosiahnutých výsledkov predpokladáme, že beta-karotén nepriamo, cestou pôsobenia na aktivitu štítnej žľazy a produkciu jej hormónov, zasahuje do celkového energetického metabolizmu organizmu, a tak zohráva významnú úlohu v nástupe a kvalite popôrodných reprodukčných funkcií.

Literatúra

- BAIRD, G. D. — VAN DER WALT, J. G. — BERGMAN, E. N.: Whole-body metabolism of glucose and lactate in productive sheep and cows. *Brit. J. Nutr.*, 50, 1983, s. 249-265.
- BARTOŠ, S.: Metabolismus sacharidů u přežvýkavců. Praha, Academia 1974, s. 1-95.
- BEKEOVÁ, E. — ELEČKO, J. — HENDRICHOVSKÝ, V. — CHOMA, J. — LAZÁR, L. — KRAJNÍČÁKOVÁ, M.: Vplyv beta-karoténu na koncentrácie tyroxínu a cholesterolu u teľných jalovic pred pôrodom a po pôrode. *Veter. Med. (Praha)*, 32, 1987, s. 459-468.
- 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.
- BERGMAN, E. N. — BROCKMAN, R. P. — KAUFMAN, C. F.: Glucose metabolism in ruminants: comparison of whole-body turnover with production by gut, liver and kidneys. *Fed. Proc.*, 33, 1974, s. 1849-1854.
- BERGMAN, E. N.: Hypoglycemia associated with pregnancy and lactation. In: WOODWARD, J. C. — BRUSS, M. (Eds): Comparative aspects of nutritional and metabolic diseases. Florida, CRC Press 1982, s. 1-23.
- BERTONI, G. — PALLAVICINI, G. — LOMBARDELLI, R.: Considerazione e ricerche sui rapporti fra lattazione, metabolismo energetico ed attività tiroidea. *Zoot. Nutr. Anim.*, 9, 1983, s. 19-30.
- CERVENKA, J.: Základy štatistiky. GORDON, J. (Ed.). Martin, Osveta 1975, s. 115-124.
- FUKUDA, H. — OHSHIMA, K. — MORI, M. — 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.
- HEITZMAN, R. J. — MALLINSON, C. B.: A comparison of the thyroxine levels in the plasma of healthy, starved and acetonaemic dairy cows. *Res. veter. Sci.*, 13, 1972, s. 591-593.
- ILL, C. E. — LEPINE, J. — GOSPODAROWICZ, D.: Permissive effect of insulin on the adenosine 3'5' monophosphate dependent up-regulation of low density lipoprotein receptors and the stimulation of steroid release in bovine adrenal cells. *Endocrinology*, 114, 1984, s. 767-775.

- KATOVICH, M. — EWANS, J. W. — SANCHEZ, O.: Effects of season, pregnancy and lactation on thyroxine turnover in the mare. *J. anim. Sci.*, 38, 1974, s. 811-818.
- KEMPAINEN, R. J. — THOMPSON, F. N. — LORENZ, M. D. — MUNNEL, J. F. — CHAKRABORTY, P. K.: Effects of prednisone on thyroid and gonadal endocrine function in dogs. *J. Endocrinol.*, 96, 1983, s. 293-302.
- KESLER, D. J. — JOHNSON, H. D. — GARVERICK, A.: Postpartum concentrations of thyroxine in plasma of dairy cows. *J. Dairy Sci.*, 64, 1981, s. 1618-1620.
- KRUDOPP, H. H.: Einfluss der β -Karotinversorgung der Rinder auf Schilddrüse und Nebennierenrinde anhand histologischer Untersuchungen. [Diss.] Hannover 1979.
- LINDSAY, D. B.: Gluconeogenesis in ruminants. *Trans. biochem. Soc.*, 6, 1978, s. 1152-1156.
- LINZELL, J. L.: Mammary blood flow and methods of identifying and measuring precursors of milk. In: LARSON, B. L. — SMITH, V. R. (Eds): *Lactation*. Vol. 1. New York, Academic Press 1974, s. 143-168.
- LOTTHAMMER, K. H.: Importance and role of beta-carotene for bovine fertility — original research. In: LOTTHAMMER, K. H. — COOKE, B. C. — FRIESECKE, H.: Importance of beta-carotene for bovine fertility. London, Rocke Symposium 1978, s. 5-44.
- LOTTHAMMER, K. H.: Importance of β -carotene for the fertility of female cattle. In: β -carotene in cattle reproduction. F. HOFFMAN (Ed.). Basel, La Roche and Co. 1981, s. 1-27.
- MIXNER, J. P. — KRAMER, D. H. — SZABO, K. T.: Effects of breed, stage lactation, and season of year on thyroid secretion rate of dairy cows as determined by the chemical thyroxine turnover method. *J. Dairy Sci.*, 45, 1962, s. 999-1002.
- NICOLOFF, J. T. — FISHER, D. A. — APPLEMAN, M. D.: The role of glucocorticoids in the regulation of thyroid function in man. *J. clin. Invest.*, 49, 1970, s. 1922-1929.
- PICHAICHARNARONG, A. — LOYPETJRA, P. — CHAIYABUTR, N. — USANA-KORNKUL, S. — DJURDJEVIĆ, D. J.: Thyroid activities of non-pregnant, pregnant, post-partum and newborn swamp buffaloes. *J. agric. Sci. (Camb.)*, 98, 1982, s. 483-486.
- RAJKOVIĆ, D. — SKREB, F. — BANOVAČ, K.: Reduction of total and free triiodothyronine in serum after abortion. *Endokrinologie*, 79, 1982, s. 44-48.
- 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.
- SUTHERLAND, R. L. — IRVINE, C. H. G.: Effect of season and pregnancy on total plasma thyroxine concentrations in sheep. *Amer. J. veter. Res.*, 35, 1974, s. 311-312.
- ŠTRBÁK, V. — MACHO, L. — UHERČÍK, D. — KLIMENT, V.: The effect of lactation on thyroid activity of women. *Endokrinologie*, 72, 1978, s. 183-187.
- THILSTED, S. H.: Regulation of partition of nutrients in the dairy cow in late pregnancy and early lactation. *Z. Tierphysiol. Tierernähr. Futterm.-Kde*, 53, 1985, s. 10-18.
- VANJONACK, W. J. — JOHNSON, H. D.: Effects of moderate heat and milk yield on plasma thyroxine in cattle. *J. Dairy Sci.*, 58, 1974, s. 507-511.
- VANSTAPEL, F. — BOLLEN, M. — WULF, H. — STALMANS, W.: Induction of hepatic glycogen synthesis by glucocorticoids is not mediated by insulin. *Molec. cell. Endocrinol.*, 27, 1972, s. 107-114.
- WASTNEY, M. E. — WOLF, J. E. — BICKERSTAFFE, R. — RAMBERG, C. F. — BERMAN, M.: Kinetics of glucose metabolism in sheep. *Austral. J. biol. Sci.*, 36, 1983, s. 463-474.
- WILBER, J. F. — UTIGER, R. D.: The effect of glucocorticoids on thyrotropin secretion. *J. clin. Invest.*, 48, 1969, s. 2069-2103.
- WILSON, S. — MACRAE, J. — BUTTERY, P. J.: Glucose production and utilization in non-pregnant, pregnant and lactating ewes. *Brit. J. Nutr.*, 50, 1983, s. 303-316.

Došlo dňa 12. 10. 1987

БЕКЕОВА, Э. — ЭЛЕЧКО, Я. — ЛАЗАР, Л. — КРАЙНИЧАКОВА, М. (Институт экспериментальной ветеринарной медицины, Кошице): Влияние бета-каротина на концентрацию тироксина, глюкозы, инсулина у стельных коров в родовом периоде. *Veter. Med. (Praha)*, 33, 1988 (6) : 321-328.

Мы прослеживали за изменениями концентраций тироксина (T_4), инсулина (Ins) и глюкозы (Gl) у 20 стельных коров словацкой пестрой породы в до- и послеродовом периоде. 10 размещенным в коровнике животным за 5 мес. до осеменения, во время стельности и до конца наблюдений скормливали рацион по ГОСТ 46 7070, который ежедневно обогащали синтет. бета-каротином в количестве 300 мг нагол./сутки. Кровь брали 11 и 3 дня (—11., —3-й дни) до отела и через один, три и семь дней после отела. За искл. одного дня после отела мы отметили пониженные в среднем концентрации T_4 со значимой достоверностью на —3-й, 3-й и 7-й дни ($P < 0,05$; $P < 0,01$; $P < 0,001$) у подопытных животных. А начиная с —3-го и до 3-го дня после отела (в отличие от положения к 11-му дню) — повышенные средние концентрации Ins со статистической достоверностью через час после отела ($P < 0,05$). Средние же концентрации Gl в период от —3-го до 7-го дня после отела в сравнении с контрольными животными незначимы и меньше. Значимую корреляцию T_4 :Ins и T_4 :Gl отметили в соотношении T_4 :Ins у подопытных коров через час после отела ($r = 0,66913$; $P < 0,05$) и в соотношении T_4 :Gl тоже у подопытных коров на 3-й день после отела ($r = 0,73380$, $P < 0,05$). Мы предполагаем, что бета-каротин воздействует на общий энергетический обмен путем щитовидной железы и посредством ее на послеродовые функции половых органов.

родовой период; послеродовой период; стельность; рацион

BEKEOVÁ, E. — ELEČKO, J. — LAZÁR, L. — KRAJNÍČÁKOVÁ, M. (Institute of Experimental Veterinary Medicine, Košice): *The Influence of β -carotene on Changes in the Concentration of Thyroxine, Glucose and Insulin in Pregnant Heifers during Parturition*. *Veter. Med. (Praha)*, 33, 1988 (6) : 321-328.

Changes were studied in the concentration of thyroxine (T_4), insulin (Ins) and glucose (Gl) in 20 pregnant heifers of the Slovak Pied breed in prepartal and postpartal periods. The feed rations prepared according to the ČSN 46 7070 standard were daily enriched with synthetic β -carotene at the amount of 300 mg per head/day; these rations were administered to ten test animals housed in a barn five months before insemination, during pregnancy until the end of investigation. The blood was sampled eleven and three days (—11th; —3rd day) before parturition, one hour, three and seven days after parturition. With the exception of one hour after parturition, lower concentrations of T_4 were found in the test animals on days —3, 3, 7 ($P < 0,05$; $P < 0,01$; $P < 0,001$). On day —3 to day 3 after parturition, in comparison with day —11, the average concentrations of Ins increased statistically significantly one hour after parturition ($P < 0,05$) in the test heifers. The average concentrations of Gl were insignificantly lower in the test animals, in comparison with the control animals, within the time range of day —3 to day 7 after parturition. A statistically significant correlation of the T_4 :Ins and T_4 :Gl relations was recorded in the T_4 :Ins relation in the test animals one hour after parturition ($r = 0,66913$; $P < 0,05$) and in the relation T_4 :Gl also in the test animals on day 3 after parturition ($r = 0,73380$; $P < 0,05$). We assume that via the thyroid gland, β -carotene influences the total energy metabolism of the organism and by this way it also influences the postpartal functions of the sexual organs.

prepartal period; postpartal period; pregnancy; feed ration

Adresa autorov:

MVDr. Eva Bekeová, CSc., prof. MVDr. Ján Elečko, CSc., MVDr. L. Lazár, MVDr. Mária Krajničáková, Ústav experimentálnej veterinárnej medicíny, Dukelských hrdinov 1, 040 01 Košice

KVALITA SILÁŽÍ A SENÁŽÍ VO VZŤAHU K FERMENTAČNÝM PROCESOM V BACHORE PREŽÚVAVCOV

M. Baran, E. Holeva

BARAN, M. — HOLEVA, E. (Ústav fyziológie hospodárskych zvierat SAV, Košice; Štátny veterinárny ústav, Spišská Nová Ves): *Kvalita siláží a senáží vo vzťahu k fermentačným procesom v bachore prežúvavcov*. Veter. Med. (Praha), 33, 1988 (6) : 329-336.

Vplyv kvality siláží a senáží na bachorovú fermentáciu sme sledovali na 36 dojniciach zo šiestich vybraných chovov označených A—F. Kŕmne dávky obsahovali tento podiel objemových krmív v percentách sušiny: A — senáž 25,2, siláž 29,9, seno 25,2; B — senáž 41,4, slama 17,9; C — senáž 54,9; D — senáž 64,6, seno 13,8; E — senáž 63,5, seno 17,7; F — siláž 34,3, seno 40,0. Kvalitu siláží a senáží sme posudzovali podľa ČSN 46 7012 a veterinárnych vyšetrovacích metód. V krmivách a bachorovom obsahu odobratom tri až štyri hodiny po kŕmení sme pomocou izotachoforetického analyzátora stanovili celkové unikavé masné kyseliny a ich molárny pomer. Matematicky sme vypočítali energetickú výťažnosť produkcie UMK (E-UMK) a výťažnosť premeny energie hexóz na energiu tvorby UMK (E₁) a metánu (E₂). Tri vzorky siláží a senáží (A, B, C) sme posúdili ako zdravotne závadné, jednu vzorku (D) ako podmienené použiteľnú a dve vzorky (E, F) ako nezávadné. Vzájomné porovnanie ukázalo, že celkové UMK, kyselina propiónová, kyselina maslová a pomer acetát : propionát neboli zložením kŕmnych dávok ovplyvnené. Statisticky významné rozdiely v molárnom percente kyseliny octovej, E₁ a E₂ boli v dôsledku rôzneho obsahu vlákniny v kŕmnych dávkach. Hodnoty energetickej výťažnosti produkcie UMK sa pohybovali v rozmedzí 72,66 % (A) až 74,05 % (D) a rozdiely neboli významné. Výsledky ukázali, že negatívny vplyv zdravotne závadných siláží a senáží na fermentačné procesy v bachore bol kompenzovaný ostatnými komponentami kŕmnych dávok, pravdepodobne suchými objemovými krmivami.

dojnice; bachorová fermentácia; unikavé masné kyseliny

Základným a rozhodujúcim predpokladom správnej výživy hospodárskych zvierat je zabezpečiť dostatočný príjem krmív a živín v množstve, kvalite a pomere zodpovedajúcom potrebám zvierat na dosahovanie úžitkovosti. S rozvojom chovu hovädzieho dobytká a zvyšovaním jeho koncentrácie sa zvyšuje aj význam konzervovania krmív a nároky na ich výrobu a kvalitu. Konzervované objemové krmivá tvoria v zimnom období základnú a rozhodujúcu zložku kŕmnych dávok prežúvavcov. V letnom kŕmnom období plnia funkciu stabilizujúceho a vyrovnávajúceho faktora v kŕmnych dávkach hovädzieho dobytká (Sommer a i., 1985).

Siláže a senáže tvoria rozhodujúci podiel kŕmnej dávky predovšetkým vo výžive hovädzieho dobytká v zimnom období. Pritom však u žiad-

nych iných krmív nedochádza k tak veľkým výkyvom vo výživnej a dietetickej hodnote, ako práve u siláží a senáží. Tieto objemové konzervované krmivá môžu byť významným nutričným zdrojom energetických živín, vitamínov, minerálnych látok a dieteticky priaznivo pôsobiacou zložkou kŕmnej dávky. Často sú však tiež zdrojom nutričných a zdravotných problémov. Táto rozpornosť je daná predovšetkým kvalitou konzervovanej suroviny a úrovňou konzervačného procesu. Konzervačný proces je zasa do značnej miery ovplyvnený technologickou disciplínou pri vlastnom priebehu konzervácie, pri odoberaní konzervovaných krmív a pri ich použití v kŕmnych dávkach. V zle pripravených silážach a senážach dochádza ku kvantitatívnym a kvalitatívnym zmenám v obsahu fermentačných kyselín a v hodnote pH. Tieto zmeny sú príčinou nedostatočnej konzervácie, vzniku nežiadúcich kyselín a ich nevhodného pomeru. V dôsledku skrmovania takýchto siláží vznikajú zdravotné poruchy a následný pokles produkcie. Skrmovanie siláží a senáží horšej kvality kladie potom zvýšené nároky na zostávajúcu časť kŕmnej dávky a na vyrovnanie nepriaznivých dietetických vplyvov použitím vhodných doplnkov.

Prvým z celkového komplexu tráviacich procesov prežúvavcov, ktoré sú primárne ovplyvnené kvalitou jednotlivých komponentov kŕmnej dávky, je fermentačná činnosť v bachore. Táto je jedným zo špecifických faktorov určujúcich fyziologické zvláštnosti trávenia prežúvavcov. Celkové množstvo unikavých mastných kyselín (UMK) vytváraných počas fermentácie krmiva a hlavne ich vzájomné molárne zastúpenie je jedným zo základných biochemických ukazovateľov bachorového metabolického profilu. Pomer medzi UMK v bachore má veľký význam pre zdravie a úžitkovosť zvierat a je vo veľkej miere ovplyvnený štruktúrou kŕmnej dávky a kvalitou jednotlivých komponentov.

Väčšina prác týkajúcich sa konkrétneho vplyvu siláží a senáží na bachorovú fermentáciu rieši túto otázku fyzikálnou úpravou kŕmnych dávok alebo úpravou pomeru objemovej a jadrovej zložky kŕmnych dávok.

Fenner a i. (1970) zaznamenali zvýšenie celkových UMK a kyseliny propiónovej, pokles kyseliny octovej u kráv pri zmene diéty pozostávajúcej zo sena na kukuričnú siláž. Zvýšenie koncentrácie UMK u býčkov kŕmených kukuričnou silážou v porovnaní so senom potvrdili aj McCullogh a Smart (1968) a na ovciach Jones a i. (1971). Schingoethe a i. (1976) sledovali vplyv viacerých druhov kŕmnych dávok na úroveň UMK a kvalitu mlieka u dojníc a zistili vyššiu koncentráciu UMK a propionátu v bachorovom obsahu dojníc kŕmených kukuričnou silážou alebo iným fermentovaným krmivom než v bachorovom obsahu dojníc kŕmených senom. Najnižší pomer acetátu ku propionátu bol práve pri skrmovaní kukuričnej siláže. Aj pri dlhodobom jednostrannom kŕmení dojníc kukuričnou silážou ako jediným objemovým krmivom (monodiéta) bola zaznamenaná tendencia vyššej koncentrácie celkových UMK v bachore (Zeleňák a i., 1977).

Ako sme už spomenuli, kvalita konzervovaných objemových krmív hrá dôležitú úlohu nielen čo sa týka príjmu týchto krmív zvieratami, ale aj pri ich fermentácii v bachore. V našej práci sme sa preto zamerali na sledovanie vplyvu kvality siláží a senáží na niektoré biochemické ukazovatele bachorovej fermentácie.

Krmivo	A	B	C	D	E	F
Senáž	25,2	41,4	54,9	64,6	63,5	—
Siláž	29,9	—	—	—	—	34,3
Seno	25,2	—	—	13,8	17,7	40,0
Slama	—	17,9	—	—	—	—
Úsušky	—	6,2	—	—	—	—
Repa	—	11,0	4,4	—	—	3,8
Cukrovárske rezky	—	—	—	6,2	—	—
Mláto	3,8	—	—	6,7	—	7,6
DOP	—	23,5	13,2	8,7	9,7	14,3
DOG	15,9	—	—	—	—	—
Peletované krmivo	—	—	27,5	—	9,1	—
Melasa	+	—	—	—	—	—
Droždie	+	—	—	—	—	—
SNL : ŠJ	1 : 6,4	1 : 6	1 : 6,1	1 : 5,6	1 : 5,7	1 : 6

MATERIÁL A METÓDA

Vzorky bacherového obsahu sme odobrali tri až štyri hodiny po kŕmení od šiestich zvierat (dojnice v druhej fáze laktácie) zo šiestich vybraných chovov, ktoré sme označili písmenami A až F. Ide o tieto hospodárstva: A — JRD Batizovce, B — ŠM Harichovce, C — JRD Lubica, D — JRD Štrba, E — JRD Jablonov, F — JRD Spišská Teplica. Zloženie kŕmnych dávok v jednotlivých chovoch, vyjadrené v percentách sušiny, je uvedené v tab. I. Zdravotnú nezávadnosť siláží a senáží sme posudzovali zmyslovým, fyzikálno-chemickým (pH, sušina, kyslosť vodného výluhu, kyseliny mravčia, mliečna, octová, propiónová, maslová, voľný amoniak), bakteriologickým a mykologickým vyšetrením. Stupeň narušenia fermentačného procesu v silážach a senážach sme stanovili na základe fyzikálno-chemických ukazovateľov. Vyšetrenia sme robili podľa ČSN 46 7012 a podľa interných veterinárnych laboratórnych vyšetrovacích metód. Vzorky sme posudzovali podľa kritérií hygienickej a zdravotnej nezávadnosti.

Obsah organických kyselín v silážach, senážach a bacherovom obsahu sme stanovili pomocou izotachoforetického analyzátoru ZKI 01 čs. výroby (Šimo, 1985; Holeva, 1987). V bacherovom obsahu sme stanovili celkové UMK v mmol.l⁻¹, molárne percento kyseliny octovej, propiónovej, maslovej, valérovej a mliečnej a pomer acetát : propionát. Energetickú výťažnosť produkcie UMK v percentách (E-UMK) sme vypočítali podľa Orskova a i. (1968) na základe molárneho pomeru kyseliny octovej, propiónovej a maslovej. Výťažnosť premeny energie hexózu na energiu tvorby UMK (E₁) a metánu (E₂) v percentách sme vypočítali podľa Technickej príručky č. 248, vydanéj Medzinárodnou agentúrou pre atómovú energiu (IAEA, 1985). Výsledky sú priemerom šiestich stanovení a na štatistické vyhodnotenie sme použili Tukeyov test, keď sme porovnávali všetkých šesť chovov medzi sebou na úrovni štatistickej významnosti $P < 0,05$. Pre všetky hodnoty sme vypočítali aj smerodajnú odchýlku (SD).

VÝSLEDKY

Dosiahnuté výsledky sú v tab. II—IV. V tab. II sú sumari- zované priemerné hodnoty ôsmich biochemických ukazovateľov ba-

II. Biochemické ukazovatele bachorovej fermentácie — Biochemical parameters of rumen fermentation

Ukazovateľ	Jednotka	A	B	C	D	E	F
Celkové UMK	mmol.l ⁻¹ ±	87,67 8,73	87,45 13,71	77,34 10,46	103,36 7,01	93,10 13,93	87,45 13,71
Kyselina octová	mol % ±	69,07 1,94	64,30 2,23	64,29 1,45	62,13 3,30	67,25 1,64	69,19 1,74
Kyselina propiónová	mol % ±	16,20 1,58	18,71 1,20	16,37 2,42	18,03 2,33	19,02 1,21	19,38 1,74
Kyselina maslová	mol % ±	12,28 0,91	11,43 0,47	11,85 1,46	12,20 2,06	10,93 1,08	10,31 1,14
Acetát : : propionát	— ±	4,30 0,56	3,44 0,33	3,99 0,63	3,49 0,55	3,54 0,26	3,61 0,47
E - UMK	% ±	72,66 0,74	73,92 0,63	73,17 0,80	74,05 1,10	73,65 0,55	73,53 0,83
E ₁	% ±	72,20 0,75	74,93 0,79	74,40 1,04	75,85 1,21	73,93 0,61	73,21 0,83
E ₂	% ±	18,10 0,73	15,45 0,76	16,03 1,08	14,70 1,15	16,41 0,58	17,06 0,85

III. Štatistická významnosť ($P < 0,05$) rozdielov medzi jednotlivými ukazovateľmi bachorovej fermentácie (Tukeyov test) — Statistical significance ($P < 0,05$) of differences in the parameters of rumen fermentation (Tukey's test)

Kyselina octová	A	+	+	+	-	-	Kyselina propiónová	A	-	-	-	-	-	Kyselina maslová	A	-	-	-	-	-	Acetát : propionát	A	-	-	-	-	-
	B	-	-	-	-	+		B	-	-	-	-	-		B	-	-	-	-	-		B	-	-	-	-	-
	C	-	-	-	+	+		C	-	-	-	-	-		C	-	-	-	-	-		C	-	-	-	-	-
	D	-	-	+	+	+		D	-	-	-	-	-		D	-	-	+	+	+		D	-	-	+	+	+
	E	-	-	-	-	-		E	-	-	-	-	-		E	-	-	-	-	-		E	-	-	-	-	-
Celkové UMK	A	-	-	-	-	-	E - UMK	A	-	-	-	-	-	E ₁	A	+	+	+	+	-	E ₂	A	+	+	+	+	-
	B	-	-	-	-	-		B	-	-	-	-	-		B	-	-	-	-	+		B	-	-	-	-	+
	C	-	-	+	-	-		C	-	-	-	-	-		C	-	-	-	-	-		C	-	-	-	-	-
	D	-	-	-	-	-		D	-	-	-	-	-		D	-	-	+	+	+		D	-	+	+	+	+
	E	-	-	-	-	-		E	-	-	-	-	-		E	-	-	-	-	-		E	-	-	-	-	-

+ štatisticky významný rozdiel ($P < 0,05$)

- štatisticky nevýznamný rozdiel

chorovej fermentácie. Tab. III udáva štatistickú významnosť ($P < 0,05$) rozdielov medzi jednotlivými biochemickými ukazovateľmi. V tab. IV sú hodnoty fyzikálno-chemických ukazovateľov kvality siláží a senáží v jednotlivých chovoch a ich zatriedenie.

DISKUSIA

Zo šiestich chovov, z ktorých sme odobrali vzorky krmív a bachorového obsahu, boli po vyšetrení siláží a senáží tri vzorky posúdené ako zdravotne závadné (A, B, C), jedna vzorka ako podmienenčne použiteľná (D) a dve vzorky ako nezávadné (E, F). Vzájomné porovnanie a štatistické vyhodnotenie nám malo ukázať, či tieto zdravotne závadné siláže a senáže narušia fermentáciu v bachore. Ako vyplýva z tab. III, celkové UMK (okrem C:D), kyselina propiónová, kyselina maslová (okrem D:E a D:F) a pomer kyseliny octovej a propiónovej neboli krmnými dávkami ovplyvnené. Čo sa týka kyseliny octovej, sú významné rozdiely medzi A:B, A:C, A:D, ďalej medzi B:F, C:F, D:E a D:F. Vysoký molárny podiel kyseliny octovej v skupine A je v dôsledku vysokého podielu objemových krmív v krmnej dávke a hlavne 25,2% podielu sena. Seno, siláž a senáž tvorili v skupine A spolu 80,3 %. Zaujímavé je aj porovnanie skupín D a E, v ktorých senáž a seno tvoria približne rovnaký podiel krmnej dávky, 78,4 %, resp. 81,2 %, avšak rozdiel je štatisticky významný. Tento významný rozdiel je pravdepodobne v dôsledku kvality senáže, ktorá je v skupine D podmienenčne použiteľná, avšak v skupine E nezávadná. Celkovo je molárne percento kyseliny octovej vo všetkých skupinách pomerne priaznivé a tieto hodnoty sú udržané podielom suchých objemových krmív (seno) v krmných dávkach, teda vyšším obsahom vlákniny. Je to markantné hlavne pre skupinu F. Aj keď rozdiely v kyseline propiónovej nie sú signifikantné, predsa len je molárne percento kyseliny propiónovej v krmných dávkach s nezávadnou senážou (E) či silážou (F) vyššie (19,02, resp. 19,38) ako v skupinách A, B a C, čo svedčí o dobrom energetickom krmive. Vzájomný pomer troch základných kyselín je najpriaznivejší práve v skupinách E a F s nezávadnou senážou a silážou, najmä čo sa týka výživy dojníc. Je zachované pomerne vysoké molárne percento kyseliny octovej (v dôsledku dostatočného množstva vlákniny v krmnej dávke), ktoré je potrebné hlavne pri tvorbe mliečneho tuku, a v porovnaní s ostatnými skupinami aj vyššie molárne percento kyseliny propiónovej, výhodnej z hľadiska energetických potrieb makroorganizmu.

V úvode sme spomenuli, že fermentačná činnosť v bachore je jedným zo špecifických faktorov, ktoré určujú fyziologické zvláštnosti trávenia prežúvavcov. Rozsah fermentácie u prežúvavcov môže byť vypočítaný aj teoreticky na základe stanovenia metánu a jednotlivých UMK, produkovaných počas fermentácie. Na základe produkcie a vzájomného pomeru UMK sme matematicky vypočítali energetickú výťažnosť produkcie UMK, resp. konverziu energie hexóz obsiahnutých v krmných dávkach, na energiu UMK v bachore. Stanovili sme ju na základe práce, ktorú uverejnili Orskov a i. [1968]. Títo autori vychádzali zo základných fermentačných rovníc. Keď sme použili túto metódu, nezistili sme pri porovnaní všetkých šiestich skupín rozdiely v energetickej výťaž-

Chov	Krmivo	pH	KVV	Sušina %	KMR %	KML %
A	senáž	6,05	3,0	22,5	6,080	0,072
	siláž	5,55	2,9	22,5	—	0,202
B	senáž	4,70	5,1	24,5	—	0,636
C	senáž	5,30	3,2	22,5	0,009	0,273
D	senáž	4,50	4,9	42,5	—	1,440
E	senáž	4,90	4,3	62,5	0,110	1,083
F	siláž	4,60	3,2	39,5	0,150	1,520

pH je udávané v log molc; KVV = kyslosť vodného výluhu v ml 0,1 N KOH/100 g; KMR = kyselina mravčia; KML = kyselina mliečna; KO = kyselina octová; KP = kyselina propiónová; KM = kyselina maslová; KV = kyselina valérová

nosti produkcie UMK v bachore (tab. III). Významné rozdiely sme nezaznamenali v dôsledku toho, že neboli zistené ani v molárnom percente kyseliny propiónovej a hlavne v pomere acetátu ku propionátu. Pomer týchto dvoch kyselín je v priamej, ale negatívnej korelácii s energetickou výťažnosťou (Baran a i., 1982). Hodnoty energetickej výťažnosti sa v našom pokuse pohybovali od 72,66 % (A) do 74,05 % (D). Orskov (1975) udáva pre rôzne typy diét rozmedzie 73 až 87 %.

Podobný, trochu modifikovaný výpočet podľa Technickej príručky č. 248 (IAEA, 1985) sme použili na určenie fermentovanej energie hexóz na energiu UMK (E_1) a na energiu metánu (E_2). Vyššie hodnoty E_1 , napr. v skupine D alebo B, sú pravdepodobne spôsobené vyšším podielom koncentrovaných krmív v kŕmnych dávkach. Najnižšie hodnoty E_1 sme zistili v skupinách A a F, ktoré v kŕmnych dávkach obsahovali značné množstvo objemových krmív, 80,3 %, resp. 74,3 %. Objemové krmivá bohaté na celulózu vytvárajú pri fermentácii väčšie množstvo metánu, čo sa potvrdilo pri sledovaní premeny energie hexóz na tvorbu metánu (E_2), ktorá bola práve v týchto skupinách najvyššia, 18,10 %, resp. 17,06 % (tab. II).

Na základe sledovania hladiny biochemických ukazovateľov bachorovej fermentácie je možné pomerne rýchlo odhaliť nesprávne zostavenú kŕmnu dávku, resp. nevhodné, nequalitné alebo priamo závadné krmivá. Rovnako aj technologické podmienky kŕmenia, fyzikálna forma, úprava, štruktúra kŕmnych dávok, ďalej napr. časté striedanie jednotlivých krmív v kŕmnych dávkach priamo ovplyvňujú biochemizmus bachora. Následne sa to môže odraziť na znížení úžitkovosti. Keďže rozdiely v sledovaných biochemických parametroch bachorovej fermentácie v našom pokuse neboli vždy štatisticky významné, predpokladáme, že negatívny vplyv podmiennečne použiteľných a závadných senáží a siláží bol kompenzovaný ostatnými komponentami kŕmnych dávok, pravdepodobne ostatnými suchými objemovými krmivami.

KO ‰	KP ‰	KM ‰	KV ‰	NH ₃ mg ‰	Vláknina ‰	Posúdenie
1,030	0,192	0,951	0,301	229,9	37,7	závadná
0,755	0,132	0,937	0,270	149,8	33,6	závadná
0,832	0,173	0,468	0,115	115,8	30,3	závadná
1,393	0,238	1,132	0,405	263,0	31,2	závadná
0,855	0,142	0,133	0,343	97,0	32,8	podmienenčne použiteľná
0,996	0,120	0,227	—	70,9	31,8	nezávadná
0,649	0,092	0,130	—	44,2	33,0	nezávadná

Literatúra

BARAN, M. — JALČ, D. — KALAČNÍK, G. I. — BOĐA, K. — ZELENÁK, I.: Výťažnosť premeny energie hexózy na energiu tvorby unikavých mastných kyselín v bachore oviec kŕmených diétami s pilinami. Veter. Med. (Praha), 27, 1982, č. 10, s. 585-593.

FENNER, H. — DAMON, R. A. — BARNES, H. D.: Effects of a stepwise replacement of hay with corn silage on pH, some organic metabolites and their changes in the rumen fluid of the bovine after feeding. J. Dairy Sci., 53, 1970, s. 1568-1577.

HOLEVÁ, L.: Kvalita siláže a senáže vo vzťahu k niektorým ukazovateľom bachorového profilu pri využití izotachforetického analyzátoru ZKI 01. [Atestačná práca.] Spišská Nová Ves, Štátny veterinárny ústav 1987.

INTERNATIONAL ATOMIC ENERGY AGENCY: Laboratory training manual of the use of nuclear techniques in animal nutrition. Techn. Rep. Ser., No 248, IAEA, Vienna 1985.

JONES, G. M. — DONEFER, E. — JAVED, A. H. — GAUDREAU, J. M.: Intake and digestibility of sheep of wilted alfathimothy or corn silages ensiled at low and high dry matter levels. J. anim. Sci., 33, 1971, s. 1315-1320.

McCULLOGH, M. E. — SMART, W. W. G.: Influence of feeding schedule, type and forage, and ratio of flaked corn to forage on rumen fermentation. J. Dairy Sci., 51, 1968, s. 385-391.

ORSKOV, E. R.: Manipulation of rumen fermentation for maximum food utilization. In: World review of nutrition and dietetics, Vol. 22. BOURNE, G. H. (Ed.). Basel, S. Karger 1975.

ORSKOV, E. R. — FLATT, W. P. — MOE, P. W.: Fermentation balance approach to estimate extent of fermentation and efficiency of volatile fatty acids formation in ruminants. J. Dairy Sci., 51, 1968, č. 9, s. 1429-1435.

SCHINGOETHE, D. J. — VOELKER, H. H. — BEARDLEY, G. L. — PARSONS, J. G.: Rumen volatile fatty acids and milk composition from cows fed hay, haylage, or urea-treated corn silage. J. Dairy Sci., 59, 1976, s. 894-901.

SOMMER, A. a kol.: Výživa a kŕmenie hospodárskych zvierat. Bratislava, Príroda 1985.

SIMO, K.: Využitie izotachforetického analyzátoru ZKI 01 vo veterinárnej diagnostike. [Atestačná práca.] Spišská Nová Ves, Štátny veterinárny ústav 1985.

ZELENÁK, I. — BARAN, M. — PAJTÁŠ, M. — SOMMER, A.: Motorika predžalúdkov a úroveň unikavých mastných kyselín u dojnic kŕmených tradičnou diétou a monodiétou na báze kukuričnej siláže. Veter. Med. (Praha), 22, 1977, č. 5, s. 281-290.

Došlo dňa 7. 8. 1987

БАРАН, М. — ГОЛЕВА, Л. (Институт физиологии сельскохозяйственных животных САН, Кошице; Госветинститут, Спишска Нова Вес): **Качество силосов и сенажей по отношению к ферментативным процессам в рубце жвачных.** Veter. Med. (Praha), 33, 1988 (6) : 323-336.

Влияние качества силосов и сенажей на рубцовую ферментацию определяли у 36 коров из 6 разведений, помеченных А—F. Кормодозы содержали следующие % объ. кормов: А — сенаж 25,2, силос 29,9, сено 25,2; В сенаж 41,2, солома 17,9; С — сенаж 54,9; D — 64,6, сено 13,8; Е — сенаж 63,5, сено 17,7; F — силос 34,3, сено 40,0. Мы оценивали качество силоса и сенажа по ГОСТ 467012 и на основе ветеринарных методов исследования. В кормах и содержимом рубца за 3—4 ч после кормления с помощью изотактофретического анализатора определяли общее содержание жирных летучих кислот и их молярное соотношение. Математическим путем вычисляли энерговыход продукции ЛЖК (Е-ЛЖК) и выход энергопревращения гексоз в энергию образования ЛЖК (Е₁) и метана (Е₂). Три образца силоса и сенажа (А, В, С) были оценены как вредные для здоровья, один (D) — обусловленно употребимый и 2 (Е, F) — безвредные. Сопоставление показало что общая ЛЖК, пропионовая и масляная кислоты и отношение ацетат : пропионат не подвергались влиянию рациона. Значимые различия в мол.% уксусной кислоты, Е₁ и Е₂ можно отнести за счет разного содержания клетчатки в рационах. Значения энерговыхода продукции ЛЖК 72,66 % (А) — 74,05 % (D), различия незначимы. Как показали результаты, отрицательное влияние вредных для здоровья силосов и сенажей на процессы ферментации в рубце компенсируются остальными компонентами рациона — по всей вероятности, сухими объемными кормами.

коровы; рубцовая ферментация; летучие жирные кислоты

BARAN, M. — HOLEVA, L. (Institute of Animal Physiology, Slovak Academy of Sciences, Košice; State Veterinary Institute, Spišská Nová Ves): *The Quality of Silages and Haylages in relation to Fermentation Processes in the Rumen of Ruminants.* Veter. Med. (Praha), 33, 1988 (6) : 329-336.

The influence of silage and haylage quality on rumen fermentation was investigated in 36 dairy cows coming from six herds denoted A—F. The feed rations contained the following proportions of bulk feeds in percent dry matter: A — haylage 25.2, silage 29.9, hay 25.2; B — haylage 41.4, straw 17.9; C — haylage 54.9; D — haylage 64.6, hay 13.8; E — haylage 63.5, hay 17.7; F — silage 34.3, hay 40.0. The quality of silages and haylages was evaluated according to the ČSN 467012 standard and veterinary methods of examination. Total volatile fatty acids and their molar ratios were determined in the feeds and rumen contents sampled 3—4 hours after feeding by means of an isotachophoretic analyzer. We calculated mathematically the energy yield of VFA (E-VFA) production and the yield of the transformation of hexose energy into the energy of the production of VFA (E₁) and methane (E₂). Three samples of silages and haylages (A, B, C) were assessed as unsafe, one sample (D) as conditionally safe and two samples (E, F) as safe. Mutual comparisons showed that the contents of total VFA, propionic acid and butyric acid, and the acetate : propionate ratio were not influenced by the composition of feed rations. Statistically significant differences in the molar percentage of acetic acid, E₁ and E₂ were ascertained due to different contents of fibre in the feed rations. The values of the energy yield of the VFA production ranged within 72.66 % (A) to 74.05 % (D) and the differences were not significant. The results have indicated that the negative influence of unsafe silages and haylages on the fermentation processes in the rumen was compensated by the other components of feed rations, probably by dry bulk feeds.

dairy cows; rumen fermentation; volatile fatty acids

Adresy autorov:

MVDr. Miroslav Baran, CSc., Ústav fyziológie hospodárskych zvierat SAV, Dukelských hrdinov 1/B, 040 01 Košice
MVDr. Ľubomír Holeva, Štátny veterinárny ústav, Duklianska 46, 052 80 Spišská Nová Ves

POUŽITIE PRIAMEJ IMUNOFLUORESCENCIE PRI DÔKAZE PARVOVÍRUSU PSOV V TKANIVOVEJ KULTÚRE

J. Zajac, T. Žuffa, L. Šedivá

ZAJAC, J. — ŽUFFA, T. — ŠEDIVÁ, L. (Bioveta, n. p., Nitra; Ústredný veterinárny ústav, Bratislava): *Použitie priamej imuno fluorescencie pri dôkaze parvovírusu psov v tkanivovej kultúre*. Veter. Med. (Praha), 33, 1988 (6) : 337-346.

Imuno fluorescenčná technika sa uplatnila v širokom rozsahu v experimentálnych prácach vo virológii, ale tiež pri diagnostike vírusových infekcií hospodárskych zvierat. Pre potreby priameho dôkazu infekcie parvovírusu psov sme pripravili z králičieho hyperimúnného séra fluorescenčný konjugát. Preparát vykazoval vírus špecifickú fluorescenčnú reakciu v stabilnej kultúre mačacích obličkových buniek infikovaných psím parvovírusom, vírusom infekčnej enteritídy noriek, ako aj vírusom felinnej panleukopénie, až do riedenia 1 : 64. Pri sledovaní dynamiky experimentálnej infekcie mačacích obličkových buniek odstupňovanými riedeniami infekčného inokula parvovírusu psov sme zistili priamu závislosť medzi veľkosťou inokula a rozsahom fluorescenčného žiarenia a nepriamy vzťah medzi veľkosťou infekčnej dávky a časovým nástupom fluorescencie. Vírus špecifická reakcia bola charakterizovaná tvorbou žiariacich granúl spájajúcich sa v splývajúce cytoplazmatické žiarenie, ktoré po prestupe do jadier vyplňalo celú bunku. Nástup špecifickej fluorescencie predchádzal spravidla o 24 hodín cytopatické zmeny na bunkách. Diagnostiku parvovirózy psov priamou imuno fluorescenciou sme robili na bunkových kultúrach stabilnej línie MDCK. po primoinokulácii vyšetrovaného materiálu. Zo 160 vyšetrení vzoriek, ktoré sme pripravili zo suspenzie trusu alebo z čriev a lymfatických uzlín postihnutých zvierat, sme zaznamenali pozitívnu reakciu v 27 vzorkách. Vo všetkých pozitívnych prípadoch išlo o psov, ktorí do šiestich mesiacov veku proti parvoviróze neboli vakcinovaní. Priama imuno fluorescencia sa v našich pokusoch preukázala ako metóda citlivá a špecifická, vhodná na vizualizovanie parvovírusu psov v bunkových kultúrach pre experimentálne alebo diagnostické účely.

vírusové infekcie; bunkové kultúry; diagnostika; fluorescenčná reakcia

Na aktuálnosť parvovirózy psov v ČSSR poukázali medzi prvými Celer (1984) a Celer a Hejlíček (1984). Za krátku dobu potom predložili Žuffa a Salaj (1985) a Dedek a i. (1985) oznámenie o príprave a použití očkovacích látok proti parvovírusovým infekciám psov a mäsožravých kožušinových zvierat. Pri riešení danej problematiky vychádzali uvedení autori z poznatkov, ktoré zaznamenali Appel a i. (1979), Carmichael a i. (1980) a Pollock a Carmichael (1981, 1982) pri vzniku, priebehu a profylaxii parvovírusových ochorení mäsožravcov v zahraničí.

Pri diagnostike uvedených infekcií sa osvedčili jednoduché vyšetrovacie metódy, založené na hemaglutinačných vlastnostiach parvovírusov. Okrem praktických a pohotových hemaglutinačno-inhibičných a hemaglutinačných testov sa pri exaktnej diagnostike a experimentálnych prácach používajú špecifické imuno fluorescenčné metódy (Witte

a i., 1980; Osterhaus a i., 1980; Eugster, 1980; Maess a Patzig, 1982).

V našej práci predkladáme výsledky, ktoré sme dosiahli metódou priamej imunofluorescencie pri sledovaní experimentálnej infekcie bun-
kových kultúr psím parvovírusom a pri diagnostike parvovírusových in-
fekcií psov.

MATERIÁL A METÓDY

VÍRUSY

Na experimentálne práce sme použili kmeň parvovírusu psov CPVA BN 80/82, kmeň vírusu infekčnej enteritídy noriek MEVA BN 63/82 a kmeň vírusu panleukopénie mačiek FPVA BN 110/83. Jednotlivé vírusové kmene charakterizoval Žuffa (1986).

BUNKOVÉ KULTÚRY

Na pomnoženie uvedených vírusov a experimentálnu infekciu sme použili kultúry stabilnej línie mačacích obličkových buniek FE, pestovaných v Eaglovom médiu MEM obohatenom o 5 až 10 % prekolostrálneho tefacieho séra (Žuffa, 1986).

KONJUGÁT

Na prípravu fluorescenčného konjugátu sme použili králičie hyperimúne sérum. Imunizáciu sme robili vírusovým antigénom, koncentrovaným pomocou polyetylén glykolu 6000 z bezsérového média, ktoré obsahovalo 10^5 TKID₅₀. ml⁻¹ parvovírusu psov. Desafnásobne koncentrovaný vírusový materiál sme zapracovali do olejového adjuvans All-span-oil (ÚSOL Praha) a inokulovali i. d. po 2 ml desiatim králikom. Za tri týždne sme im aplikovali i. v. po 2 ml solubilného vírusového materiálu. Desiat dní po druhej imunizácii sme králiky krváčali. V jednotlivých sérach sme stanovili hemaglutinačno-inhibičný titer protilátok proti parvovírusu psov mikrometódou v prevedení podľa Žuffu (1986). Gamaglobulinovú frakciu séra sme izolovali precipitáciou rivanol-síranovou metódou. Konjugáciu bielkovín s fluoresceinizotiokyanátom (FITC) a purifikáciu konjugátu na DEAE Sephadex A-50 sme robili spôsobom bežne zaužívaným na našom pracovisku (Zajac a Žuffa, 1985).

TESTOVANIE KONJUGÁTU

Čerstvú suspenziu FU buniek v Leightonových skúmavkách so sklíčkami sme infikovali dávkou 0,2 ml príslušného vírusového materiálu s obsahom 10^4 TKID₅₀. ml⁻¹. Po inkubácii pri teplote 37 °C počas 30 minút sme infikovaný materiál v skúmavkách zaliali po 1,5 ml média MEM s 10 % prekolostrálneho tefacieho séra a inkubovali pri teplote 37 °C 48 hodín. Potom sme sklíčkové kultúry opláchli roztokom PBS, vysušili pri laboratórnej teplote a fixovali acetónom 20 minút.

Konjugát sme riedili v PBS v pomere od 1 : 2 do 1 : 128 a jednotlivými riedeniami sme farbili po dve sklíčkové kultúry:

- infikované parvovírusom psov,
- infikované vírusom felinnej panleukopénie,
- infikované vírusom enteritídy noriek,
- neinfikované.

Fixované sklíčkové kultúry sme prevrstvili konjugátom a inkubovali jednu hodinu pri teplote 37 °C vo vlhkej komôrke. Potom sme kultúry trikrát premývali roztokom PBS po dobu desiatich minút a zapracovali do glycerínového roztoku na mikroskopické podložné sklíčka. Preparáty sme prehliadali pod fluorescenčným mikroskopom FLUOVAL pri zväčšení 10. 16, resp. 40. Intenzitu fluorescencie sme posudzovali na križiky takto:

++++ žiarivá žltozelená fluorescencia
 +++ jasná žltozelená fluorescencia
 ++ zreteľne žltozelená fluorescencia
 + slabá žltozelená fluorescencia

DYNAMIKA INFEKcie BUNIEK

Suspenziu FE buniek v Leightonových skúmavkách so sklíčkami sme infikovali odstupňovanými dávkami psieho parvovírusu v rozsahu od 10^6 do 10 TKID₅₀. ml⁻¹. V intervale dva, tri, štyri, päť a osem dní po infekcii sme fixovali a farbili konjugátom vždy po dve sklíčkové kultúry infikované jednotlivými dávkami vírusu. Súčasne sme sledovali na tkanivovej kultúre príznaky cytopatického účinku vírusu.

DIAGNOSTICKÉ VYŠETRENIE

Od apríla 1984 do konca roka 1986 sme pomocou imunofluorescencie zisťovali prítomnosť parvovírusu v 160 vzorkách stolice psov s klinickými príznakmi enterálneho ochorenia alebo vo vzorkách čriev a lymfatických uzlín psov uhynutých v dôsledku takéhoto ochorenia. Veková hranica zvierat nepresahovala vo väčšine prípadov šesť mesiacov.

Na vyšetrenie sme pripravili 10% suspenziu trusu alebo orgánov postihnutých psov v bezsérovom médiu MEM, ktorú sme odstredili pri 3500 g počas 60 minút. Vyčisteným supernatantom sme po 0,1 ml infikovali suspenziu stabilnej bunkovej línie MDCK, v médiu MEM s 10% prekolostrálneho séra, pripravenú v Leightonových skúmavkách so sklíčkami. Fixovanie a farbenie s konjugátom sme robili po 48 a 72 hodinách inkubácie pri teplote 37 °C.

VÝSLEDKY

CHARAKTERISTIKA KONJUGÁTU

Séra získané od imunizovaných králikov obsahovali hemagglutinačno-inhibičné protilátky proti psiemu parvovírusu v titroch 1:20 480 a vyššie. Konjugát pripravený z hyperimúnného séra vizualizoval pri farbení bunkových kultúr infikovaných psím parvovírusom (CPV), víru-

I. Intenzita špecifickej fluorescencie na kultúrach stabilnej línie mačacích obličkových buniek infikovaných parvovírusom psov (CPV), vírusom felinnej panleukopénie (FPLV) alebo vírusom enteritídy noriek (MEV) a intenzita nešpecifickej fluorescencie na neinfikovaných kultúrach farbených konjugátom — The intensity of specific fluorescence in the cultures of the stable line of cat kidney cells infected with canine parvovirus (CPV), feline panleukopenia virus (FPLV) or mink enteritis virus (MEV) and the intensity of nonspecific fluorescence in the noninfected cultures stained with conjugate

Riedenie konjugátu	Kultúry infikované			Kultúry neinfikované
	CPV	FPLV	MEV	
2	++++	++++	++++	+
4	++++	++++	++++	—
8	+++	+++	+++	—
16	+++	+++	+++	—
32	++	++	++	—
64	+	+	+	—
128	—	—	—	—

som enteritídy noriek (MRV) a vírusom felianej panleukopénie (FPLV) vírusovú infekciu do riedenia 1 : 64, pričom nebolo rozdielu v intenzite žiarenia na kultúrach infikovaných jednotlivými vírusmi pri uvedených riedeniach konjugátu. Neinfikované kultúry vykazovali slabé nešpecifické žiarenie pri farbení konjugátom riedeným v pomere 1 : 2 (tab. I).

Špecifická reakcia mala vo všetkých prípadoch charakter intenzívneho žltozeleného žiarenia lokalizovaného v rozsahu celých infikovaných buniek.

DYNAMIKA INFEKCIE

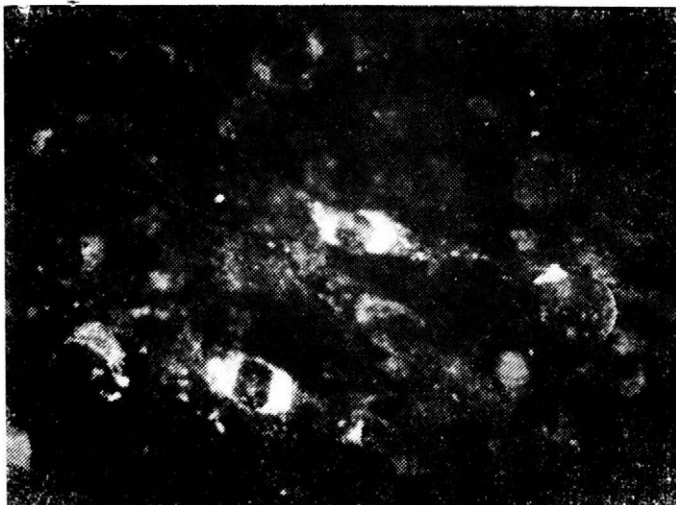
Nástup špecifického fluorescenčného žiarenia a cytopatického účinku parvovírusu psov v kultúre stabilnej bunkovej línie FE je zaznamenaný v tab. II.

II. Priebeh infekcie stabilnej kultúry mačacích obličkových buniek vyvolaný odstupňovanými dávkami psieho parvovírusu podľa cytoplazmatickej imunofluorescencie (CIF), jadrovej imunofluorescencie (JIF) a cytopatického účinku vírusu (CPÚ) — The pattern of infection of the stable culture of cat kidney cells induced by differentiated doses of canine parvovirus according to cytoplasmic immunofluorescence (CIF), nuclear immunofluorescence (JIF) and cyto-pathological effects of the virus (CPÚ)

Dávka vírusu TKID ₅₀	Prejav infekcie	Dni po infekcii				
		2	3	4	5	8
10 ⁶	CIF	++				
	JIF	—	++	+++		
	CPÚ	—	+	++	+++	
10 ⁵	CIF	—	++			
	JIF	—	++	++	+++	
	CPÚ	—	+	++	++	+++
10 ⁴	CIF	—	+	++	++	
	JIF	—	+	++	++	+++
	CPÚ	—	—	+	++	+++
10 ³	CIF	—	—	++	++	
	JIF	—	—	+	++	+++
	CPÚ	—	—	—	+	++
10 ²	CIF	—	—	+	++	
	JIF	—	—	—	+	++
	CPÚ	—	—	—	—	+
10	CIF	—	—	+	+	+
	JIF	—	—	—	—	+
	CPÚ	—	—	—	—	—

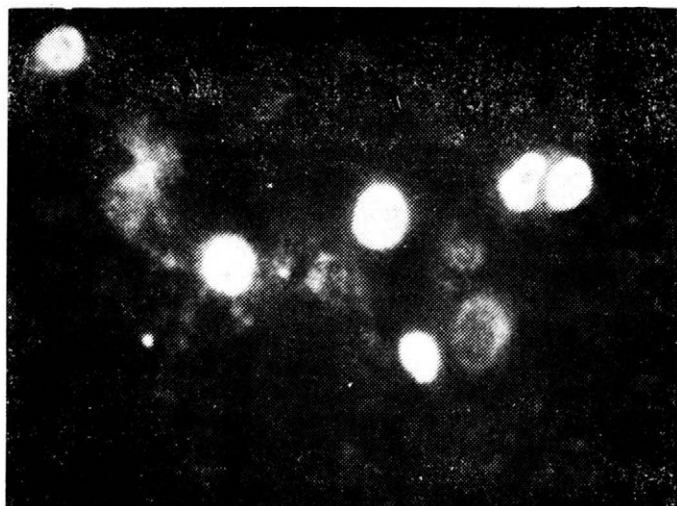
legenda: + zmeny v ojedinelých bunkách, ++ zmeny v skupine buniek, +++ zmeny na súvislej ploche tkaniva

1. Cytoplazmatická fluorescencia v kultúre mačacích obličkových buniek druhý deň po infekcii dávkou 10^6 TKID₅₀ . ml⁻¹ psieho parvovírusu — Cytoplasmic fluorescence in the culture of cat kidney cells the second day after infection with a dose of 10^6 TKID₅₀ . ml⁻¹



Na kultúrach infikovaných dávkou 10^6 TKID₅₀ vírusu sme v druhom dni pozorovali v cytoplazme buniek žiariace granulá, ktoré v niektorých prípadoch splývali a mali charakter masívnej cytoplazmatickej fluorescencie (obr. 1). Tretí deň po infekcii sme v skupinách buniek zaznamenali intenzívne žiarenie v jadrách (obr. 2), ktoré sa v štvrtom dni rozšírilo na celý rozsah buniek. Prvé prejavy cytopatického účinku sme zistili v jednotlivých bunkách v treťom dni po infekcii. V piatom dni vykazovala vírusšpecifické zmeny celá plocha infikovaných buniek. Pri infekcii kultúr dávkami 10^5 a 10^4 TKID₅₀ vírusu sme zaznamenali vírusšpecifické žiarenie v cytoplazme a v jadrách infikovaných buniek v treťom dni po infekcii. Vírusšpecifické cytopatické zmeny vykazovali pri infekčnej dávke 10^5 TKID₅₀ ojedinelé bunky v treťom dni a pri dávke 10^4 TKID₅₀ vírusu v štvrtom dni po infekcii. V ďalšom období mal priebeh infekcie sledovaný pomocou imunofluorescencie a cytopatických zmien výrazný proliferatívny charakter. Na kultúrach infikovaných dáv-

2. Jadrová fluorescencia v kultúre mačacích obličkových buniek tretí deň po infekcii dávkou 10^6 TKID₅₀ . ml⁻¹ psieho parvovírusu — Nuclear fluorescence in the culture of cat kidney cells the third day after infection with a dose of 10^6 TKID₅₀ . ml⁻¹



III. Imunofluorescentný nález parvovírusu psov vo vyšetrovaných vzorkách v rokoch 1984 až 1986 v spádovej oblasti ÚSVÚ Bratislava — Immunofluorescence finding of canine parvovirus in the samples examined in the years 1984—1986 in the hinterland area of the ÚSVÚ establishment

Rok	Počet vzoriek	Percento pozitívnych
1984	59	13,5
1985	55	21,8
1986	46	15,2

kami 10^3 , 10^2 a 10 TKID₅₀ vírusu sme pozorovali vírusšpecifické fluorescenčné žiarenie v štvrtom dni po infekcii. Intenzita a proliferácia infekcie bola v ďalšom období v priamom vzťahu k veľkosti použitej infekčnej dávky. Cytopatické zmeny sa na kultúrach infikovaných dávkou 10^3 TKID₅₀ zisťovali s postihnutím ojedinelých buniek v piatom dni a na kultúrach infikovaných dávkou 10^2 TKID₅₀ vírusu v šiestom dni po infekcii. Kultúry infikované dávkou 10 TKID₅₀ vírusu nevykazovali nijaké vírusšpecifické zmeny ani pri ich prolongovanej inkubácii.

DIAGNOSTIKA PARVOVIRÓZY PSOV

Z celkového počtu 160 vyšetrovaných vzoriek sme primokultiváciou pomocou imunofluorescencie zaznamenali pozitívnu reakciu v 27 prípadoch (tab. III); slepé subpasáže očkovaných kultúr sme nerobili. U psov, u ktorých sme uvedeným vyšetrením potvrdili parvovírusovú infekciu, sa v predchádzajúcom období vakcinačné zákroky proti parvoviróze nerobili.

DISKUSIA

Základným predpokladom úspechu použitia imunofluorescencie pri výskume alebo diagnostike infekčných ochorení ľudí alebo zvierat je farbenie vyšetrovaných materiálov špecifickým a výkonným konjugátom. Z uvedeného dôvodu sme venovali výrobe a testovaniu konjugátu proti parvovírusu psov osobitú pozornosť.

Králiky imunizované koncentrovaným vírusovým materiálom, spôsobom, ktorý použili Wallace a i. (1983), vytvorili vysoké titry HI- protilátok. Vysoký obsah protilátok vo východiskových sérach sa odzrkadlil v citlivosti z nich pripraveného konjugátu, ktorý vykazoval špecifickú pozitívnu reakciu ešte v riedení v pomere 1 : 64, a to nielen proti homológnemu vírusu, ale aj pri farbení kultúr infikovaných vírusom felinnej panleukopénie a infekčnej enteritídy noriek. Rovnako Wallace a i., (1983) nezistili rozdiely v krížovej reakcii konjugátov pripravených z králičích sér proti psiemu parvovírusu, resp. vírusu felinnej panleukopénie na tkanivových kultúrach infikovaných týmito vírusmi. V súlade s týmito nálezmi je tiež úspešné použitie konjugátu pripraveného z imúnneho séra proti vírusu felinnej panleukopénie pri diagnostike parvovírusových infekcií psov (Eugster, 1980; Witte a i., 1980; Hinaidy, 1981). Krížové reakcie sú prejavom existencie spoločných antigénov uvedených vírusov (Burtonboy a i., 1982).

Vírusšpecifická fluorescencia je v prvej fáze infekcie charakterizovaná tvorbou intenzívne žiariacich granúl spájajúcich sa v splývajúce cytoplazmatické žiarenie, ktoré po prestupe do jadier vyplňa celú bunku. Rovnaký priebeh infekcie, ktorý súvisí s priebehom replikácie vírusu v danom bunkovom substráte, zaznamenal tiež Eugster (1980).

Pri voľbe tkanív vhodných na pestovanie vírusov sme vychádzali z údajov, ktoré uviedol Eugster (1980), ako aj zo skúseností získaných na našom pracovisku (Žuffa, 1986). Obidva druhy tkanív, t. j. bunky stabilnej línie FE ako aj MDCK, sa ukázali na infekciu uvedenými vírusmi veľmi vnímavé. Za definovaných kultivačných podmienok produkujú uvedené druhy tkaniva veľké množstvo vírusu a pri bunkovej línii FE je vírusové množenie doprevádzané vývojom vírusšpecifických cytopatických zmien (Žuffa, 1968), pričom priebeh infekcie aj rozsah cytopatických zmien je závislý od multiplicity infekcie. V opísaných pokusoch sa pri infekcii kultúr FE odstupňovanými dávkami psieho parvovírusu zistil priamy vzťah medzi veľkosťou infekčnej dávky a rozsahom fluorescenčného žiarenia, ale nepriama závislosť medzi veľkosťou infekčného inokula a časovým nástupom fluorescencie. Dôkaz prítomnosti vírusovej infekcie pomocou imunofluorescencie predchádzal spravidla o 24 hodín prvému objaveniu sa cytopatických zmien na bunkách.

Diagnostika parvovirózy psov sa popri klinickom obraze zakladá na laboratórnom vyšetrení (Witte a i., 1980). Imunofluorescenčnou technikou sa pôvodca infekcie najčastejšie dokazuje v črevnom trakte a v lymfatických uzlinách (Mörner a Olson, 1985).

V našej práci sme imunofluorescenčnú techniku použili pri dôkaze infekčného agens v bunkovej kultúre očkovanej materiálom získaným z chorých alebo uhynutých zvierat. Zo 160 vyšetrených vzoriek bolo 27 pozitívnych (16,9 %). Pri použití rovnakého postupu dokázal Hinaidy (1981) prítomnosť parvovírusu v 18 zo 62 vyšetrených vzoriek (27,4 %) psov mladších ako sedem mesiacov. Mörner a Olson (1985) dokázali prítomnosť parvovírusu u psov vo veku 8 až 20 týždňov. Vo všetkých pozitívnych prípadoch išlo o zvieratá, ktoré neboli vakcinované proti parvovírusovej infekcii do veku šiestich mesiacov.

Priama imunofluorescencia sa v našich pokusoch ukázala ako citlivá metóda pri dôkaze parvovírusu psov v infikovanom tkanive pre experimentálne a diagnostické účely.

Literatúra

- APPEL, M. J. G. — SCOTT, F. V. — CARMICHAEL, L. E.: Isolation and immunisation studies of a canine parvo-like virus from dogs with haemorrhagic enteritis. *Veter. Rec.*, 105, 1979, s. 156-159.
- BURTONBOY, G. — BAZIN, H. — DELFERRIERE, N.: Rat hybridoma antibodies against parvovirus. *Arch. Virol.*, 71, 1982, s. 291-302.
- CARMICHAEL, L. E. — JOUBERT, J. C. — POLLOCK, R. V. H.: Hemagglutination by canine parvovirus: Serologic studies and diagnostic applications. *Amer. J. veter. Res.*, 41, 1980, s. 784-791.
- CELER, V.: Průkaz parvoviru psů hemaglutinačním testem. *Veter. Med. (Praha)*, 29, 1984, s. 373-378.
- CELER, V. — HEJLÍČEK, K.: Sérologický průkaz parvovirové infekce psů hemaglutinačně inhibičním testem. *Veter. Med. (Praha)*, 29, 1984, s. 379-383.

- DEDEK, L. — MACURA, B. — KRUPKA, V.: Předběžné výsledky z přípravy a použití vakcíny proti parvoviroze psů. In: Sbor.: Diagnostika a imunoprofylaxe parvovirových onemocnění masožravců. Brno 1985, s. 51-53.
- EUGSTER, A. K.: Studies on canine parvovirus infections: Development of an inactivated vaccine. Amer. J. veter. Res., 41, 1980, s. 2020-2024.
- HINAIDY, B.: Ätiologische Diagnose durch canines Parvovirus bedingter Enteritisfälle in Österreich. Wien. tierärztl. Mschr., 68, 1981, s. 145-149.
- MAESS, J. — PATZIG, F.: Serologische Schnell diagnose der Parvovirus enteritis des Hundes durch den Nachweis virusspezifischer IgM-Antikörper. Dtsch. tierärztl. Wschr., 89, 1982, s. 137-176.
- MÖRNER, T. — OLSON, P.: Canine parvovirus infection demonstrated by immunofluorescence. Zbl. Veter.-Med., 32, 1985, s. 337-344.
- OSTERHAUS, A. D. M. E. — DROST, G. A. — WIRAHADIREDDA, R. M. S. — VANDENINGH, S. G. A. M.: Canine viral enteritis: Prevalence of parvo, corona and rotavirus infections in dogs in Netherlands. Veter. Quart., 2, 1980, s. 181-236.
- POLLOCK, R. V. H. — CARMICHAEL, L. E.: Newer knowledge about canine parvovirus. Proc. 30th Gaines veter. Symp., 1981, s. 36-40.
- POLLOCK, R. V. H. — CARMICHAEL, L. E.: Dog response to inactivated canine parvovirus and feline panleukopenia virus vaccines. Cornell Veter., 72, 1982, s. 16-35.
- WALLACE, B. L. — MCMILLEN, J. K. — TODD, J. D.: Canine parvovirus serum neutralizing antibody assay: Assessment of factors responsible for disparity of results between tests. Cornell Veter., 73, 1983, s. 52-57.
- WITTE, K. H. — PRAGER, D. — ERNST, H.: Canines parvovirus: Isolierung aus Enteritisfällen in der Bundesrepublik Deutschland. Tierärztl. Umsch., 35, 1980, s. 234-238.
- ZAJAC, J. — ŽUFFA, T.: Imunofluorescentný dôkaz infekcie tkanivovej kultúry bovinými vírusmi Rota, Reo-1 a Adeno-1. Imunoprofylaxia, 1985, č. 4, s. 24-45.
- ŽUFFA, T.: Živé atenuované vakcíny proti vírusovým ochoreniam psov a masožravých kožušinových zvierat. [Záverečná správa.] Nitra, Bioveta, n. p., 1986.
- ŽUFFA, T. — SALAJ, J.: Vývoj a testovanie vakcíny proti vírusovej enteritide noriek a parvoviroze psov. In: Sbor.: Diagnostika a imunoprofylaxe parvovirových onemocnění masožravců. Brno 1985, s. 53-58.

Došlo dňa 10. 6. 1987

ЗАЯЦ, Я. — ЖУФФА, Т. — ШЕДИВА, Л. (Биовета, нац. пр. Нитра; Центральный ветеринарный институт, Братислава): Использование прямой иммунофлюоресценции для доказательства парвовируса собак в тканевой культуре. Veter. Med. (Praha), 33, 1988 (6) : 337-346.

Иммунофлюоресцентная техника нашла широкое применение в экспериментальных работах по вирусологии в диагностике вирусных заболеваний скота. Для нужд прямого доказательства парвовируса приготовили из кроличьей гипериммунной сыворотки флюоресцентный конъюгат. Препарат обладает специфической на вирус флюоресцентной реакцией в прочной культуре кошачьих почечных клеток, зараженных парвовирусом собак, вирусом инфекц. энтерита норки и вирусом фелинной панлейкопении вплоть до разбавления 1:64. В ходе определения динамики экспериментального заражения кошачьих почечных клеток дифференцированно разбавленным инокулюмом парвовируса собак мы определили непосредственную связь между размерами инокулюма и диапазоном флюоресцентного излучения, а косвенное — между размером инфекционной дозы и началом флюоресценции. Упомянутая реакция охарактеризована образованием светящихся гранул, объединяющихся в сплошное цитоплазматическое свечение, которое при прохождении в ядро заполняло всю клетку. Специфическая флюоресценция предшествовала, как правило, цитоплазматические изменения клеток на 24 ч раньше. Парвовирус собак диагностировали с помощью прямой иммунофлюоресценции в клеточных культурах прочной линии MDCK, после прямой инокулировки исследуемого материала. Из 160 исследованных образцов, приготовленных из суспензии помета или из кишок и лимф. узлов пораженных животных, положительную реакцию отметили в 27 образцах. Во всех положительных случаях это были собаки, которых до 6-месячного

возраста еще не вакцинировали против парвовируса. Прямая иммунофлюоресценция оказалась в наших опытах чувствительным и специфическим методом визуализирования парвовируса собак в клеточных культурах для экспериментальных или диагностических целей.

вирусные инфекции; клеточные культуры; диагностика; флюоресцентная реакция

ZAJAC, J. — ŽUFFA, T. — ŠEDIVÁ, L. (Bioveta National Corporation, Nitra; Central Veterinary Institute, Bratislava): *Direct Immunofluorescence Used to Demonstrate the Canine Parvovirus in Tissue Culture*. Veter. Med. (Praha), 33, 1988 (6) : 337-346.

Immunofluorescent techniques were used in a wide scope during experimental studies in virology, and also for the diagnostics of virus infections of farm animals. Fluorescent conjugate was prepared from rabbit hyperimmune serum to be used for a direct proof of canine parvovirus infection. The preparation exhibited a virus specific fluorescent reaction in the stable culture of cat kidney cells infected with canine parvovirus, mink infectious enteritis virus, and feline panleukopenia virus, until the dilution of 1 : 64. Studying the development of the experimental infection of cat kidney cells after using differentiated dilutions of the infectious inoculum of canine parvovirus, a direct dependence was ascertained between the inoculum dose and the range of fluorescent radiation and an indirect dependence between the infectious dose and the onset of fluorescence. The formation of brilliant granules was typical of the virus specific reaction; they produced continuous cytoplasmic radiation that filled, after transmission to the nuclei, the whole cell. The onset of specific fluorescence preceded as usual by 24 hours the cyto-pathological changes in the cells. Canine parvovirus was diagnosed by direct immunofluorescence in the cell cultures of the stable MDCK line, after primary inoculation of the material under examination. Positive reactions were observed in 27 samples out of the 160 samples under examination that had been prepared from a suspension of excrements, or from the intestines and lymphatic nodes of the infected animals. In all positive cases they were the dogs that had not been vaccinated against parvovirus until the age of six months. In the above trials, direct immunofluorescence was proved to be a sensitive and specific method for visualizing the canine parvovirus in the cell cultures used for experimental or diagnostic purposes.

virus infections; cell cultures; diagnostics; fluorescent reaction

ZAJAC, J. — ŽUFFA, T. — ŠEDIVÁ, L. (Bioveta, Volkseigener Betrieb, Nitra; Zentrales Veterinärinstitut, Bratislava): *Anwendung der direkten Immunofluoreszenz beim Nachweis des Parvovirus der Hunde in Gewebekulturen*. Veter. Med. (Praha), 33, 1988 (6) : 337-346.

Die Immunfluoreszenztechnik hat sich in breitem Maßstab in experimentellen Arbeiten in der Virologie, aber auch in der Diagnostik der Virusinfektionen bei landwirtschaftlichen Nutztieren durchgesetzt. Für den Bedarf eines direkten Nachweises der Parvovirusinfektion der Hunde haben wir ein Fluoreszenzkonjugat aus Kaninchen-Hyperimmunserum zubereitet. Das Präparat wies eine virusspezifische Fluoreszenzreaktion in stabiler Kultur von Katzennierenzellen auf, die mit dem Hunde-Parvovirus, dem Virus der infektiösen Enteritis der Nerze sowie mit dem Virus der Katzen-Panleukopenie infiziert waren, bis zu einer Verdünnung von 1 : 64. Bei Untersuchungen der Dynamik der experimentellen Infektion der Katzennierenzellen durch abgestufte Verdünnungen des Hunde-Parvovirus-Inokulums konnten wir eine direkte Abhängigkeit zwischen der Inokulumgröße und dem Umfang der Fluoreszenzstrahlung sowie eine indirekte Beziehung zwischen der Größe der Infektionsdosis und dem zeitlichen Eintritt der Fluoreszenz feststellen. Die virusspezifische Reaktion war durch eine Bildung von strahlenden Granula charakterisiert, die sich zu einer zusammenfließenden zytoplasmatischen Strahlung verbanden, die nach ihrem Übertritt in den Kern die ganze Zelle ausfüllte. Den zytopathischen Veränderungen an den Zellen ging der Eintritt der spezifischen Fluoreszenz in der Regel um 24 Stunden voraus. Die Diagnostik der Parvovirose der Hunde nahmen wir auf Zellkulturen der stabilen MDCK-Linie, nach Primoinokulation des zu untersuchenden Materials, vor. Von 160 Untersuchungen von Proben, die wir aus einer

Suspension aus Kot oder aus Därmen und lymphatischen Knoten der betroffenen Tiere vorbereitet hatten, konnten wir eine positive Reaktion in 27 der Proben verzeichnen. In sämtlichen positiven Fällen handelte es sich um Hunde, die gegen die Parvovirose bis zum Alter von sechs Monaten nicht vakziniert wurden. Die direkte Immunofluoreszenz erwies sich bei unseren Versuchen als eine sensible und spezifische, zur Visualisierung der Parvovirose der Hunde in Zellkulturen für experimentelle oder diagnostische Zwecke geeignete Methode.

Virusinfektionen; Zellkulturen; Diagnostik; Fluoreszenzreaktion

Adresy autorov:

MVDr. Ján Z a j a c, MVDr. Tomáš Ž u f f a, Bioveta, n. p. Nitra, 949 01 Nitra
MVDr. Ludmila Š e d i v á, Ústredný štátny veterinárny ústav, Nábřežie arm. gen.
L. Svobodu 21, 816 33 Bratislava

VLIV VÝCVIKOVÉ A PRACOVNÍ ZÁTĚŽE NA BÍLKOVINNÝ METABOLISMUS PSA

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

KONRÁD, J. — CUPÁK, M. — HRUŠOVSKÝ, J. — HUSÁK, S. — ŠMÍD, K. (Vysoká škola veterinární, Brno; Vojenský veterinární doškoľovací a výskumný ústav, Košice): *Vliv výcvikové a pracovní zátěže na bílkovinný metabolismus psa*. Veter. Med. (Praha), 33, 1988 (6) : 347-356.

Studovali jsme vliv dlouhodobého výcviku na hladiny celkové bílkoviny a jednotlivé frakce krevního séra u 30 psů samčího pohlaví dvou věkových kategorií. Vliv různého druhu pracovního zatížení na stejné hodnoty jsme studovali u 29 psů ve věku od dvou do deseti let. Výsledky prokázaly charakteristickou křivku dynamiky celkové bílkoviny s vrcholem deprese ve 40. dnu a s vrcholem elevace v 70. dnu výcviku. V bílkovinném spektru má významné postavení dynamika albuminů. Z globulinových frakcí je nápadná deprese alfa-globulinů na úkor beta-fракce, která vykazuje signifikantní vzestup v závěru výcviku. Hladina gama-globulinů odpovídá svou počáteční elevací na stresový náraz organizovaného výcviku, postupně se upravuje k normě. Rozdílná pracovní zátěž bez zvláštních odchylek v bílkovinném metabolismu je dokladem dlouhodobého úspěšného adaptačního a stabilizačního procesu i na výrazně odlišnou pracovní náplň. Celkově lze dynamiku celkové bílkoviny a bílkovinného spektra zařadit jako součást testů kritérií adaptačního procesu výcvikové zátěže služebního psa.

klinická biochemie; fyziologie výcviku; kynologie

Mezi základní odezvy v době výcvikové a pracovní činnosti, vysoce náročné na fyzickou i psychickou zátěž psa, patří také procesy biochemického charakteru, které ve svém komplexu značně ovlivňují vnitřní prostředí psa. Při hodnocení změn v krevním obraze zjišťujeme i širokou škálu funkčních, popřípadě orgánových změn, vyvolávaných výcvikem a pracovní zátěží. Výsledků těchto zjištění lze využívat v dalším odborném řízení využívání služebního psa tak, aby jeho organismus byl schopen vydat maximální výkon za současného optimálního udržení zdravotního stavu.

V předcházejících pracích (Konrád aj., 1984a, b) jsme podali výsledky našeho výzkumu týkajícího se vlivu dlouhodobého výcviku psů na krevní obraz. V tomto příspěvku i v příspěvcích dalších hodláme předložit výsledky z oblasti změn biochemické odezvy vnitřního prostředí služebního psa při výcviku a různých pracovních zatíženích.

Pokud se týká vlivu dlouhodobého výcviku a různých pracovních zátěží na bílkovinný metabolismus psa, nepodařilo se nám zjistit ani jednu podobnou práci. Naproti tomu v hippologickém výzkumu uvádí Sykes (1966), že se obsah sérových proteinů při narůstajícím stresu během tréninkové periody snižuje a převahu má deprese albuminů. Po-

Hodnota		Skupina psů			
		0		1	
		$\bar{x}$	s	$\bar{x}$	s
Bílkovinný metabolismus	albumin	45,13	5,56	48,44	6,93
	alfa globulin	17,21	4,59	13,85	3,21
	beta globulin	19,48	4,32	25,86	5,42
	gama globulin	17,53	5,17	11,75	2,82
	celková bílkovina	66,10	5,60	68,97	6,74

Pozn.: n — nebylo vyšetřováno

dobně Jeffcott (1974) zaznamenali zřetelný pokles alfa-globulinové frakce u starších koní, stejně jako pokles beta-globulinové frakce. Gamma-globulinová frakce je charakteristická tím, že u koní do jednoho roku věku vykazuje pokles hladiny a naopak u koní dvouletých a starších elevaci.

Podobně u lidí dochází při fyzické zátěži a adaptaci organismu k určitému zmnožení bílkovin, zvláště k elevaci albuminů (Seliger aj., 1966). Jedná se však o jejich zvýšenou koncentraci v plazmě ve vztahu k úbytku plazmatické tekutiny (Máček a Vávra, 1980).

MATERIÁL A METODY

Do sledování bylo zařazeno 30 psů samčího pohlaví ve věku 13 měsíců až 5 roků, rozdělených do dvou skupin: do dvou let (8 psů) a od dvou do pěti let (22 psů). Tyto dvě skupiny byly podrobeny dlouhodobému výcviku zaměřenému na hlídkovou a strážní službu.

Pro studium vlivu různého pracovního zatížení bylo vybráno 29 psů ve věku od dvou do deseti let s průměrnou věkovou hranicí 5,4 roku. Z této skupiny bylo 16 psů zařazeno jako psi hlídkoví (v tab. I skupina 1), devět jako psi prověřovací (skupina 2) a čtyři jako psi strážní (skupina 3). K těmto třem skupinám (1, 2, 3) s různým pracovním zatížením je pro porovnání zařazena kontrolní skupina 0 v počtu 30 psů. Jedná se o psy bez jakékoliv pracovní zátěže a trénovanosti. U psů strážních (skupina 3) byly vyšetřeny pouze hodnoty celkové bílkoviny, ostatní údaje bílkovinného spektra nebyly z technických důvodů zjišťovány.

Ze skupiny 29 psů byli vybráni tři psi vykonávající prověřovací službu (tab. II, skupina B₁) a čtyři hlídkoví psi (skupina C₁) pro dlouhodobé sledování po dobu sedmi měsíců.

CHARAKTERISTIKA VÝCVIKOVÉ ZÁTĚŽE

Charakteristiku výcvikové zátěže a podmínky odběru krve jsme popsali v dřívější práci (Konrád aj., 1988).

CHARAKTERISTIKA RŮZNÝCH DRUHŮ PRACOVNÍ ZÁTĚŽE

Hlídkoví psi: pracovní zatížení je hodnoceno jako středně těžká fyzická a psychická zátěž.

Prověřovací psi: pracovní zatížení je velmi náročné a je hodnoceno jako těžká až velmi těžká fyzická a psychická zátěž.

Skupina psů				Vzájemné porovnání — průkaznost					
2		3		1 : 2		1 : 3		2 : 3	
$\bar{x}$	s	$\bar{x}$	s	r	P	r	P	r	P
48,71	6,06	n		-0,27	-				
11,71	3,47	n		2,14	-				
30,25	5,10	n		-4,39	-				
8,91	1,04	n		2,84	+				
68,82	7,61	70,32	1,64	0,15	-	-1,35	-	-1,5	-

Strážní psi: práce bez psovoda, spočívající ve střežení uzavřeného prostoru, s dvouhodinovým kondičním výcvikem dvakrát týdně. Tato pracovní náplň je hodnocena jako lehká fyzická a psychická zátěž.

U strážních psů se jedná o dlouhodobé pracovní zatížení a předpokládá se plná adaptace na toto zatížení. Pro statické hodnocení byly krevní vzorky odebrány jednorázově, pro dlouhodobé sledování byly odebrány po dobu sedmi měsíců ve 14denních intervalech celkem devětkrát u skupiny psů C₁ a sedmkrát u psů skupiny B₁. Krevní vzorky byly odebrány po ranním krmení. Krmná dávka splňovala běžné podmínky krmení služebních psů, nebyla nijak doplňována ani upravována.

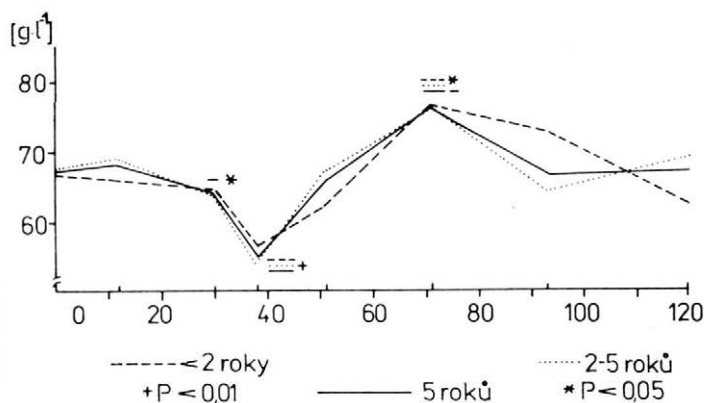
Hodnoty celkové bílkoviny byly zjišťovány refraktometricky, hodnoty bílkovinného spektra papírovou elektroforézou. Výsledky jsou zpracovány tabulkově a graficky u těch ukazatelů, u kterých se statistické vyhodnocení ukázalo jako průkazné ($P < 0,05$) nebo vysoce průkazné ($P < 0,01$). Při statistickém hodnocení jsou porovnávány jednak výsledky s výchozími hodnotami, jednak příslušné skupiny s odlišnou pracovní zátěží navzájem.

VÝSLEDKY

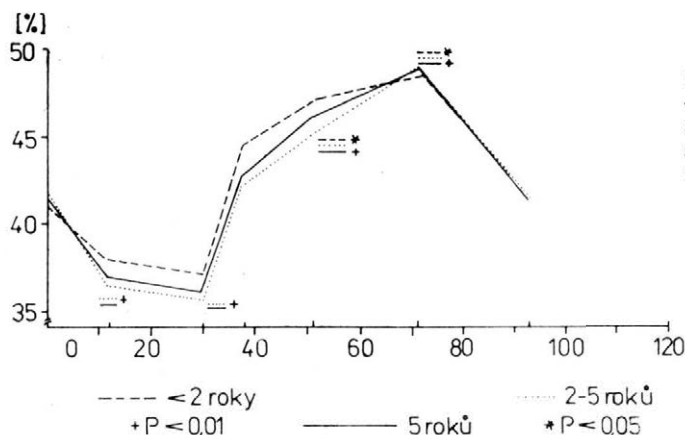
A. DLOUHODOBÝ VÝCVIK

Dosažené výsledky týkající se celkové bílkoviny krevního séra, albuminoglobulinového kvocientu a bílkovinného spektra i jejich dynamiky jsou shrnuty v obr. 1 až 6.

Celková bílkovina (CB) má dost charakteristickou křivku s vrcholem deprese ve 40. dnu s vysoce statisticky průkazným snížením



1. Dynamika hladiny celkové bílkoviny v průběhu dlouhodobého výcviku psa — The total protein curve during long-continued training of the dog

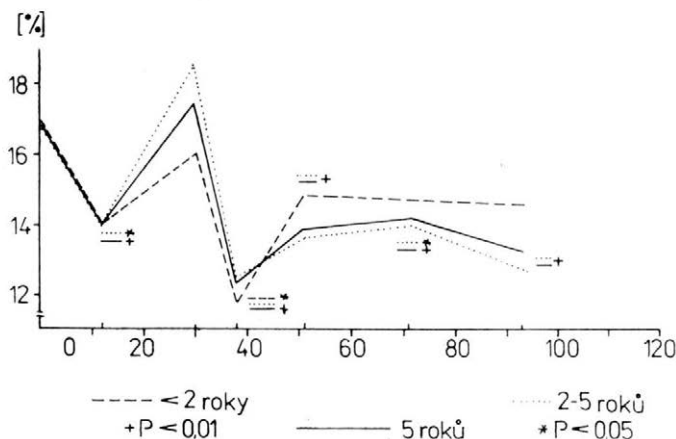


až na 54,30 g.l⁻¹ a naopak s vrcholem elevace v 70. dnu výcviku bez rozdílu věku psů (76,30 g.l⁻¹). Pak nastává opět určité snížení, rychlejší u skupiny psů ve věku od dvou do pěti let, aby v období maximální zátěže hladina CB téměř dosáhla výchozí hodnoty (obr. 1).

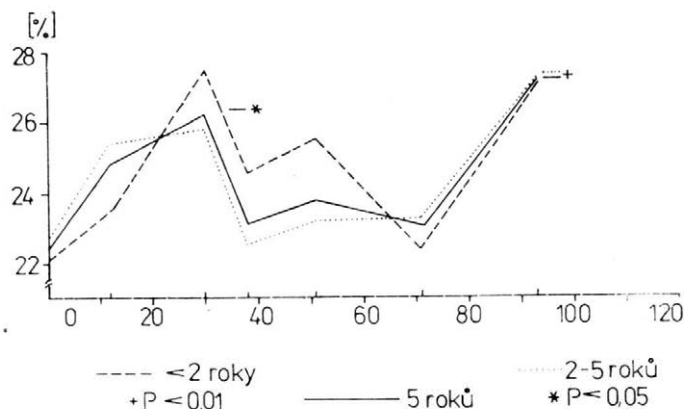
U albuminů zaznamenáváme od začátku výcviku prudké snižování s minimem u starších psů ve 30 dnech výcviku (35,59 rel. %). Další výcvik vyvolává postupné zvyšování hladiny albuminů, v 50 dnech již statisticky významné, s maximem v 70 dnech výcviku (až na 48,89 rel. %). Od tohoto období se pak hodnoty vrací až k výchozímu stavu v 93 dnech trvání výcviku (obr. 2).

Množství alfa-globulinů signifikantně klesá od začátku výcviku. U starších psů se po 30 dnech výcviku stav postupně vyrovnává, zatímco psi do dvou let již nedosahují výchozí hladiny. Od 30. dne výcviku dochází opět k prudkému poklesu, takže ve 38 dnech výcviku je u starších psů hladina alfa-globulinů až vysoce významně snížena. Od 40. dne výcviku se stav upravuje, nedosahuje však již výchozích hodnot a u psů starší kategorie je toto snížení stále statisticky vysoce významné (obr. 3).

U beta-globulinů zjišťujeme jiný průběh než u alfa-globulinů. Jejich vzestup nastává již od začátku výcviku až ke statistické průkaznosti ve 30 dnech. Pak klesají až k výchozím hodnotám, u starších psů dříve, u mladších psů až v 70. dnu výcviku. Od této doby se hladiny



4. Bílkovinné spektrum — dynamika beta-globulinové frakce — The protein spectrum — dynamics of the beta-globulin fraction



opět zvyšují a v 93 dnech znovu dosahují vysoké statistické významnosti (obr. 4).

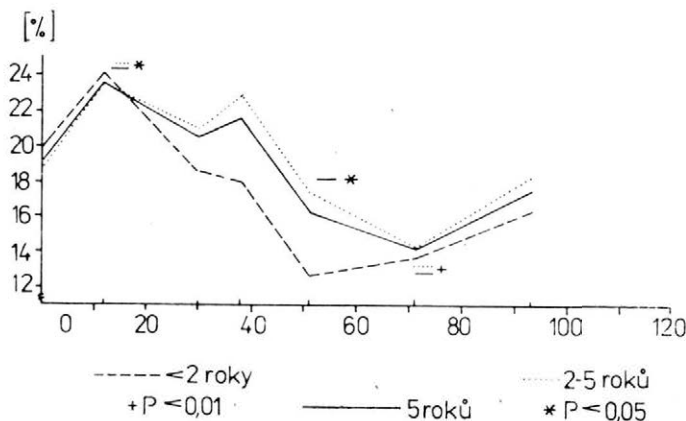
Gama-globuliny odpovídají svou počáteční elevací na stresový náraz organizovaného výcviku, podobně jako beta-frakce. Pak nastává pomalý návrat k výchozím hodnotám, u mladších psů rychleji (30. den), s dalším poklesem, který v 52 dnech výcviku dosahuje signifikantního rozdílu od výchozí hodnoty. Starší psi tohoto poklesu dosahují až v 70 dnech výcviku. Od této doby se hodnoty mírně zvyšují, výchozího stavu však nedosahují ani v 93. dnu výcviku (obr. 5).

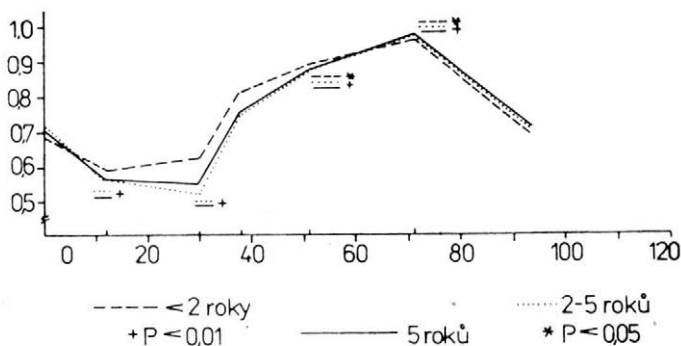
Albumino-globulinový kvocient je samozřejmě závislý na poměru albuminy/globuliny. Již ve 14 a 30 dnech výcviku se výsoco statisticky významně snižuje u psů starších a nesignifikantně klesá i u psů mladší kategorie. Od 30. dne výcviku lze zjišťovat postupné zvyšování jeho hodnot. V 52. dnu jsou již hodnoty u obou věkových kategorií průkazné, s tendencí zvyšovat se až do 70. dne výcviku. Pak se A/G kvocient postupně vrací a v 93 dnech je téměř na výchozí úrovni (obr. 6).

B. PRACOVNÍ ZÁTĚŽ

Účelem tohoto dílčího sledování bylo porovnat tři základní obtížnosti pracovního využití psů, kteří jsou na příslušnou pracovní náplň i na fyzické a psychické zatížení plně adaptováni.

5. Bílkovinné spektrum — dynamika gama-globulinové frakce — The protein spectrum — dynamics of the gamma-globulin fraction





6. Hodnoty albumino-globulinového kvocientu v průběhu dlouhodobého výcviku psa — The values of the albumin-globulin quotient in the course of long-continued training of a dog

Statistické hodnocení

Statistické vyhodnocení se týká vzájemného posouzení sledovaných hodnot bílkovinného metabolismu mezi psy skupiny 1 a skupiny 2 u všech hodnot, mezi psy skupiny 1 a skupiny 3 a mezi psy skupiny 2 a skupiny 3 u CB. Skupina 0 (bez pracovní zátěže a trénovanosti) je uváděna jako kontrolní.

Statické hodnocení

Výsledky v této části práce se týkají hodnot zjištěných u uvedených tří skupin psů s různou fyzickou a psychickou zátěží a posouzených jednorázově, nikoliv v dynamickém procesu.

Tab. I zachycuje hodnoty celkové bílkoviny všech čtyř skupin a bílkovinného spektra skupiny 0, 1 a 2. Je z ní patrné, že pouze hladina gama-globulinů v porovnávací skupině č. 1 a 2 vykazuje statisticky vysoce signifikantní rozdíl ve prospěch první skupiny, s rozdílem 2,84 rel. %. V ostatních hodnotách bílkovinných frakcí (alfa a beta) i u albuminů a v celkové bílkovině nejsou rozdíly signifikantní, i když určité rozdíly mezi skupinou 3 a ostatními dvěma skupinami zde jsou, a zvláště v porovnání se skupinou 0, pokud se týká celkové bílkoviny ($4,2 \text{ g} \cdot \text{l}^{-1}$).

Dlouhodobé sledování

Ve třetí skupině výsledků jsou zpracovány vlivy dlouhodobého pracovního zatížení odlišného charakteru dvou skupin psů. Jedná se o skupinu čtyř psů hlídkových (C₁), jejichž výcvik měl charakter středně těžké fyzické zátěže, a tří psů prověřovacích (B₁), jejichž výcvik měl charakter těžké až velmi těžké fyzické a psychické zátěže.

Sledování trvalo sedm měsíců, během nichž byly sedmkrát (B₁) až devětkrát (C₁) odebrány krevní vzorky. Účelem dlouhodobého sledování bylo prokázat, do jaké míry se může odlišná pracovní zátěž odrazit na bílkovinném obrazu vnitřního prostředí psa, který byl na takovou fyzickou a psychickou zátěž dlouhodobě adaptovaný.

Výsledky zpracované v tab. II prokazují, že hodnota celkové bílkoviny je u obou skupin psů téměř bez odchylek. Pouze u skupiny C₁ se při sedmém až osmém odběru hodnoty statisticky průkazně (*) až vysoce průkazně (+) zvýšily. Ani v bílkovinném spektru se neprojevyly signifikantní odchylky od počátečního odběru po celé sledované období, kromě hladiny gama-globulinů při šestém odběru u skupiny B₁.

II. Rozdílná pracovní zátěž (dlouhodobé sledování) — Different working exercise (long-term investigation)

Hodnota		Odběr	Skupina psů					
			B ₁			C ₁		
			$\bar{x}$	<i>s</i>	<i>P</i>	$\bar{x}$	<i>s</i>	<i>P</i>
Bílkovinný metabolismus	celková bílkovina	1	66,36	4,04		70,50	6,69	
		2	61,33	5,00	—	70,83	4,93	—
		3	70,80	8,31	—	77,50	3,16	—
		4	72,83	4,35	—	68,47	9,58	—
		5	69,43	7,03	—	70,76	9,78	—
		6	67,63	2,10	—	76,80	4,04	—
		7	84,65	8,69	—	87,32	9,51	×
		8				91,86	3,07	+
		9				72,76	3,29	—
	albuminy	1	46,93	8,66		45,70	6,46	
		2	51,76	8,66	—	51,70	2,60	—
		3	44,93	3,49	—	67,76	1,36	—
		4	47,60	3,30	—	48,97	6,40	—
		5	47,50	3,47	—	49,50	4,75	—
		6	45,60	5,50	—	49,45	3,46	—
		7	50,20	0,56	—	45,92	6,00	—
		8				49,23	2,57	—
		9						
	alfa globuliny	1	13,33	5,40		16,52	5,98	
		2	13,43	3,06	—	14,00	1,83	—
		3	13,86	4,64	—	9,93	1,69	—
		4	13,00	4,55	—	11,52	1,53	—
		5	15,96	3,65	—	16,36	2,57	—
		6	10,82	2,60	—	11,47	0,61	—
		7	8,40	2,82	—	14,40	1,84	—
		8				15,90	4,70	—
		9						
	beta globuliny	1	31,43	7,59		24,77	3,30	
		2	26,56	8,11	—	20,40	2,30	—
		3	26,60	2,70	—	29,96	3,66	—
		4	25,10	1,15	—	26,22	2,86	—
		5	22,30	4,08	—	25,06	3,95	—
		6	26,70	2,20	—	24,27	6,96	—
		7	29,70	0,42	—	25,05	4,33	—
		8				23,00	1,17	—
		9						
	gama globuliny	1	7,86	1,07		12,57	4,46	
		2	7,83	6,54	—	13,50	1,75	—
		3	12,83	2,95	—	12,46	1,79	—
		4	13,90	7,46	—	12,90	3,23	—
		5	12,46	5,17	—	10,33	0,35	—
		6	16,13	2,58	+	13,15	1,73	—
		7	11,30	2,97	—	14,22	2,49	—
		8				11,46	2,59	—
		9						

× statisticky průkazné

+ statisticky vysoce průkazné

Práce se zabývala vlivem dlouhodobého výcviku psa pro potřeby strážní a hlídkové služby na hladiny celkové bílkoviny a na jednotlivé frakce bílkovinného spektra u 30 psů samčího pohlaví po dobu 120 dnů výcviku a vlivem různých pracovních zatížení u 29 psů na takovou pracovní zátěž již dlouhodobě adaptovaných.

Poněvadž jsme se nesetkali s podobnou prací v kynologickém výzkumu, je možné naše výsledky konfrontovat do určité míry pouze s obdobnou problematikou u lidí v rámci tělovýchovného lékařství a s poznatky na úseku hippologického výzkumu.

Podobně jako jsme prokázali mnoho zásahů do krevního obrazu vlivem dlouhodobého výcviku (K o n r á d aj., 1984), také změny v bílkovinném metabolismu jsou významné pro hodnocení vlivu této fyzické a psychické zátěže do vnitřního prostředí cvičeného psa.

Snížené hodnoty celkové bílkoviny v první třetině výcviku a zvláště pak deprese albuminů je zdůvodňována narůstajícím stresovým stavem v nastupujícím výcviku. Podobné poznatky uvedl u koní S y k e s (1966). Naopak postupný vzestup celkové bílkoviny i hodnot albuminů je dáván do souvislosti s adaptací organismu na výcvikovou zátěž. Tyto nálezy, jak je také uvedl u koní J e f f c o t t (1974), jsou obdobné s našimi nálezy u psů. Rovněž námi zaznamenaný pokles beta-globulinové frakce na začátku výcviku a jeho vyrovnání ke konci výcvikového období poukazuje na adaptační ustálení, stejně jako to u koní prokazuje J e f f c o t t (1974).

Postupnou elevaci albuminů od 30. dne výcviku, která hraje důležitou transportní úlohu pro řadu látek v krvi, uvádí u lidí, rovněž jako projev adaptace organismu, S e l i g e r (1966). M á č e k a V á v r a (1980) se domnívají, že změny proteinů v plazmě jsou především dány jejich koncentrací v plazmě, která stoupá s úbytkem plazmatické tekutiny. U psů zasluhují tyto otázky ještě dalšího výzkumu, zvláště pokud se týká odlišností v termoregulaci a potním systémem mezi člověkem a psem.

Zvýšené hodnoty beta-globulinové frakce jsou pro zátěž psa zřejmě specifické a jak uvedl J e f f c o t t (1974), jsou protichůdné s poznatkem u starších koní. Naše zkušenosti, získané v této práci při hodnocení různé zátěže pracovní i psychické u psů na takovou zátěž již navyklých, prokazují, že se zřejmě jedná o odezvu na probíhající výcvikový proces a o proces adaptační, protože u psů v trvalém pracovním zatížení podobnou dynamiku beta-globulinové frakce již nezaznamenáváme.

Při rozboru hodnot bílkovinného metabolismu za různé pracovní zátěže jsme nezjistili zobecnitelné rozdíly, a to ani pokud se týká dlouhodobého sledování (skupina B₁, C₁). Je to zřejmě dáno dlouhodobou adaptací psa na pravidelný zátěžový trénink, a to bez rozdílu značné diferencovanosti v náročnosti této pracovní i psychické zátěže. Na podobné zkušenosti poukazuje i hippologická praxe, protože u trénovaných koní jsou rovněž stabilnější hodnoty (A l e x a n d e r. 1974). Stejně poznatky jsou uváděny u trénovaných a netrénovaných lidí (S e l i g e r aj., 1966; M á č e k a V á v r a. 1980).

Dokladem toho jsou i naše výsledky hodnotící různou pracovní zátěž u skupiny psů, kteří dosud nebyli trénováni (skupina 0). U těchto psů se zjišťují podstatně nižší hodnoty celkové bílkoviny a albuminů, než u psů v dlouhodobé pracovní zátěži. Pokud se týká hodnocení zátěže

u koní a lidí v porovnání se zátěží u námi sledovaných psů, můžeme tuto míru srovnatelnosti posuzovat pouze z hlediska obdobného zatížení, bez kvalitativní i kvantitativní objektivizace.

Výsledky tedy dokladují, že dlouhodobá pravidelná zátěž vyvolává u organismu i dlouhodobou adaptaci a schopnost uspokojivě se vypořádat s fyzickými i psychickými nároky, které příslušná pracovní zátěž vyžaduje.

Celkově lze dynamiku bílkovinného metabolismu v průběhu výcvikové zátěže považovat za vhodné kritérium posuzování adaptačního procesu na výcvikovou zátěž a zařadit ji jako součást testu kritérií výcviku služebního psa.

Komplexní testace objektivního hodnocení výcvikové zátěže si vyžádá posouzení mnoha hematologických i biochemických ukazatelů, z nichž nejvhodnější by měly být zahrnuty v tzv. zkráceném testu pro praktické využití v kynologické praxi.

Literatura

- ALEXANDER, F.: Observations on plasma electrolytes and body fluids in ponies. Brit. veter. J., 130, 1974, s. 17-22.
JEFFCOTT, L. B.: Haematology in relation to performance and potential. J. S. Afr. veter. Assoc., 45, 1974, č. 4, s. 279-285.
KONRÁD, J. — CUPÁK, M. — HRUŠOVSKÝ, J. — HUSÁK, S.: Vliv dlouhodobé fyzické a psychické výcvikové zátěže na červený krevní obraz psa. Veter. Med. (Praha), 29, 1984a, č. 11, s. 659-668.
KONRÁD, J. — CUPÁK, M. — HRUŠOVSKÝ, J. — HUSÁK, S.: Dynamika bílého krevního obrazu v průběhu dlouhodobé výcvikové zátěže u psa. Veter. Med. (Praha), 29, 1984b, č. 12, s. 729-737.
KONRÁD, J. — CUPÁK, M. — HRUŠOVSKÝ, J. — HUSÁK, S. — ŠMÍD, K.: Enzymová aktivita pod vlivem výcvikové zátěže služebního psa. Veter. Med. (Praha), 33, 1988, č. 3, s. 185-191.
MÁČEK, M. — VÁVRA, J.: Fyziologie a patofyziologie tělesné zátěže. Praha, Avicenum 1980.
SELIGER, V.: Přehled fyziologie tělesných cvičení. Praha, SZdN 1966.
SELIGER, V. — VINAŘICKÝ, R. — TREFNÝ, Z.: Fyziologie tělesných cvičení. Praha, Avicenum 1980.
SYKES, P. E.: Biochemistry as an in equine track practice. Proc. Amer. Assoc. equine Pract., 12, 1966, s. 283-292.

Došlo dne 29. 4. 1987

КОНРАД, Я. — ЦУПАК, М. — ГРУШОВСКИ, Й. — ГУСАК, С. — ШМИД, К. (Ветеринарный институт, Брно; Военный научно-исследовательский и усовершенствованный институт, Кошице): Влияние дрессировочной и рабочей нагрузки на белковый метаболизм собак. Veter. Med. (Praha), 33, 1988 (6) : 347-356.

Изучалось влияние долговременной дрессировки на уровень общего белка и отдельные фракции сыворотки крови у 30 собак женского пола двух возрастных категорий. Влияние различного вида рабочей нагрузки на одинаковые значения мы исследовали у 29 собак в возрасте от двух до десяти лет. Результаты показали характерную кривую динамики общего белка с наибольшей депрессией на 40 день и наивысшей элевацией на 70 день дрессировки. В белковом спектре значительное положение занимает динамика альбуминов. Из глобулиновых фракций видна депрессия альфа-глобулинов за счет бета-фракции, у которой наблюдается значительное повышение перед концом дрессировки. Уровень гамма-глобулинов отвечает своей начальной элевацией стрессовому напору организованной дрессировки, постепенно приходит в норму. Разная рабочая нагрузка без значительных отклонений в белковом метаболизме является документом долговременного успешного процесса адаптации и стабилизации и вырачительно различную рабочую нагрузку. В общем динамiku общего белка и белкового спектра можно включить в качестве составной части тестов критерий процесса адаптации рабочей нагрузки служебной собаки.

клиническая биохимия; физиология дрессировки; кинология

KONRÁD, J. — CUPÁK, M. — HRUŠOVSKÝ, J. — HUSÁK, S. — ŠMÍD, K. (University of Veterinary Medicine, Brno; Military Veterinary Extension and Research Institute, Košice): *The Effect of Training and Working Exercise on the Protein Metabolism of Dogs*. Veter. Med. (Praha), 33, 1988 (6) 347-356.

The effect of long-continued training exercise was studied as exerted on the total protein content and on the fractions of the blood serum in 30 male dogs of two age categories. The effect of different kinds of working exercise on the same characteristics was studied in 29 dogs aged two to ten years. The results showed a characteristic curve for total protein changes with a peak depression on the 40th day and peak of elevation on the 70th day of training. The albumin pattern has a significant position in the protein spectrum. As for the globulin fractions, there is a marked depression of alpha-globulins, giving way to the beta-fraction, which exhibits a significant rise towards the end of training. The initial elevation of the gamma-globulin level is a response to the stress of the start of organized training and returns to the normal level step by step. No greater differences in the protein metabolism although the working exercise varies greatly demonstrate that the dog has successfully undergone a long-term process of stabilization and adaptation to great differences in the contents of work. The total protein pattern and the protein spectrum pattern can be generally included among the test criteria of the process of dogs' adaptation to training exercise.

clinical biochemistry; physiology of exercise; cynology

KONRÁD, J. — CUPÁK, M. — HRUŠOVSKÝ, J. — HUSÁK, S. — ŠMÍD, K. (Veterinärmedizinische Hochschule, Brno; Militärinstitut für veterinärmedizinische Fortbildung und Forschung, Košice): *Einfluß der Dressur- und Arbeitsbelastung auf den Eiweißstoffwechsel beim Hund*. Veter. Med. (Praha), 33, 1988 (6) : 347-356.

Wir studierten den Einfluß einer langfristigen Dressur auf die Niveaus des Gesamteiweißes sowie auf die einzelnen Fraktionen des Blutserums bei 30 Hunden männlichen Geschlechts zweier Alterskategorien. Den Einfluß verschiedener Arbeitsbelastung auf gleichartige Werte studierten wir an 29 Hunden im Alter von zwei bis zehn Jahren. Die Ergebnisse wiesen eine charakteristische Kurve der Dynamik des Gesamteiweißes auf u. zw. mit einem Höhepunkt der Depression am 40. Tag und dem der Elevation am 70. Tag der Dressur. Im Eiweißspektrum nimmt die Dynamik der Albumine eine bedeutsame Stellung ein. Unter den Globulinfraktionen ist eine Alpha-Globulin-Depression zum Nachteil der Beta-Fraktion, die einen signifikanten Anstieg gegen Ende der Abrichtungsperiode aufweist, auffallend. Der Gamma-Globulinspiegel reagiert durch seine Anfangselevation auf den Streßstoß der organisierten Dressur, allmählich normalisiert es sich dann zu Normwerten. Der Eiweißstoffwechsel ohne besondere, durch unterschiedliche Arbeitsbelastung verursachte Abweichungen ist ein Beweis für einen langfristigen erfolgreichen Adaptations- und Stabilisierungsprozeß selbst bei markant unterschiedlichem Arbeitscharakter. Pauschal kann die Dynamik des Gesamteiweißes und des Eiweißspektrums als ein Bestandteil der Tests von Kriterien des Adaptationsprozesses bei der Dressurbelastung von Diensthunden aufgenommen werden.

klinische Biochemie; Physiologie der Dressur; Kynologie

Adresy autorů:

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

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

J. Vyhnálek

VYHNÁLEK, J. (Ústav pro státní kontrolu veterinárních biopreparátů a léčiv, Brno): *Farmakokinetika oxytetracyklinu u savců a ptáků*. Veter. Med. (Praha), 33, 1988 (6) : 357-364.

Ve srovnávacím pokusu uskutečněném na králících a kuru domácím byla zjištěna rychlejší resorpce oxytetracyklinu (OTC) z místa vpichu u kura domácího, o čemž svědčí statisticky významně vyšší hladiny OTC v krevním séru v počátečních intervalech (0,25 a 1,5 h). V ostatních intervalech, tj. po celou dobu eliminační fáze, byly rozdíly statisticky nevýznamné. Rovněž doba přetrvávání OTC v krevním séru byla u obou druhů obdobná. Tomu odpovídá i vyšší hodnota plochy pod křivkou u kura domácího, svědčící o možné lepší biologické využitelnosti OTC. Oxytetracyklin byl v obou případech aplikován i. m. v dávce $20 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ ž. h. ve formě přípravku Oxymykoin inj. ad usum vet. a k jeho stanovení v krevním séru bylo použito difúzní plotnové metody o citlivosti $0,05 \text{ } \mu\text{g} \cdot \text{ml}^{-1}$.

králíci; kur domácí; koncentrace oxytetracyklinu v krevním séru; intramuskulární aplikace

Kinetika farmak je u zvířat ovlivňována mnoha faktory. Za nejvýznamnější lze považovat zvířecí druh, lékovou formu přípravku a způsob jeho aplikace. Jsou však i další vlivy působící na průběh farmakokinetických procesů, mezi něž lze počítat věk a zdravotní stav zvířat, specifitu látkové výměny každého individua i některé jiné. Znamená to tedy, že aplikace stejné dávky stejného přípravku stejným aplikačním způsobem i stejnému zvířecímu druhu může vyvolávat u jednotlivých zvířat rozdílné koncentrace účinné látky v organismu, a to v důsledku nejen jejich rozdílného věku a zdravotního stavu, ale i rozdílu v metabolismu u stejně starých i zcela zdravých zvířat. Nelze říci, že by běžná veterinární terapie se všemi těmito faktory počítala, a nedá se tedy ani vyloučit, že se vyskytují případy, u nichž nejsou dodrženy všechny předpoklady pro úspěšnou léčbu. To se týká především terapie antibiotiky.

Vlivem věku, zdravotního stavu i individuálního charakteru metabolismu na kinetiku oxytetracyklinu jsme se zabývali v některých našich dřívějších pracích (Vyhnálek, 1975, 1977; Vyhnálek a Skaloud, 1977; Vyhnálek a Tota, 1987). V současné práci nám šlo o porovnání farmakokinetiky oxytetracyklinu u savců a ptáků. V dostupné literatuře jsou srovnávací studie na toto téma zcela ojedinělé.

Problematickou v souvislosti se studiem dosologie léčiv během ontogenetického vývoje se nejkomplexněji zabývali Šimůnek aj. (1973). Na základě svých výsledků došli k závěru, že u prasat, skotu a myší se s přibývajícím věkem po shodné dávce sulfonamidu na kilogram živé hmotnosti krevní hladiny snižují, u kura domácího se naopak zvyšují. Zatímco např. u kuřat koncentrace sulfadimidinu v krvi nedosáhla po jeho s.c. aplikaci dávky $0,1 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ ž. h. ve 14 dnech věku ani 5 mg na 100 ml, u mláďat myší se tato hodnota pohybovala nad 9 mg na 100 ml a u telat a selat nad 12 mg na 100 ml. U dospělých jedinců byla nejnižší koncentrace zaznamenána u myší (kolem 7 mg na 100 ml), zatímco u kura domácího, skotu a prasat byly zjištěné hodnoty téměř stejné (kolem 10 mg na 100 ml).

Hladiny tetracyklinových antibiotik v organismu savců a ptáků po jejich perorální a intramuskulární aplikaci sledovali Astrachancev a Gorev (1962). Zjistili, že u kura domácího dosahovaly koncentrace maximálních hodnot poněkud dříve než u prasat, dříve však u něho také klesaly pod hodnotu minimální terapeutické hladiny. V distribuci antibiotik v organismu nezaznamenali podstatnější rozdíly. U mláďat a nemocných zvířat, a to jak u kura domácího, tak u prasat, se zrychlilo vstřebávání, zvýšily maximální koncentrace, ale také zrychlilo vylučování tetracyklinů z organismu.

Sledováním farmakokinetiky tetracyklinových antibiotik u savců a ptáků se zabývali i další autoři (Ševčík aj., 1968; Black, 1977; Trolldenier aj., 1982; Jousselein a Valentin — Smith, 1983; Atef aj., 1986 a další), ale ani v jednom případě nejde o srovnávací studie. Vzhledem ke značným materiálovým i metodickým rozdílům je takové srovnání výsledků dosažených u savců na straně jedné a u ptáků na straně druhé, aby se z něho mohly vyvodit určité závěry, téměř nemožné.

MATERIÁL A METODA

Do pokusu jsme zařadili sedm králíků, samců, plemene činčila velká ve věku osm až devět měsíců a o hmotnosti 3,5 až 4,3 kg a 45 kohoutků hysex bílý, věk čtyři měsíce, hmotnost 1,7 až 2,1 kg. Oběma skupinám zvířat jsme aplikovali oxytetracyklin (dále OTC) ve formě přípravku Oxymykoín inj. ad usum vet. v dávce $20 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ ž. h., a to intramuskulárně do levé pánevní končetiny.

Krev pro stanovení koncentrace OTC v krevním séru jsme odebírali v intervalech 0,25; 0,75; 1,5; 3,0; 5,0; 8,0; 24,0; 32,0; 48,0 a 72,0 (jen u králíků) hodiny po aplikaci. U králíků jsme krev odebírali z ušní žíly pomocí vodní vývěvy ve dvou fázích s týdenním odstupem mezi aplikacemi OTC a následnými odběry v prvních čtyřech intervalech v první fázi a v dalších šesti intervalech ve druhé fázi (aby se co nejméně narušil celkový stav). U kura domácího jsme v prvních šesti intervalech zabili šest kohoutků, ve zbývajících třech vždy tři kohoutky a krev jsme odebírali při vykrvení. Před zahájením pokusu jsme se přesvědčili, že krev pokusných zvířat neobsahuje žádné inhibiční látky.

Vlastní stanovení obsahu OTC jsme prováděli okamžitě po odběru a zpracování vzorků difúzní plotnovou metodou v důlkové modifikaci s testovacím mikroorganismem, jímž byl *Bacillus cereus* var. *mycoides* PCI 213. Vyšli jsme přitom z postupu, který uvádějí Grove a Randall (1955) a Kavanagh (1972). Citlivost metody byla $0,05 \text{ } \mu\text{g}$ OTC na ml.

Výsledky dosažené u králíků a kura domácího jsme podrobili statistickému vyhodnocení a na jejich podkladě jsme vypočetli i některé farmakokinetické parametry.

I. Koncentrace oxytetracyklinu v krevním séru králíků po intramuskulární aplikaci 20 mg.kg⁻¹ ž. h. (v μg.ml⁻¹) — Oxytetracycline concentrations in the blood serum of rabbits after intramuscular application of 20 mg per kg of live weight (in μg per ml)

Pořadové číslo	Čas v hodinách po aplikaci									
	0,25	0,75	1,5	3,0	5,0	8,0	24,0	32,0	48,0	72,0
1	2,04	4,14	4,14	5,64	5,28	2,88	0,75	0,47	0,22	0
2	2,04	3,32	4,86	8,10	4,80	4,05	1,86	1,20	0,36	0
3	1,74	4,32	4,68	6,30	4,20	3,15	1,20	0,81	0,42	stopy
4	2,28	3,42	5,13	5,40	5,10	3,60	0,99	0,59	0,35	0
5	2,28	4,05	4,50	8,10	4,80	4,50	0,81	0,51	0,23	0
6	1,62	3,96	5,13	5,64	5,40	3,45	0,75	0,69	0,30	0
7	1,20	4,05	4,14	5,28	4,14	2,34	0,72	0,59	0,23	0

VÝSLEDKY

Za 0,25 hodiny po aplikaci dosáhla průměrná koncentrace OTC v krevním séru králíků 1,89 μg.ml⁻¹, kura domácího 2,85 μg.ml⁻¹. Maximální hodnotu jsme zaznamenali u králíků po 3,0 hodinách (6,34 μg.ml⁻¹), u kura domácího po 1,5 hodiny (7,34 μg.ml⁻¹). Jak u králíků, tak i u kura domácího se OTC udržoval v krevním séru ještě po 48 hodinách (0,30, resp. 0,12 μg.ml⁻¹). Bližší údaje uvádějí tab. I a II, statistické vyhodnocení rozdílů krevních hladin u králíků a kura domácího tab. III. Grafické vyjádření průběhu krevních hladin OTC u králíků a kura domácího představuje obr. 1.

Uvedené rozdíly se odrazily i ve vypočtených farmakokinetických parametrech OTC. Zatímco u králíků činil např. poločas absorpce ($t_{1/2a}$) 0,803 h a poločas eliminace ($t_{1/2e}$) 5,775 h, u kura domácího dosáhly tyto parametry hodnot 0,475 h a 7,218 h. Tomu odpovídá i rozdíl ve ve-

II. Koncentrace oxytetracyklinu v krevním séru kura domácího po intramuskulární aplikaci 20 mg.kg⁻¹ ž. h. (v μg.ml⁻¹) — Oxytetracycline concentrations in the blood serum of the fowl after intramuscular application of 20 mg per kg of live weight (in μg per ml)

Pořadové číslo	Čas v hodinách po aplikaci								
	0,25	0,75	1,5	3,0	5,0	8,0	24,0	32,0	48,0
1	3,12	4,68	6,66	4,80	4,80	3,12	0,68	0,20	0
2	4,20	6,66	7,92	6,30	5,82	4,80	0,98	0,63	0,35
3	1,86	3,60	7,20	6,30	5,28	4,44	0,87	0,49	stopy
4	2,04	3,96	7,11	4,80	4,62	3,72	—	—	—
5	2,88	4,32	7,92	5,92	4,80	3,72	—	—	—
6	3,00	4,20	7,22	4,80	4,72	3,75	—	—	—

III. Průměrné koncentrace (v závorkách směrodatné odchylky) oxytetracyklinu v krevním séru kura domácího a králíků po intramuskulární aplikaci 20 mg.kg⁻¹ ž. h. (v μg.ml⁻¹). Statistická významnost zachycených rozdílů — Oxytetracycline concentrations (standard deviations are in the brackets) in the blood serum of the fowl and rabbits after intramuscular application of 20 mg per kg of live weight (in μg per ml). Statistical significance of the differences

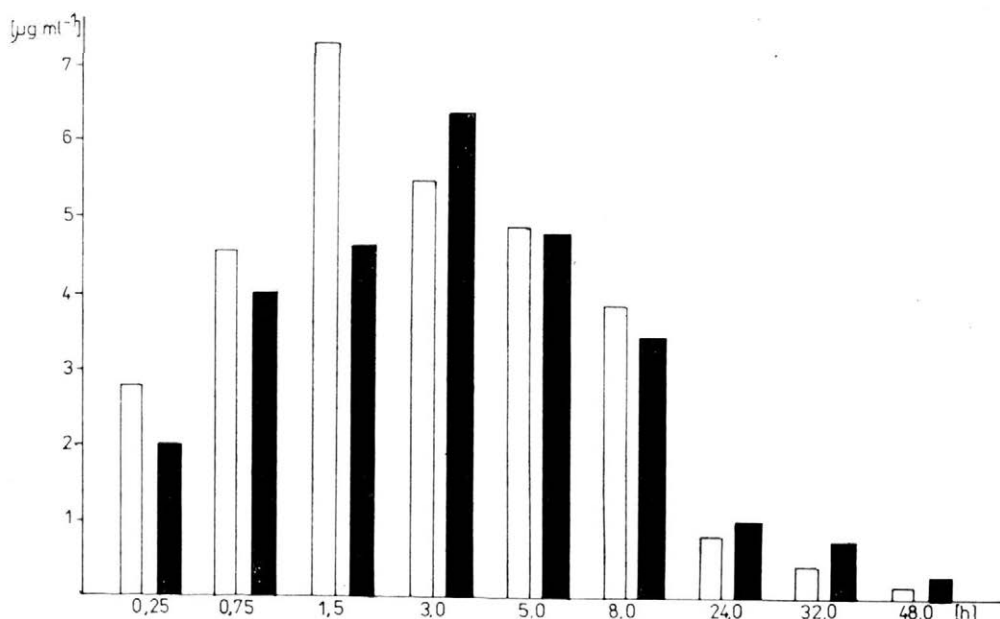
	Čas v hodinách po aplikaci									
	0,25	0,75	1,5	3,0	5,0	8,0	24,0	32,0	48,0	72,0
Kur domácí	2,85 (0,84)	4,57 (1,09)	7,34 (0,49)	5,49 (0,76)	5,01 (0,46)	3,93 (0,60)	0,84 (0,15)	0,44 (0,22)	0,12 —	— —
Králíci	1,89 (0,39)	4,04 (0,30)	4,65 (0,42)	6,34 (1,24)	4,80 (0,50)	3,42 (0,72)	1,01 (0,41)	0,69 (0,25)	0,30 (0,08)	0 0
Statistická významnost	<0,05	>0,05	<0,01	>0,05	>0,05	>0,05	>0,05	>0,05		

IV. Farmakokinetické parametry oxytetracyklinu u kura domácího a králíků po intramuskulární aplikaci 20 mg.kg⁻¹ ž. h. — Pharmacokinetic parameters of oxytetracycline in the fowl and rabbits after intramuscular application of 20 mg per kg live weight

	A μg.ml ⁻¹	k_a h ⁻¹	$t_{1/2a}$ h	k_e h ⁻¹	$t_{1/2e}$ h	t_{max} h	C_{max} μg.ml ⁻¹	AUC μg.h ⁻¹ .ml ⁻¹
Kur domácí	8,339	1,456	0,475	—0,096	7,218	1,998	6,429	81,144
Králíci	8,908	0,863	0,803	—0,120	5,776	2,653	5,576	63,917

A — extrapol. hodnota na ose x
 AUC — plocha pod křivkou
 t_{max} — čas dosažení max. koncentrace
 C_{max} — hodnota max. koncentrace

k_a — konstanta absorpce
 $t_{1/2a}$ — poločas absorpce
 k_e — konstanta eliminace
 $t_{1/2e}$ — poločas eliminace



1. Průměrná koncentrace oxytetracyklinu v krevním séru kura domácího a králíků po intramuskulární aplikaci $20 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ ž. h. (v $\mu\text{g} \cdot \text{ml}^{-1}$) — Oxytetracycline average concentrations in the blood serum of the fowl and rabbits after intramuscular application of 20 mg per kg of live weight (in μg per ml)

□ kur domácí

■ králíci

likosti plochy pod křivkou (AUC), která byla u králíků $63,917 \mu\text{g} \cdot \text{h}^{-1} \cdot \text{ml}^{-1}$ a u kura domácího $81,144 \mu\text{g} \cdot \text{h}^{-1} \cdot \text{ml}^{-1}$. Všechny vypočtené kinetické parametry OTC u králíků a kura domácího jsou uvedeny v tab. IV.

DISKUSE A ZÁVĚR

Vzhledem k tomu, že každá zaznamenaná hodnota u pokusných kohoutků je — na rozdíl od pokusných králíků — hodnotou od jiného jedince, nelze hodnotit průběh krevních hladin u jednotlivých zvířat. Z této důvodu nelze ani vypočítat farmakokinetické parametry pro jednotlivé členy celého souboru, a tedy statisticky vyhodnotit případné rozdíly s jiným souborem (v daném případě s pokusnými králíky).

Lze však posoudit jednotlivé hodnoty a jejich průměry stanovené v jednotlivých intervalech po aplikaci. Z nich je zřejmé, že u kura domácího docházelo v porovnání s králíky k rychlejší resorpci OTC z místa vpichu do krve, o čemž svědčí zachycené výšky nástupních hladin. Poměrně rychle dostoupily krevní hladiny i svého maxima, které jsme ve všech případech zachytili již po 1,5 hodině, zatímco u králíků až po 3 hodinách. Při statistickém hodnocení rozdílu průměrných koncentrací OTC v jednotlivých intervalech dosažených u králíků a kura domácího (vzhledem k našim dřívějším poznatkům — Vyhnálek, 1977 — byla zvířata hodnocena jako dospělá) bylo míry statistické významnosti dosaženo právě jen v těchto intervalech (0,25 a 1,5 h). Ve

všech ostatních případech, tj. v průběhu celé eliminační fáze, byly rozdíly statisticky nevýznamné. Je tedy možné konstatovat, že u kura domácího docházelo v porovnání s dospělými králíky k rychlejšímu vstřebávání OTC do krve, o čemž také svědčí téměř o polovinu kratší poločas absorpce. Naopak v eliminační fázi měly krevní hladiny OTC obdobný průběh jako u králíků dospělých. Tomu odpovídá i vyšší hodnota plochy pod křivkou u kura domácího, svědčící o možné lepší biologické využitelnosti OTC, i když míru významnosti uvedeného rozdílu nelze vzhledem k uvedeným skutečnostem statisticky vyhodnotit.

Přestože s parenterální aplikací OTC u kura domácího není možné v běžné terénní praxi v širším měřítku počítat, výsledky pokusu dokazují, že z hlediska průběhu krevních hladin, a tím možnosti ovlivnit chorobný proces, je i u tohoto druhu zvířat vhodná.

S ohledem na výsledky našich dřívějších prací, v nichž jsme zjistili obdobné ovlivnění koncentrací OTC v krvi, resp. v orgánech a tkáních, zdravotním stavem (Vyhnálek, 1975; Vyhnálek a Škaloud, 1977) a věkem zvířat (Vyhnálek, 1977; Vyhnálek a Tota, 1987), lze konstatovat, že ve farmakokinetice OTC po jeho intramuskulární aplikaci není mezi savci a ptáky zásadní rozdíl. U kura domácího jsme zaznamenali pouze kratší poločas absorpce.

Srovnávacích studií farmakokinetiky OTC u savců a ptáků je v literatuře velmi málo. O jejím shodném ovlivnění věkem a zdravotním stavem u obou druhů se zmiňují např. Astrachancev a Gorev (1962), i když v jejich pokusech u nemocných zvířat docházelo k rychlejší eliminaci OTC. Naopak o rozdílném vlivu věku na farmakokinetiku (v tomto případě však sulfonamidů) u savců a ptáků referují např. Šimůnek aj. (1973).

I přes tyto skutečnosti se však domníváme, že — alespoň pokud jde o OTC — naše vlastní výsledky plně opodstatňují závěr konstatující téměř shodnou, resp. velmi podobnou farmakokinetiku u savců a ptáků.

Literatura

- ASTRACHANCEV, V. I. — GOREV, E. L.: Tetracyklinovyje antibiotiki v organizme životnyh i ptic. Veterinarija, 39, 1962, č. 5, s. 73-76.
- ATEF, M. — EL-GENDI, A. Y. J. — YOUSSEF, S. A. H. — AMER, A. M. M.: Kinetic disposition, systemic bioavailability and tissue distribution of oxytetracycline in chickens. Arch. Geflügelkde, 50, 1986, č. 4, s. 144-148.
- BLACK, W. D.: A study of the pharmacodynamics of oxytetracycline in the chicken. Poult. Sci., 56, 1977, s. 1430-1434.
- GROVE, D. C. — RANDALL, W. A.: Assay methods of antibiotics — a laboratory manual. New York, Medical Encyclopedia 1955. 238 s.
- JOUSSELIN, W. — VALENTIN-SMITH, A.: Terramycine longue action, son emploi dans les pneumopathies bovines, ovines et porcines et la prévention de la chlamydiae ovine. Bull. Soc. vétér. Prat France, 67, 1983, s. 459-480.
- KAVANAGH, F.: Analytical microbiology. Vol. II. New York, London, AP 1972. 631 s.
- ŠIMŮNEK, J. — HEGEROVÁ, E. — NEUMANN, J.: Problematika dosologie léčiv v souvislosti s ontogenetickými změnami u zvířat. Veterinaria Spofa, 15, 1973, s. 261-277.
- ŠEVČÍK, B. — HERMANSKÝ, M. — PLÍŠEK, K.: Oxymykoin Spofa p. u. v. [Závěrečná zpráva.] Jílové u Prahy, VÚAB a VVS Spofa 1968. 179 s.

TROLLDENIER, H. — AMM, H. — ESCHER, A. — BACHE, K. — LUSKY, K.: Zum Verlauf des Oxytetracyclin-Blutspiegel nach Injektion von Ursocyclin pro inj. beim Schwein. Arch. exp. Veter.-Med., 36, 1982, s. 829-843.

VYHLÁLEK, J.: Hladiny oxytetracyklinu v organismu zdravých a nemocných kuřat. Veterinaria Spofa, 12, 1975, č. 3, s. 183-192.

VYHNÁLEK, J.: Závislost hladin oxytetracyklinu v organismu na stáří u kura domácího. Veterinaria Spofa, 19, 1977, č. 5, s. 47-59.

VYHNÁLEK, J. — ŠKALOUD, J.: Vliv zdravotního stavu na hladiny oxytetracyklinu v organismu krys. Veterinaria Spofa, 19, 1977, č. 5, s. 23-25.

VYHNÁLEK, J. — TOTA, J.: Ovlivnění některých farmakokinetických parametrů oxytetracyklinu věkem zvířat. Biol. Chem. Veter., 1987 (v tisku).

Došlo dne 7. 8. 1987

ВЫГНАЛЕК, Й. (Институт госконтроля ветеринарных биопрепаратов и лекарств, Брно): *Фармакокинетика окситетрациклина у млекопитающих и пернатых*. Veter. Med. (Praha), 33, 1988 (6) : 357-364.

В ходе сравнительного опыта на кроликах и дом. птице определили ускоренную резорбцию окситетрациклина (ОТС) из места укола у дом. птицы, о чем свидетельствуют статистически завышенные уровни ОТС в кров. сыворотке в начальные интервалы (0,25 и 1,5 ч). В остальных интервалах, т. е. в ходе всей фазы элиминирования, различия незначимы. Подобна и продолжительность ОТС в сыворотке у обоих видов, чему отвечает и повышенная величина площади под кривой у птицы, которая показывает большее использование ОТС. Его вводили в обоих случаях внутримышечно в дозе 20 мг · кг⁻¹ ж. в. в форме Оксимикина инь., а для его определения в кров. сыворотке пользовались диффузными плиточными методами чувствительностью 0,05 µг · мл⁻¹.

кролики; домашняя птица; концентрация окситетрациклина в сыворотке крови; внутримышечное введение

VYHNÁLEK, J. (Institute for the State Control of Veterinary Biopreparations and Drugs, Brno): *Pharmacokinetics of Oxytetracycline in Mammals and Birds*. Veter. Med. (Praha), 33, 1988 (6) : 357-364.

In a comparative trial performed with rabbits and fowl, the more rapid resorption of oxytetracycline (OTC) at the spot of puncture was ascertained in the fowl; this was proved by statistically significantly higher OTC concentrations in the blood serum in the initial intervals (0.25 and 1.5 h). In the other intervals, i. e. during the whole elimination phase, the differences were statistically insignificant. The duration of OTC persistence in the blood serum was also similar in the two species. This is indicated by the higher value of the area below the curve in the fowl, documenting a possibility of the better biological conversion of OTC. Oxytetracycline was applied in both cases *i. m.* at a rate of 20 mg per kg live weight in form of Oxymykoin inj. ad usum vet.; OTC was determined in the blood serum by means of diffusion plate method with the sensitivity of 0.05 µg per ml.

rabbits; fowl; oxytetracycline concentration in blood serum; intramuscular application

VYHNÁLEK, J. (Institut für staatliche Kontrolle von Veterinärbiopreparaten und -medikamenten, Brno): *Pharmakokinetik von Oxytetracyclin bei Säugetieren und Vögeln*. Veter. Med. (Praha), 33, 1988 (6) : 357-364.

Bei einem Vergleichsversuch, der mit Kaninchen und Haushühnern vorgenommen wurde, wurde festgestellt, daß eine raschere Resorption des Oxytetracyklins (OTC) von der Einstichstelle beim Haushuhn erfolgt, wovon statistisch signifikant höhere OTC-Spiegel im Blutserum in den Anfangsintervallen (0,25 und 1,5 Std.) zeugen. In den übrigen Intervallen, d. h. während der ganzen Eliminationsphase, waren

die Unterschiede statistisch unsignifikant. Auch die Persistenz des OTC im Blutserum war bei beiden Tierarten ähnlich. Dem entspricht auch der höhere Wert der Fläche unterhalb der Kurve beim Haushuhn, der von einer eventuell besseren biologischen Ausnutzbarkeit des OTC zeugt. Das Oxytetracyclin wurde in beiden Fällen *i. m.* in einer Dosis von $20 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ Lebendmasse u. zw. in Form des Präparats Oxymykoin inj. ad usum vet. appliziert und zu seiner Bestimmung im Blutserum wurde die Diffusionsplattenmethode mit einer Sensibilität von $0,05 \text{ } \mu\text{g} \cdot \text{ml}^{-1}$ angewandt.

Kaninchen; Haushuhn; Oxytetracyclinkonzentration im Blutserum; intramuskuläre Applikation

Adresa autora:

MVDr. Jiří Vyhnálek, Ústav pro státní kontrolu veterinárních biopreparátů a léčiv, Hudcova 56A, 621 00 Brno

EXPERIMENTÁLNÍ INVAZE LABORATORNÍCH ZVÍŘAT KOKCIDIEMI Z RODU *CRYPTOSPORIDIUM*

D. Lukešová, H. Trojáková, L. Celerová

LUKEŠOVÁ, D. — TROJÁKOVÁ, H. — CELEROVÁ, L. (Vysoká škola veterinární, Brno): *Experimentální invaze laboratorních zvířat kokcidiemi z rodu Cryptosporidium*. Veter. Med. (Praha), 33, 1988 (6) : 365-374.

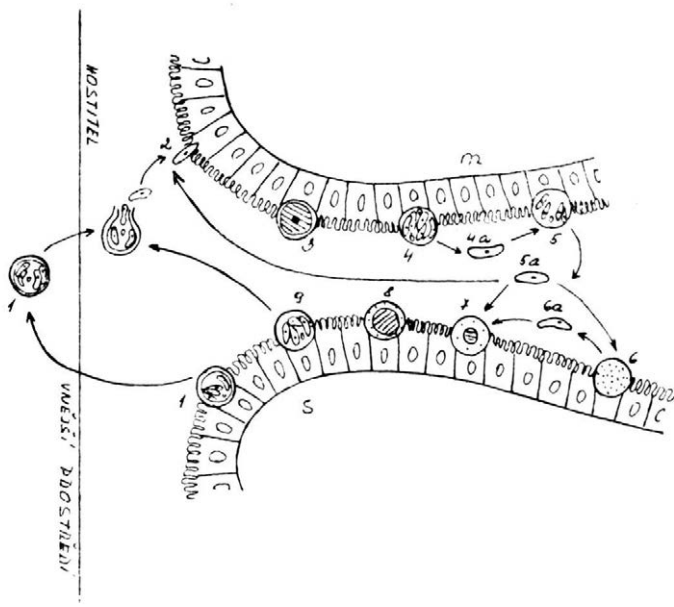
Studovali jsme endogenní vývojový cyklus monoxenních kokciidií rodu *Cryptosporidium* na modelu laboratorních zvířat. Po perorální inokulaci myši bílých oocystami jsme diagnostikovali vývojová stadia kokciidií, která vyvolala intestinální kryptosporidiozu. Soustředili jsme pozornost na morfologickou stavbu endogenních vývojových stadií a klinický průběh onemocnění. Rozšířili jsme poznatky získané při dřívějším studiu možnosti laboratorní diagnostiky kryptosporidionní invaze u telat o průkaz původců pomocí sérologické vyšetřovací metody — nepřímé imunofluorescenční reakce (NFR). První vývojová stadia jsme zjišťovali již 12 hodin p. i., masivní invaze nastala čtvrtý den p. i. a trvala až do devátého dne po invazi. Jednotlivá vývojová stadia jsme pozorovali interferenční mikroskopií podle Nomarského. Pomocí přímých vyšetřovacích metod jsme získali výborné zkušenosti s barvicími metodami, např. podle Giemsy, Heineho a modifikací Z-Neelsenovy metody. Pozorovanou epifluorescenci kryptosporidionních oocyst jsme při experimentální invazi prokázali ještě v titru 1056, většinou však v rozmezí titru 264 až 528.

telata; kryptosporidie; parazitologická diagnostika; vývojový cyklus; sérologická diagnostika (NFR)

Prvoci z rodu *Cryptosporidium* jsou dva až šest mikrometrů velcí protozoální parazité, které řadíme do podřádu *Eimeriorina* a kmene *Apicomplexa* (Levine, 1984).

Tyto kokcidie poprvé popsal Tyzzer v roce 1907 a ve své práci hovořil o druhu *Cryptosporidium muris*, nalezeném v žaludečních žlázách laboratorních myši (Tyzzer, 1907). Dalších 75 let bylo onemocnění kryptosporidionou považováno za vzácně se vyskytující u zvířat i u člověka a patogenita kryptosporidií u hostitele nebyla blíže zkoumána. Podle Bocha aj. (1982) lze u zvířat tyto protozoární původce nalézt v zažívacím traktu, žlučových a pankreatických cestách, u drůbeže v respiračním traktu a v bursě Fabricii.

Invazní sporozoiti, kteří při sporulaci vznikají v oocystě kryptosporidie, jsou ve vnějším prostředí značně odolní a přežívají až pět měsíců. Spolehlivě je ničí teplota nad 50 °C (15 min) a nízká teplota -18 °C (24 h). Po napadení hostitele probíhá vývoj kryptosporidií v parazitoforní vakuole epiteliálních buněk střeva, v kartáčovém lemu mikrokliků, a to u řady savců včetně člověka, u ptáků a plazů. Prvoci jsou považováni za intracelulární parazity (s obdobným vývojovým cyklem u kokci-

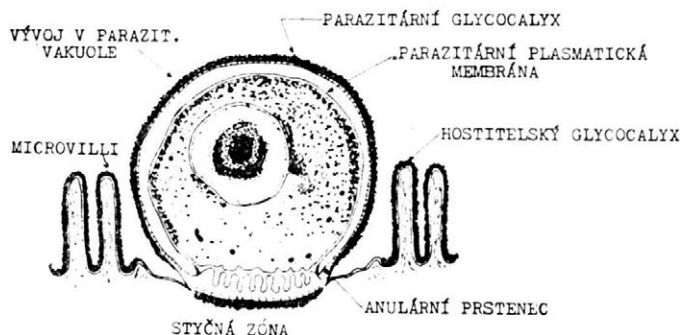


1. Schematické znázornění vývojového cyklu kryptosporidií (1 — vysporulované oocysty /silnostěnné/, 2 — sporozoity /nebo merozoity/, 3 — trophozoity, 4 — meront /schizont/ I. řádu, 4a — merozoity, 5 — meront II. řádu, 6 — mikrogametocyt, 6a — mikrogamety, 7 — makrogametocyt obsahující makrogamety, 8 — zygota, 9 — vysporulovaná oocysta tenkostěnná, e — excystace, m — merogonie, s — sporogonie) — Scheme of the developmental cycle of cryptosporidia (1 — sporulated oocysts [thick-walled], 2 — sporozoites or merozoites, 3 — trophozoites, 4 — meront /schizont/ of order I, 4a — merozoites, 5 — meront of order II, 6 — microgametocyte, 6a — microgametes, 7 — macrogametocyte containing macrogametes, 8 — zygote, 9 — thin-walled sporulated oocyst, e — excystation, m — merogony, s — sporogony)

3 — trophozoites, 4 — meront /schizont/ of order I, 4a — merozoites, 5 — meront of order II, 6 — microgametocyte, 6a — microgametes, 7 — macrogametocyte containing macrogametes, 8 — zygote, 9 — thin-walled sporulated oocyst, e — excystation, m — merogony, s — sporogony)

dií, např. rodu *Eimeria*], ale vyznačují se extraplazmatickou lokalizací na mikroklič střeva (obr. 1, 2).

V uplynulých třech letech bylo třeba pozměnit dřívější názor na kryptosporidiózu. Bylo zjištěno, že se jedná nikoliv o sporadické onemocnění zvířat, především skotu, ale i člověka (Angus, 1983). Kryptosporidióza je častou příčinou neonatálních střevních onemocnění — diarrhoe — způsobujících atrofii mikroklič, snížení enzymatické aktivity mukózy střev, dilataci střevních krypt, záněty buněk v *lamina propria* a profúzní průjmy, především u mláďat. Nálezy kryptosporidií jsou často uváděny ve spojitosti s ostatními patogeny bakteriálního (*E. coli*) a virového (rotaviry, koronaviry) původu (Tzipori aj., 1980; Current aj., 1984). Z našich autorů se problematikou rozšíření kryptosporidiózy zabývají Pavlásek aj. (1981), Fischer (1982), Soph aj. (1984) a Lukešová aj. (1984), Štěrba a Šulcová (1988).



2. Schematický náčrt zobrazující vztah mezi parazitem z rodu *Cryptosporidium* a hostitelskou buňkou (Pohlenz aj., 1978) — Scheme representing a relationship between the parasite from the *Cryptosporidium* genus and a host cell (Pohlenz et al., 1978)

Kryptosporidie se diagnostikují na základě koprologického vyšetření trusu mláďat. V nativním preparátu zjišťujeme oocysty, event. sporocysty kryptosporidií flotačními metodami (nasycený roztok cukru, NaCl, ZnCl₂ ap.) nebo barvicími metodami (podle Giemsy, Heineho, modifikovanou metodou Ziehl-Neelsenovou ap.). Obdobně lze těmito barvicími metodami prokázat vývojová stadia v barvených histologických řezech (např. hematoxilin-eozinem) na povrchu střevních klků. Úspěšně lze využít i sérologických vyšetřovacích metod (nepřímá imunofluorescenční metoda — NFR), které však v běžné klinické praxi najdou uplatnění jen v dokonale vybavených laboratořích.

V naší práci jsme pozornost soustředili na morfologickou stavbu endogenních stadií a na klinický průběh onemocnění demonstrováný na laboratorním modelu — na bílých myších. K experimentální invazi jsme využili poznatků získaných při dřívějším studiu možností laboratorní diagnostiky kryptosporidiózní invaze u telat a rozšířili je o průkaz původců sérologickými metodami.

MATERIÁL A METODY

IZOLACE A PREPARACE INOKULA

Trus obsahující oocysty byl smíchán s 2,5 % K₂Cr₂O₇, filtrován byl přes sítko a uschováván při teplotě +4 °C v chladničce po dobu pěti měsíců. Vzorky trusu jsme odebrali v JZD v okresech Brno-venkov a Šumperk od narozených telat s příznaky průjmu, dehydratace a s nepříznivým zdravotním stavem. Odběry se uskutečnily v říjnu až listopadu 1986 a v únoru až březnu 1987.

K vlastnímu pokusu jsme použili suspenzi vzorků oocyst kryptosporidií, které jsme purifikovali a zkoncentrovali Sheatherovou metodou (nasycený roztok cukru, specifická hmotnost 1500), promyli opakovanou centrifugací (800 gx) v pufrovaném roztoku PBS pH = 7,4. Dávku inokula jsme propočítali v McMasterově komůrce.

INOKULACE MYŠÍ

Do pokusu jsme zařadili šest vrhů bílých myší, jejichž stav v každém vrhu byl sjednocen na matku a šest mláďat. Čtyři ze šesti myšek ve vrhu jsme inokulovali žaludeční sondou (upravená injekční jehla s knoflíkovitým zakončením) a podali jsme jim 10⁵ oocyst kryptosporidií. Dvě zbývající myši ve vrhu zůstávaly kontrolní, rovněž tak matka. Inokulovali jsme třídní až pětidenní sající myši.

PITVA INOKULOVANÝCH MYŠÍ

Všechny myšky včetně kontrol jsme pitvali v určitém časovém intervalu po inokulaci (p. i.) kryptosporidiemi po 12 a 24 hodinách, po dvou až pěti dnech a po šesti až devíti dnech. Získali jsme seškraby mukózy ze sliznice žaludku, duodena, jejunu, ilea, céka a kolonu. Každý preparát jsme umístili do pufrovaného roztoku PBS pH = 7,4, roztlačili krycím sklíčkem a při pokojové teplotě mikroskopicky vyšetřili na přítomnost vývojových stadií rodu *Cryptosporidium* s využitím možnosti Nomarského interferenčního kontrastu (NIC). Světelným mikroskopem jsme tato vývojová stadia pozorovali v zorném interferenčním poli.

Části orgánů (slezinu, játra, ledviny a plíce invadovaných myší) jsme šestý až devátý den p. i. fixovali v 10% neutrálním formalinu, stejně jako úseky dolní části tenkého střeva. Vzorky byly histologicky zpracovány a řezy o velikosti 5 až 7 μm byly obarveny hematoxilin-eozinem. Všechna vývojová stadia jsme měřili okulárovým mikrometrem.

KOPROLOGICKÉ ZPRACOVÁNÍ VZORKŮ

Trus invadovaných myšek a obsah střevní jsme zpracovali flotační Sheatherovou metodou (nasycený roztok cukru, specifická hmotnost 1150). Z povrchové blánky flotovaného vzorku jsme na podložním sklíčku udělali roztěry na ploše cca 4×2 cm.

Oocysty rodu *Cryptosporidium* jsme barvili podle Heineho (1982) karbolfuchsinem, po dosažení matného vzhledu stále ještě vlhkého roztěru jsme nanесли kapku imerzního oleje. Preparát jsme ihned prohlíželi ve světelném mikroskopu (zvětšení 800X až 1200X).

Složitější metodou podle Pitlika aj. (1983), která je modifikací Ziehl-Neelsenovy metody, jsme zpracovali 42 vzorky trusu. Roztěry jsme nechali zaschnout, fixovali jsme je jednu minutu v metanolu, sušili, barvili karbolfuchsinem jednu minutu, opláchli v destilované vodě, odbarvili 10% roztokem kyseliny sírové (dokud odtékala červená barva karbolfuchsinu), opláchli destilovanou vodou, potom barvili malachitovou zelení jednu minutu. Suché preparáty jsme prohlíželi ve světelném mikroskopu (obj. 45X, okulár 12,5X).

SÉROLOGICKÉ VYŠETŘENÍ POMOCÍ NEPŘÍMÉ IMUNOFLUORESCENČNÍ METODY

Těsně před pitvou myšek jsme odebrali vzorky krve od třídenních až pětidenních myšek k vlastnímu sérologickému vyšetření; zdařilo se to pouze u 20 myšek. Krevní séra jsme inaktivovali při teplotě 56°C po dobu 30 minut a aplikovali na podložní skla s antigenem — suspenze oocyst. Fixovaný antigen (1% formalin) jsme po zaschnutí převrstvili inaktivovaným myším sérem ředěným geometrickou řadou ředění. Označené vzorky jsme umístili do vlhké komůrky a inkubovali při teplotě $+37^{\circ}\text{C}$ v termostatu. Vzorky jsme třikrát až čtyřikrát vypírali v PFR $\text{pH} = 7,4$, potom jsme nanесли kojugát (králičí globulin proti myšimu gama-globulinu s chemicky navázaným fluorescentem) od výrobce ÚSOL Praha, o. p. Po opětovné inkubaci a promytí jsme podložní skla sušili při teplotě $+37^{\circ}\text{C}$ na filiračním papíře. Abychom zamezili nespecifické fluorescenci, přidali jsme ke kojugátu Evansovu modř (1 : 8000). Na závěr jsme k preparátu přidali kapku pufrovaného 80% glycerinu p. a. a překryli krycím sklem. K vyhodnocení jsme použili fluorescenční mikroskop JENALUMAR při imerzi určené pro fluorescenční mikroskopy (objektiv 100X). Sérologické kontroly jsme dělali s negativním a pozitivním myším sérem a bez séra (působil pouze kojugát).

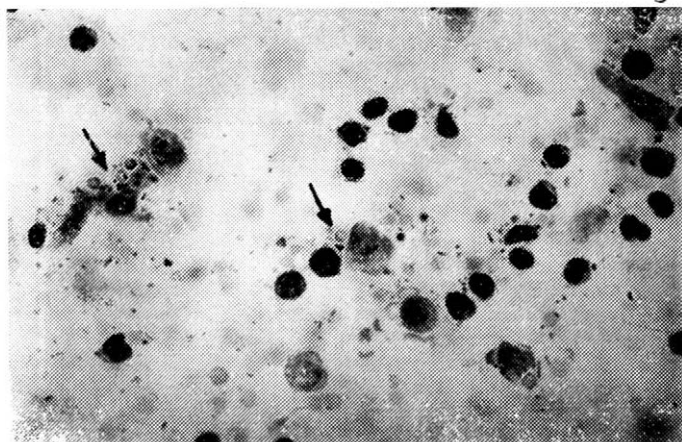
VÝSLEDKY

V odebraných terénních vzorcích trusu telat ve věku do jednoho měsíce ze dvou různých okresů jsme prokázali přítomnost kryptosporidií ve všech vzorcích vyšetřovaného trusu. Všechna telata měla příznaky průjemového onemocnění, výkaly byly kašovité, ostře zapáchaly a byly prostoupěny bublinami plynů, často s příměsí hlenů, někdy i krve.

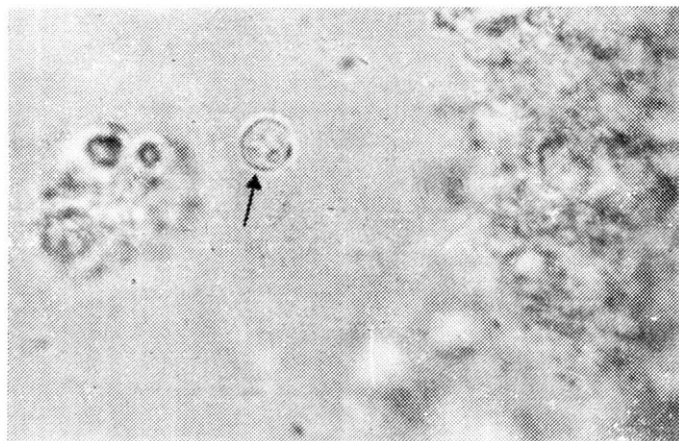
U nativně vyšetřených vzorků trusu zpracovaných flotační metodou jsme pozorovali tenkostěnné, kulaté oocysty s průměrnou velikostí $5\ \mu\text{m}$, s hladkou a bezbarvou stěnou a tmavým zbytkovým tělískem ve vnitřní struktuře (obr. 3, 4). Před vlastní inokulací oocystami kryptosporidií jsme parazitologicky vyšetřili vrhy myší s negativním výsledkem na přítomnost prvoků či helmintů.

Ve světelném mikroskopu jsme zjistili při seškrabech mukózy střeva pokusných myší 12 hodin až 9 dní p. i. vývojová stadia kryptosporidií v mikrovílech enterocytů. Ileum bylo často prvním místem, kde se kryptosporidie usadily, a také zde bylo možné pozorovat největší počet vývojových stadií. Nejmasivnější invazi jsme zaznamenali od čtvrtého dne p. i., kdy vývojová stadia bylo možné pozorovat nejen v ileu, ale i v dalších úsecích střeva (obr. 5—7).

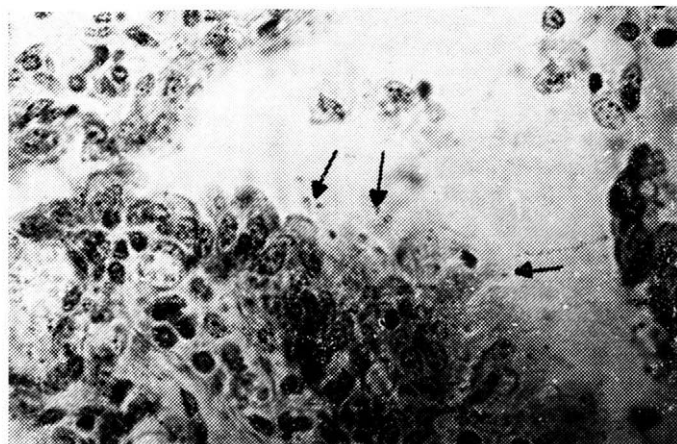
3. Oocysty kryptosporidii v nativním preparátu (okul. 10X, obj. 100X; velikost oocyst cca 5 μ m) — The oocysts of cryptosporidia in native preparation (eyepiece 10 times, objective lens 100 times; oocyst size ca. 5 μ m)

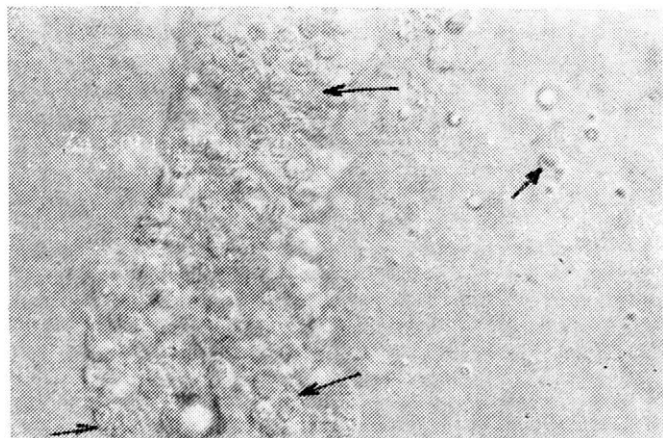


4. Oocysta kryptosporidie v detailu (zvětšeno 2000X) — The oocysts of cryptosporidia — detail view (magnified 2000X)

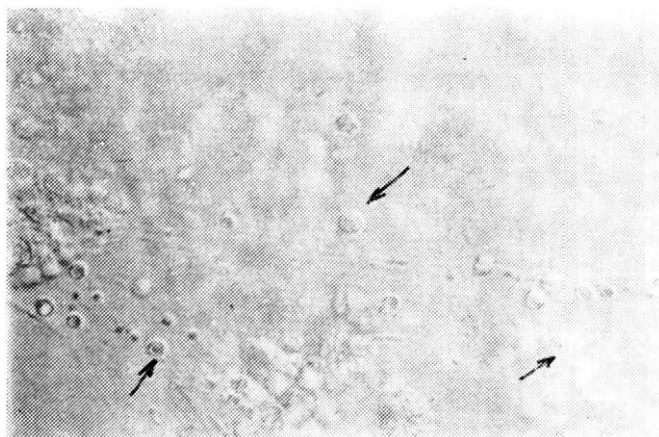


5. Skupina oocyst rodu *Cryptosporidium* na povrchu mikrovilů tenkého střeva — ileum (histologický řez, barveno hematoxilin-eozinem) — A group of oocysts of the *Cryptosporidium* genus on the surface of the microvilli of small intestine — ileum (histological section, stained with hematoxylin-eosine)





6.—7. Vývojová stadia kryptosporidií v seškrabu sliznice ilea (interferenční kontrast podle Normanského — zvětšeno 1300X) — The larval states of cryptosporidia in the scraped mucus from the ileum mucous membrane (interference contrast after Normansky — magnified 1300 times)



Kartáčový lem byl při histologickém vyšetření postižen těžkou atrofií, často až vymizel. Pozorovali jsme časté leukocytární infiltrace do *lamina propria*. V seškrabech sliznice žaludku, stejně jako v histologických řezech mimostřevních tkání (játra, slezina ap.), jsme kryptosporidie neprokázali. Tito prvoci nebyli zjištěni ani u pokusných kontrol (dvě myšky ve vrhu a matka). Při interferenční mikroskopii jsme pozorovali uvolněné sporozoity z oocyst kryptosporidií, velké meronty v enterocytech i volné merozoity banánovitého tvaru. Obtížně jsme diagnostikovali gametocyty. Ve značném množství bylo možné pozorovat v luminu střevním oocysty již čtvrtý až devátý den *p. i.*

Barvicími metodami jsme dosáhli výborných výsledků. Podle Heiného metody se prvoci jeví jako nezbarvené kulovité útvary silně lomící světlo v prostředí imerzního oleje na kontrastním červenofialovém pozadí. Trvalé preparáty ze 42 vzorků jsme mohli zhotovit složitější metodou — modifikace Ziehl-Neelsenovy metody. Oocysty byly kontrastně červeně zbarvené, zatímco ostatní mikroorganismy a zbytky trusu se zbarvily světle zeleně.

Použitím nepřímé imunofluorescenční metody (NFR) jsme mohli sledovat v zorném poli fluorescenčního mikroskopu epifluorescenci kryp-

tosporidiózních oocyst. Při této experimentální invazi dosáhly titry maxima hodnoty 1056, většinou se však pohybovaly v rozmezí 264 až 528.

DISKUSE

Ve své práci jsme navázali na poznatky předchozích experimentálních prací (Lukešová, 1984). Zpočátku bylo zjišťování výskytu kryptosporidií v trusu telat v terénních vzorcích značně náročné. Rozlišit v zorném poli 5 μm velké oocysty vyžaduje kvalitní mikroskop i čerstvý materiál vyšetřovaný ihned po ukončení flotace.

Použití hypertonického roztoku (nasycený roztok cukru), i když šetrně pracujícího, může vést k dehydratačním procesům a ke změně tvaru oocyst s tím spojené. Proto jsme od začátku pracovali i s barvicími metodami, které umožňují orientaci ve vyšetřovaném trusu. Jejich použití v laboratorní diagnostice kryptosporidiózy má své opodstatnění a hraje přinejmenším důležitou roli v rutinní praxi, což potvrzují mnozí autoři (např. Boch aj., 1982; Pitlik aj., 1983 a další). Zhotovili jsme také preparáty vhodné k praktické výuce veterinární parazitologie.

Pokusili jsme se o experimentální přenos kryptosporidií izolovaných z terénních vzorků trusu přirozeně invadovaných telat na laboratorní myši. Tento pokus se zdařil a sající myšky se podařilo invadovat kryptosporidiemi. Jejich další vývojová stadia jsme mohli studovat na modelu laboratorních myší. Potvrdili jsme tak domněnku některých autorů (Current aj., 1984; Angus aj., 1985), že kryptosporidióza člověka, skotu a dalších zvířat je snadno přenosná z jednoho druhu na jiný. Domníváme se, že se jednalo o přenos druhu *Cryptosporidium parvum*, neboť oocysty měly velikost cca 5 $\times$ 4,5 μm . Jak uvádějí Upton aj. (1985), tento druh se častěji zjišťuje v tenkém střevě telat mladších než 21 dnů, postižených vodnatými průjmy. Oocysty druhu *Cryptosporidium muris* jsou větší, cca 7,4 $\times$ 5,6 μm , jsou oválnější a postihují častěji dospívající telata; průjem mívá střední intenzitu.

Při své práci jsme pozorovali meronty na mikrokalcích u okraje epitelálních buněk. Merozoity uvolněné z merontů se volně pohybovaly v luminu nebo pronikaly epitelálními buňkami. Stejně jako Pearson (1983) a další autoři jsme pozorovali intracelulární vývoj na vrcholu epitelálních buněk po průniku merozoitů. Normarského interferenční metodu jsme zvolili z důvodu bezvadné plasticity sledovaných útvarů, které lze v nativním stavu ve světelném mikroskopu snadno přehlédnout (Current aj., 1986).

Zjišťování vývojových stadií, znalost kompletního vývojového cyklu může mimo jiné vysvětlit, proč malý počet oocyst může způsobit tak masivní invazi u vhodného hostitele. Z toho mimo jiné vyplývá, proč např. u lidí postižených AIDS může přetrvávat kryptosporidiózní invaze, aniž by došlo k opakované perorální nákaze. Tyto domněnky jsou spojeny s možností tzv. autoinvaze a stálé tvorby merontů. Current aj. (1986) prokázali, že asi 20 % tzv. tenkostěnných oocyst po ruptuře stěny uvolní řadu sporozoitů, které penetrují do blízkých enterocytů. Ostatních 80 % tzv. silnostěnných oocyst sporuluje mimo hostitelskou buňku. K ruptuře stěny těchto oocyst dochází ojedinele a tyto oocysty obsahují konstantní čtyři sporozoity a mikroskopicky patrné zbytkové tě-

lísko. Tato zjištění patří v poslední době k velmi cenným poznatkům umožňujícím dokonale se seznámit s mechanismem vývojového cyklu kokciidií z rodu *Cryptosporidium*.

V budoucnu bude třeba věnovat hlubší pozornost screeningovým testům k průkazu protilátek především u mláďat a dětí. Že se jedná o citlivou diagnostickou metodu, o tom jsme se přesvědčili při experimentální invazi bílých myší s vysokými hladinami titrů. Van Opdenbosch aj. (1985) touto metodou prokázali kryptosporidiózní protilátky ve více než 80 % sér hospodářských zvířat a 30 až 40 % sér laboratorních zvířat.

Literatura

- ANGUS, K. W.: Cryptosporidiosis in man, domestic animals and birds: a review. J. R. Soc. Med., 76, 1983, s. 62-70.
- ANGUS, K. W. a kol.: Infectivity of strain of *Cryptosporidium* found in the guinea-pig (*Cavia porcellus*) for guinea-pigs, mice and lambs. J. comp. Path., 95, 1985, s. 151-165.
- BOCH, J. a kol.: Kryptosporidian-Infektionen bei Haustieren. Berl. Münch. Tierärztl. Wschr., 95, 1982, s. 361-367.
- CURRENT, W. L. a kol.: Complete development of *Cryptosporidium* in cell culture. Science, 224, 1984, s. 603-605.
- CURRENT, W. L. a kol.: A comparison of endogenous development of three isolates of *Cryptosporidium* in suckling mice. J. Protozool., 33, 1986, s. 98-108.
- FISCHER, O.: Kryptosporidióza telat v období mléčné výživy. Veter. Med. (Praha), 27, 1982, s. 465-471.
- HEINE, J.: Eine einfache Nachweismethode für Kryptosporidien im Kot. Zbl. Veter.-Med., R. B, 29, 1982, s. 324-327.
- LEVINE, N. D.: Taxonomy and review of coccidian genus *Cryptosporidium* (Protozoa, Apicomplexa). J. Protozool., 31, 1984, s. 94-98.
- LUKEŠOVÁ, D. — NEVOLE, M. — DANÍKOVÁ, H. — ŠALAMOUNOVÁ, Z. — UMLÁSEK, J.: Možnosti laboratorní diagnostiky kryptosporidiózní invaze u telat. Veterinářství, 34, 1984, s. 536-538.
- PAVLÁSEK, I.: First record of *Cryptosporidium* sp. in calves in Czechoslovakia. Folia parasit. (Praha), 28, 1981, s. 187-189.
- PEARSON, G. R.: Scanning and transmission electron microscopic observations on the host-parasite relationship in intestinal cryptosporidiosis of neonatal calves. Res. veter. Sci., 34, 1983, s. 149-154.
- PITLIK, S. D. a kol.: Human cryptosporidiosis: spectrum of disease. Arch. int. Med., 143, 1983, s. 2269-2275.
- SOPH, M. a kol.: Histologická diagnostika kryptosporidiózy u telat, ověření výskytu u telat poražených MPZ Praha-Pisnice. Veterinářství, 34, 1984, s. 107-109.
- ŠTĚRBA, F. — ŠULCOVÁ, I.: K laboratorní diagnostice kryptosporidiózy telat. Veterinářství, 38, 1988, s. 110-112.
- TZIPORI, S. a kol.: An outbreak of calf diarrhoea attributed to cryptosporidial infection. Veter. Rec., 107, 1980, s. 579-580.
- TYZZER, E. E.: A sporozoan found in the peptic glands of the common mouse. Proc. Soc. exp. Biol. Med., 5, 1907, s. 12-13.
- UPTON, S. J. a kol.: The species of *Cryptosporidium* (Apicomplexa: Cryptosporidiidae) infecting mammals. J. Parasit., 71, 1985, s. 625-629.
- VAN OPDENBOSCH, E. a kol.: Detection of antibodies to *Cryptosporidium* by indirect immunofluorescence (drop method). Prevalence of antibodies in different animal species. Vlaams diergeneesk. Tijdschr., 54, 1985, s. 49-54.

Došlo dne 3. 7. 1987

ЛУКЕШОВА, Д. — ТРОЯКОВА, Г. — ЦЕЛЕРОВА, Л. (Институт ветеринарии, Брно): Экспериментальная инвазированность лабораторных животных кокцидиями рода *Cryptosporidium*. Veter. Med. (Praha), 33, 1988 (6) : 365-374.

Мы определяли эндогенный цикл развития моноксенных кокцидий рода *Cryptosporidium* на модели лабор. животных. После перорального инокулирования белых мышей ооцистами диагностировали стадии развития кокцидий, вызвавшие интестинальный криптоспориоз. Внимание сосредоточилось на морфологическом строении эндогенных стадий и на клинический ход заболевания. Были расширены сведения, полученные в ходе предшествующего изучения возможности лабор. диагностирования криптоспориозного инвазирования у телят за счет доказательства возбудителей с помощью серологического метода — косвенной иммунофлюоресцентной реакции (КИР). Первую стадию определяли уже через 12 час. после заражения, массивное инвазирование наступило на 4-й день и длилось до 9-го дня. Эти отдельные стадии определяли с помощью интерференционной микроскопии по методу Номарского. Путем прямых методов исследования получен отличный опыт по окрашиванию, напр., по методам Гимса, Гайного или в модификации 3-Нильсона. Эту эпифлюоресценцию криптоспориозных ооцист мы доказали еще в титре 1056, но в большинстве случаев в пределах титров 264—528.

телята; криптоспориоз; паразитологическая диагностика; цикл развития; серологическая диагностика

LUKEŠOVÁ, D. — TROJÁKOVÁ, H. — CELEROVÁ, L. (University of Veterinary Medicine, Brno): *Experimental Infection of Laboratory Animals by Coccidia from the Cryptosporidium Genus*. Veter. Med. (Praha), 33, 1988 (6) : 365-374.

An endogenous developmental cycle of monoxenous coccidia of the *Cryptosporidium* genus was studied using a model of laboratory animals. After the peroral inoculation of white mice by oocysts, the larval states of coccidia were detected which induced intestinal cryptosporidiosis. Attention was paid to the morphological structure of the endogenous larval states of coccidia and the clinical course of the disease. The knowledge from a previous study was complemented by a laboratory diagnostics of cryptosporidium infection in calves demonstrating the causative agents by a serological technique — indirect immunofluorescent antibody test (IFAT). The first larval states of coccidia were detected as soon as 12 hours *p. i.*, the massive infection occurred the fourth day *p. i.* and lasted until the ninth day after infection. The larval states were investigated by interference microscopy after Nomarsky. Using direct detection techniques, very good experience was obtained with staining methods, e. g. after Giemsa, Heine, and by modification of the Z-Nielsen method. The epifluorescence detected in the cryptosporidium-infected oocysts was demonstrated in the course of the experimental infection even in titre 1056, mostly within the titre range of 264—528.

calves; cryptosporidia; parasitological diagnostics; development cycle; serological diagnostics (NFR)

LUKEŠOVÁ, D. — TROJÁKOVÁ, H. — CELEROVÁ, L. (Veterinärmedizinische Hochschule, Brno): *Experimentelle Invasion von Labortieren durch Kokzidien der Gattung Cryptosporidium*. Veter. Med. (Praha), 33, 1988 (6) : 365-374.

Wir studierten den endogenen Entwicklungszyklus monoxener Kokzidien der Gattung *Cryptosporidium* u. zw. an einem Modell mit Labortieren. Nach peroraler Inokulation von weißen Mäusen durch Oozysten diagnostizierten wir die Kokzidiendstadien, die eine intestinale Kryptosporidiose hervorgerufen haben. Unsere Aufmerksamkeit konzentrierten wir auf die morphologische Struktur der endogenen Entwicklungsstadien und auf den klinischen Verlauf der Erkrankung. Wir konnten die beim früheren Studium der Möglichkeiten einer Labordiagnose der Kryptosporidieninvasion bei Kälbern gewonnenen Ergebnisse um einen Nachweis der Erreger mit Hilfe einer serologischen Untersuchungsmethode — der indirekten Immunofluoreszenzreaktion (NFR) — erweitern. Die ersten Entwicklungsstadien waren bereits 12 Stunden *p.i.* festzustellen, die massive Invasion trat am vierten

Tag p. i. ein und dauerte bis zum neunten Tag nach der Invasion. Die einzelnen Entwicklungsstadien beobachteten wir mittels Interferenzmikroskopie laut Nomarský. Anhand direkter Untersuchungsmethoden haben wir ausgezeichnete Erfahrungen mit verschiedenen Färbungsmethoden, z. B. nach Giemsa, Heine und der Modifikation der Z-Nielsen-Methode, gewonnen. Die zu beobachtende Epifluoreszenz der kryptosporidiosis Oozysten konnten wir bei der experimentellen Invasion auch noch im Titer 1056, größtenteils jedoch im Bereich der Titer 264 bis 528, nachweisen.

Kälber; Kryptosporidien; parasitologische Diagnostik; Entwicklungszyklus; serologische Diagnostik (NFR)

Adresa autorů:

MVDr. Daniela Lukešová, CSc., Hana Trojáková, Lenka Celerová,
Vysoká škola veterinární, Palackého 1-3, 612 42 Brno

IMOBILIZACE SAMCŮ JELENA EVROPSKÉHO (*CERVUS ELAPHUS* L.) ETORFINEM

P. Koubek, V. Mrlík

KOUBEK, P. — MRLÍK, V. (Ústav systematické a ekologické biologie ČSAV, Brno): *Imobilizace samců jelena evropského (Cervus elaphus L.) etorfinem*. Veter. Med. (Praha), 33, 1988 (6) : 375-380.

V letech 1985 a 1986 jsme imobilizovali 14 samců jelena evropského (*Cervus elaphus*). K imobilizaci jsme použili preparát Immobilon for Large Animals s antidotem Revivon. K úplné imobilizaci jelenů bylo třeba 1,7 ml Immobilonu (4,17 mg etorfinu na 100 kg hmotnosti dospělého jedince). Průměrná délka času, který uplyne od nastřelení po ulehnutí, je 7,15 min. Délka indukčního času je 8,40 min. Při i. m. aplikaci antidota byla průměrná délka remobilizace 5,10 min, při i. v. aplikaci 1,55 min. Průběh imobilizace negativně ovlivňuje délka předchozího působení stresu při nahánění zvěře ke střelci, nevhodné místo aplikace účinné látky i sociální postavení jedince ve skupině.

Cervus elaphus; imobilizace; etorphin

Jedním ze základních předpokladů bezpečné manipulace se zvířaty je jejich úplná imobilizace. Rozvoj distančních imobilizačních systémů i účinných látek v posledních dvou desetiletích umožnil úspěšně imobilizovat i volně žijící zvířata. Zvláště výrazný rozvoj imobilizačních metod byl zaznamenán v 60. letech v souvislosti s prvními aplikacemi morfinu a jeho derivátu etorfinu (Harthoorn, 1962). Rychlý nástup anestezie, minimální spotřeba účinné látky, široké spektrum uplatnění a možnost aplikace antidota vyvažují i skutečnost, že se jedná o preparát, který je pro člověka velmi nebezpečný.

Jak ukazují bohaté literární prameny, bylo různých imobilizačních látek s úspěchem použito u mnoha druhů zvířat chovaných v zajetí i zvířat volně žijících (Harthoorn, 1976; Hatlapa a Wiesner, 1982; Svobodník aj., 1983).

Čistý etorfin i etorfin v kombinaci s dalšími látkami (např. s xylazinem, azaperonem, acepromazinem aj.) byl dosud použit především k imobilizaci volně žijících kopytníků. Coggins (1975) použil etorfin k imobilizaci jelena wapiti (*Cervus canadensis*), Chapman (1973), Jones a Manton (1973) a Low (1973) jelena evropského (*C. elaphus*), Franzmann a Arneson (1974) a Gasaway aj. (1978) losa (*Alces alces*), Fong (1982) a Fuller a Keith (1981a) soba polárního (*Rangifer tarandus*), Wolf (1970) jelence viržinského (*Odocoileus virginianus*), Krausman aj. (1986) jelence ušatého (*O. hemionus*) a Clausen aj. (1984) pižmoně (*Ovibos moschatus*). Harthoorn (1976) popisuje aplikaci etorfinu také při imobilizaci

mnoha druhů kopytníků afrických savan. Larsen [1971], Beeman aj. [1974] a Fuller a Keith [1981b] použili s úspěchem etorfin i při imobilizaci baribala (*Ursus americanus*), medvěda ledního (*Thalartos maritimus*) a vlka (*Canis lupus*).

Cílem naší práce bylo ověřit metodiku imobilizace etorfinem u jelenů evropského a posoudit její využití v oborních chovech i ve volnosti.

MATERIÁL A METODY

V zimních měsících (leden, únor) let 1985 a 1986 jsme imobilizovali celkem 14 jelenů evropských ve věku 0+ až 10+ let a o hmotnosti 80 až 180 kg. Dvanáct jelenů bylo imobilizováno v sedm hektarů velké přezimovací obůrce patřící LZ Jeseník. Obora je situována na severním svahu Točniku v nadmořské výšce 700 m. Porost je z 80 % tvořen smrkem 20 až 60 let starým. Zvěř je z obor vypouštěna v závislosti na klimatických podmínkách a výšce sněhové pokrývky v březnu a dubnu. V roce 1985 bylo v oboře deset jelenů, v roce 1986 devět jelenů. Všichni byli postupně imobilizováni. Opakovaně (v roce 1985 i 1986) byli imobilizováni tři jeleni. Kromě toho jsme imobilizovali dva jeleny ve volné přírodě. Všichni jeleni byli imobilizováni Immobilonem for Large Animals[®] (2,45 mg etorfinu + 10,0 mg acepromazin maleatu na mililitr; Reckitt and Colman Pharmaceutical Div. Hull, Anglie). Jako antidota jsme používali Revivon[®] (diprenorfin) téže firmy. Dávkování jsme určovali na základě odhadu hmotnosti jednotlivých jelenů. Jako účinná byla vzata v úvahu pouze ta dávka, při jejíž aplikaci došlo k úplné imobilizaci. V případech, kdy se dávka Immobilonu ukázala jako nedostačující, jsme při opakovaném nastřelení ve všech případech přidávali 0,5 mg Immobilonu. K nastřelování jsme používali hliníkových střel systému Cap-Chure s maximálním možným obsahem látky 2,5 až 3,0 ml. Používali jsme narkotizační zbraně typu Dist-Inject mod. 60N (Peter Ott, Vet. med. Geräte, Basilej, Švýcarsko). Jeleni byli nastřelováni ze vzdálenosti 30 až 60 m, ve všech případech do stehenní svaloviny. Antidotum bylo aplikováno ve stejných objemových dávkách jako vlastní imobilizační látka do některého ze svalů stehna nebo do *v. jugularis externa*.

U každého jednotlivého případu jsme sledovali průběh anestezie, indukční čas, remobilizační čas, vliv předchozího stresu na průběh anestezie, délku indukčního času apod.

Abychom mohli lépe posoudit průběh anestezie a srovnat délku trvání jejich jednotlivých fází, rozdělili jsme indukční čas na dvě etapy. V první etapě jsme sledovali, jak dlouhý časový úsek uplyne od nastřelení po ulehnutí zvířete. Ve druhé etapě byla samostatně sledována délka časového úseku od ulehnutí po úplnou imobilizaci. Indukční čas je tedy v našem případě dán délkou trvání obou etap. Jednotlivé etapy indukčního času i délka remobilizace (doba, která uplyne od aplikace antidota po probuzení zvířete) byly měřeny s přesností 5 s. U každého jednotlivého případu jsme rovněž měřili délku časového úseku, který uplyne od začátku natlácení zvěře ke střelci po její úspěšné nastřelení (tzn. délku působení stresu, v zahraniční literatuře označovanou jako „hazing time“). Podobně jako předchozí etapa imobilizace, tak i manipulační čas (handling time) — délka časového úseku nezbytně nutného k manipulaci s imobilizovaným zvířetem — byl měřen s přesností 1 min.

VÝSLEDKY A DISKUSE

K úplné imobilizaci jsme v jednotlivých případech použili 1,5 až 3,0 ml Immobilonu (tab. I). Průměrná dávka Immobilonu byla 2,4 ml, tj. 5,88 mg etorfinu na jednoho jelena o průměrné hmotnosti 140 kg. V přepočtu na 100 kg hmotnosti to je 1,7 ml Immobilonu (tj. 4,17 mg etorfinu). U dospělých jelenů ($n = 8$), u nichž k úplné anestezii došlo, aniž jsme museli původní dávku Immobilonu opakovaně zvyšovat, byla jeho průměrná dávka rovněž 2,4 ml (průměrná hmotnost jelenů této

I. Imobilizační statistika samců jelena evropského (*Cervus elaphus*) — Statistics of immobilization of the stags of red deer (*Cervus elaphus*)

Číslo	Věk	Hmotnost [kg]	Dávka [ml]	Čas [min]					
				A	B	C	D	E	F
1	0+	80	1,5	22	3,50	1,20	5,10	20	1,40 ⁺⁺
2	2+	120	2,5	15	3,40	1,40	5,20	22	4,55
3	2+	100	2,0	27	5,20	1,35	6,55	20	5,45
4 ⁺	2+	130	2,5	33	8,35	1,10	9,45	24	5,15
5	3+	130	2,0	28	5,25	1,30	6,55	28	4,25
6 ⁺	4+	130	2,5	60	12,30	2,00	14,30	41	8,40
7	4+	160	2,0	36	6,50	1,05	7,55	23	4,20
8 ⁺	4+	170	2,5	65	10,30	1,40	12,10	38	4,25
9 ⁺⁺⁺	5+	180	2,5	0	5,15	1,00	6,15	24	1,50 ⁺⁺
10 ⁺⁺⁺	5+	180	2,5	0	4,35	1,00	5,35	25	2,50 ⁺⁺
11 ⁺	5+	170	3,0	72	15,30	1,20	16,50	38	1,20 ⁺⁺
12 ⁺	6+	140	2,5	46	9,15	1,10	10,25	25	5,40
13	9+	150	3,0	32	4,45	1,00	5,55	26	4,10
14	10+	150	2,5	28	5,45	1,05	6,50	25	4,05
$\bar{x}$		140	2,4	39	7,15	1,20	8,40	27	5,10 1,55 ⁺⁺

A — délka nahánění zvěře před nastřelením

B — časový úsek od nastřelení po ulehnutí

C — časový úsek od ulehnutí po úplnou imobilizaci

D — indukční čas (B + C)

E — délka manipulace s imobilizovanou zvěří

F — remobilizace

+ opakovaná aplikace Immobilonu

++ i. v. aplikace antidota

+++ imobilizace jelenů z volné přírody

skupiny byla 146 kg). V přepočtu na 100 kg hmotnosti postačovalo k úplné imobilizaci 1,6 ml Immobilonu (tj. 3,92 mg etorfinu).

Opakovaně musel být Immobilon aplikován v pěti případech (jeleni č. 4, 6, 8, 11, 12). Průměrná dávka Immobilonu nutná k úplné imobilizaci se u jelenů této skupiny zvýšila na 2,6 ml. V přepočtu na 100 kg hmotnosti to znamená 1,8 ml Immobilonu (tj. 4,41 mg etorfinu). Průměrná hmotnost jelenů této skupiny byla 148 kg. Jak je z našich výsledků zřejmé, dosáhli jsme úplné anestezie u dospělých jelenů při aplikaci 1,6 ml Immobilonu na 100 kg hmotnosti. Hatlapa a Wiesner (1982) doporučují na dospělé jeleny o průměrné hmotnosti 140 kg dávku 1,5 až 2,5 ml Immobilonu (tj. 3,68 až 6,13 mg etorfinu na 100 kg). Jones (1978 — cit. Svobodník aj., 1983) uvedl jako dostačující dávku 2,0 mg na 100 kg. Velmi nízké dávkování — 0,4 až 1,1 ml Immobilonu (tj. 0,98 až 2,70 mg etorfinu na 100 kg) pro dospělého jelena doporučuje Klös (1976 — cit. Svobodník aj., 1983). Také Coggins (1975) pro roční samce wapiti o průměrné hmotnosti 178 kg doporučuje na 100 kg pouze 2,70 mg etorfinu (tj. 1,1 ml Immobilonu).

Obecně lze říci, že velikost dávky dostačující k úplné imobilizaci zvířete je závislá na mnoha faktorech. Dávkování imobilizačních prepa-

rátů je rozdílné nejen u jednotlivých čeledí, rodů, druhů, ale i u jedinců jednoho a téhož druhu (Hatlapa a Wiesner, 1982; Svobodník aj., 1983). Ani při opakované imobilizaci stejného jedince nemusíme získat shodné výsledky. V roce 1986 jsme k imobilizaci jelena č. 8 použili stejné dávky Immobilonu (2,5 ml) jako v roce 1985. Při opakované imobilizaci se indukční čas zkrátil na 4,35 minuty při současném zkrácení doby nutné k nastřelení na 10 minut. Jak ukazují naše poznatky, je délka působení stresu vyvolaného nadháněním jedním z rozhodujících činitelů, který přímo ovlivňuje dávkování i vlastní průběh anestezie. K obdobným výsledkům dospěli také Fuller a Keith (1981a). V těch případech, kdy bylo nadhánění neúnosně dlouhé (jeleni č. 6, 8, 11, 12), jsme museli dávku Immobilonu zvyšovat. Nástup anestezie byl velmi pomalý, sedativní účinek preparátu minimální. Ani v jednom z uvedených případů nedošlo k ulehnutí. Naopak u jelenů, kteří před nastřelením nebyli vystaveni stresu v podobě nadhánění (jeleni č. 9, 10), byl nástup anestezie rychlý, její jednotlivé fáze výrazné, jeleni ulehli maximálně 50 m od místa nastřelení.

Dalším z faktorů působících na průběh anestezie i na velikost dávky je místo vpichu narkotizační látky. Pokud je látka aplikována do oblasti svalového úponu či mezi jednotlivé svalové snopce, je její transport velmi pomalý, což se projevuje prodlouženým indukčním časem (jelen č. 4). V případě aplikace účinné látky do břišní dutiny k imobilizaci nedošlo, příznaky nástupu anestezie vůbec nebyly patrné.

Pokud byli imobilizováni jeleni ve skupině, v níž bylo možné předpokládat určité sociální postavení jednotlivých jedinců, pak nejhůře imobilizovatelní byli ti jeleni, kteří byli v sociálním postavení na nejnižších místech, resp. ti jedinci, kteří byli v oboře chyceni nejkratší dobu (jelen č. 6).

Během vlastní imobilizace a ani v dalších dnech nedošlo ani k jednomu úhynu. Všichni jeleni byli označováni a v nepravidelných intervalech pozorováni téměř celý rok. Přes tyto pozitivní výsledky lze jednoznačně doporučit maximálně zkrátit časový úsek před vlastním nastřelením a délku manipulace s imobilizovaným jedincem. Pokud tento předpoklad dodržíme, podaří se zkrátit indukční čas na minimum a zamezíme nežádoucím ztrátám (Fuller a Keith, 1981a; Krausman aj., 1986).

Průměrná délka remobilizace při *i. m.* aplikaci antidota byla 5,10 minuty. Výrazného zkrácení bylo dosaženo při *i. v.* aplikaci (1,55 min).

Jak se ukázalo, je Immobilon ideálním přípravkem použitelným i při imobilizaci velkých volně žijících obratlovců. Vzhledem k silné toxicitě tohoto preparátu je třeba zejména při jeho terénním použití dbát zvýšené opatrnosti a dodržovat základní hygienická opatření. Při práci s Immobilonem nesmí nikdy chybět dostatečné množství preparátu, kterým by bylo možné zabránit případné otravě (Nalorphin Chinoin inj.).

Literatura

- BEEMAN, L. E.: Use of M99 etorphine for immobilizing black bears. *J. Wildl. Mgmt.* 38, 1974, s. 568-569.
 CLAUSEN, B. a kol.: Immobilization and tagging of muskoxen (*Ovibos moschatus*) in Jameson land, northeastern Greenland. *J. Wildl. Dis.*, 20, 1984, s. 141-145.
 COGGINS, V. L.: Immobilization of Rocky Mountain elk with M99. *J. Wildl. Mgmt.* 39, 1975, s. 814-816.

- FONG, D. W.: Immobilization of caribou with etorphine plus acepromazine. J. Wildl. Mgmt, 46, 1982, s. 560-562.
- FRANZMANN, A. W. — ARNESON, P. D.: Immobilization of Alaskan moose. J. Zool. anim. Med., 5, 1974, s. 26-32.
- FULLER, T. K. — KEITH, L. B.: Immobilization of woodland caribou with etorphine. J. Wildl. Mgmt, 45, 1981a, s. 745-748.
- FULLER, T. K. — KEITH, L. B.: Immobilization of wolves in winter with etorphine. J. Wildl. Mgmt, 45, 1981b, s. 271-273.
- GASAWAY, W. C. — FRANZMAN, A. W. — FARO, J. B.: Immobilizing moose with a mixture of etorphine and xylazin hydrochloride. J. Wildl. Mgmt, 42, 1978, s. 686-690.
- HARTHOORN, A. M.: The capture and relocation of the white rhinoceros *Ceratotherium simum simum* using drug immobilizing techniques. J. Natal. Parks Board, 2, 1962, s. 1-9.
- HARTHOORN, A. M.: The chemical capture of animals. London, Bailière Tindall 1976.
- HATLAPA, H. H. M. — WIESNER, H.: Die Praxis der Wildtierimmobilisation. Hamburg und Berlin, Paul Parey Verlag 1982.
- CHAPMAN, D.: Immobilon in deer. Veter. Rec., 92, 1973, s. 711.
- JONES, D. M. — MANTON, V. J. A.: Immobilon in deer. Veter. Rec., 93, 1973, s. 26-27.
- KRAUSMAN, P. K. a kol.: Immobilization of desert mule deer with etorphine plus azaperone. SWest. Nat., 31, 1986, s. 411-414.
- LARSEN, T.: Capturing, handling and marking polar bears in Svalbard. J. Wildl. Mgmt, 35, 1971, s. 26-27.
- SVOBODNÍK, J. a kol.: Základy imobilizace a anestezie zvířat. Pardubice, Ústav veterinární osvěty 1983.
- WOOLF, A.: Immobilization of captive and free-ranging white-tailed deer (*Odocoileus virginianus*) with etorphine hydrochloride. J. Amer. veter. med. Assoc., 157, 1970, s. 636-640.

Došlo dne 19. 6. 1987

КОУБЕК, П. — МРЛИК, В. (Институт систематической и экологической биологии при АН ЧССР, Брно): **Иммобилизация самцов оленя благородного (*Cervus elaphus* L.) эторфином.** Veter. Med. (Praha), 33, 1988 (6) : 375-380.

В период 1985 и 86 гг. иммобилизовали 14 самцов оленей (*Cervus elaphus*) с помощью препарата Immobilon for Large Animals с антидотом Revivon. Для полной иммобилизации потребовалось 1,7 мл Иммобилона (4,17 мг эторфина на 100 кг веса взрослого оленя). Средняя продолжительность от настрела до залегания 7,5 мин, а продолжительность индукции 8,40 мин. При внутримышечном введении антидота средняя продолжительность ремобилизации 5,10 мин, а при внутривенном введении 1,55 мин. На ход иммобилизации негативно действуют продолжительность предшествующего стресса при преследовании животного, неподходящее место введения действующих веществ и социальная позиция особи в группе.

Cervus elaphus; иммобилизация; эторфин

KOUBEK, P. — MRLÍK, V. (Institute of Systematical and Ecological Biology of the Czechoslovak Academy of Sciences, Brno): **Immobilization of the Stags of Red Deer (*Cervus elaphus* L.) by Etorphine.** Veter. Med. (Praha), 33, 1988 (6) : 375-380.

Fourteen stags of red deer (*Cervus elaphus*) were immobilized in 1985 and 1986. The preparation Immobilon for Large Animals with the Revivon antidote was used for this immobilization. It was necessary to use 1.7 ml Immobilon for the complete immobilization of the stags (4.17 mg of etorphine per 100 kg weight of the mature animal). The average time which elapses from a hitting of the stag to its lying down is 7.15 min. The time of induction is 8.40 min. At *i. m.* application of antidote

the average time of remobilization is 5.10 min., at *i. v.* application 1.5 min. The immobilization is negatively influenced by the duration of the preceding stress when the animal is driven to a shooter, unsuitable place of application of the active substance and the social position of the animal in a group.

Cervus elaphus; immobilization; Etorphine

KOUBEK, P. — MRLÍK, V. (Institut für systematische und ökologische Biologie der Tschechoslowakischen Akademie der Wissenschaften, Brno): *Immobilisierung männlicher Edelhirsche (Cervus elaphus L.) durch Etorfin*. Veter. Med. (Praha), 33, 1988 (6) : 375-380.

In den Jahren 1985 und 1986 immobilisierten wir 14 männliche Edelhirsche (*Cervus elaphus* L.). Zu der Immobilisierung wurde das Präparat Immobilon for Large Animals mit dem Antidoton Revivon angewandt. Zu einer vollkommenen Immobilisation der Hirsche waren 1,7 ml Immobilon (4,17 mg Etorfin pro 100 kg Lebendmasse des erwachsenen Individuums) erforderlich. Die durchschnittliche Zeitspanne, die vom Schuß bis zum Niederlegen des Tieres verlief, betrug 7,15 Minuten. Die Länge der Induktionszeit beträgt 8,40 Min. Bei *i. m.* Applikation des Antidotons belief sich die Remobilisierungszeit auf 5,10 Min., bei *i. v.* Applikation waren es 1,55 Min. Der Verlauf der Immobilisierung wurde in negativem Sinne durch die Dauer des vorhergehenden, infolge des Zutreibens des Tieres zum Schützen entstandenen Stresses, durch eine ungeeignete Applikationsstelle des Wirkstoffes sowie durch die soziale Position des Individuums in der Gruppe, beeinflusst.

Cervus elaphus; Immobilisierung; Etorfin

Adresa autorů:

RNDr. Petr Koubek, CSc., MVDr. Vojtěch Mrlík, CSc., Ústav systematické a ekologické biologie ČSAV, Květná 8, 603 65 Brno

FORÉZIE *BOVICOLA BOVIS* (MALLOPHAGA) NA MOUCHÁCH ČELEDI *MUSCIDAE*

M. Muška, J. Máca

MUŠKA, M. — MÁCA, J. (Parazitologický ústav ČSAV, České Budějovice): Forézie *Bovicola bovis* (Mallophaga) na mouchách čeledi *Muscidae*. Veter. Med. (Praha), 33, 1988 (6) : 381-384.

V průběhu roku 1986 byly odchytávány synbovilní mouchy na dvou lokalitách v Jihočeském kraji. Z celkového počtu 2575 dvoukřídlých byl zaznamenán případ forézie *Bovicola bovis* v deseti případech na sekretofágních druzích much *Musca autumnalis* a *Hydrotaea meteorica*. Jak u much, tak u všenek se jedná o jedince samičího pohlaví.

ekologie; synbovilní mouchy; sekretofágní druhy

Všenky (*Mallophaga*) jsou vázány na své hostitele do té míry, že je téměř nikdy neopouštějí. Proto například ptačí všeny nikdy nenajdeme v substrátu hnízd. Na hostitelích probíhá i celý vývoj a nový jedinec hostitele se nakazí všenkami především při přímém kontaktu s jedincem již napadeným. Mnoho druhů všenek však příležitostně využívá i jiné možnosti šíření. Jde o forézii — přenos dočasným přichycením na jiných organismech, které všenkami nejsou napadány, pouze je transportují. Je známo více údajů o přenosu všenek forézií na různých druzích hmyzu.

Značné množství pozorování se týká přenosu všenek na dvoukřídlých z čeledi klošovitých (přehled dosavadních pozorování uvádí Keirans, 1975a, existují i novější údaje). Méně časté jsou případy forézie všenek na komárech (*Culicidae*) a bodalkách (*Stomoxys*), ojediněle i na hmyzu z jiných řádů — *Siphonaptera*, *Odonata*, *Hymenoptera* a *Lepidoptera* (Keirans, 1975b; Jakob a Eads, 1979). Pokud jde o synantropní mouchy nesající krev (*Muscidae*, *Sphaeroceridae*), zatím na nich byl pozorován pouze přenos vší — *Anoplura* (Nuttall, 1918; Sosnina a Skljár, 1985). V předložené práci popisujeme první pozorování forézie všenek na mouchách čeledi *Muscidae* (s. str.) a současně první případ forézie všeny *Bovicola bovis*.

MATERIÁL A METODY

V roce 1986 jsme na dvou vytypovaných lokalitách sledovali sezónní dynamiku synbovilních much na pastvinách skotu. Lokalita Jarov je 4 km od města Bavorov a spadá pod JZD Vodňany. Lokalita Horní Jílovice je 8 km od Vyššího Brodu a spadá pod Státní statky Šumava.

VÝSLEDKY

Sérií odchytů jsme získali 2575 dvoukřídých (Jarov 2096, Horní Jílovec 479). Při determinaci tohoto materiálu bylo zaznamenáno deset případů forézie *Bovicola bovis* (Linné, 1758) na sekretofágních druhích much: *Musca autumnalis* a *Hydrotaea meteorica*. Ve všech případech, jak u much, tak u všenek, se jedná o jedince samičího pohlaví. Všenky jsou uchyceny pomocí kusadel (obr. 1) při bázi sosáku (obr. 2) nebo na některém z tarsomerů přední nebo zadní končetiny (obr. 3). Pětkrát byly zaznamenány na přední končetině, třikrát na sosáku a dvakrát na zadní končetině. Bližší údaje v tab. I.

DISKUSE

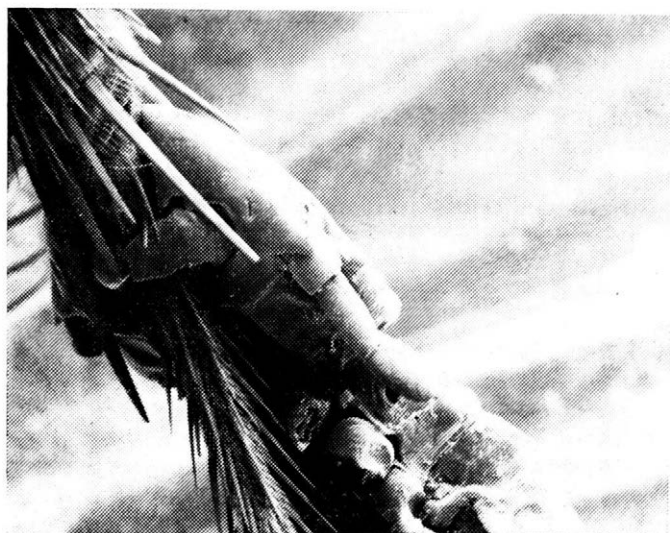
Bovicola bovis je v chovech skotu velice častým ektoparazitem. V zimních měsících (prosinec, leden) se v chovech s nedostatečnou péčí o chovaná zvířata a v nevhodných zoohygienických podmínkách silně

I. Přehled nálezů všenky *Bovicola bovis* na mouchách čeledi *Muscidae* — A survey of the findings of the biting louse *Bovicola bovis* on the flies of the *Muscidae* family

Lokalita	Den odchytu	Druh a počet dvoukřídých	Průměrná denní teplota	Místo uchycení
*Jarov	13. 5. 1986	MA 171, HM 115	16,9	HM sosák, t_3
*Horní Jilovice	17. 6. 1986	MA 178, HM 25	20,1	$3 \times t_1$
Jarov	18. 7. 1986	MA 109	16,9	sosák, t_1
Jarov	23. 7. 1986	MA 730	20,4	sosák, t_3
Jarov	15. 10. 1986	MA 3	7,0	t_1

MA — *Musca autumnalis* t — tarsus

HM — *Hydrotaea meteorica* * — jedná se o první konkrétní lokality *Bovicola bovis* z území Čech



1. Detailní záběr zůsoby uchycení *Bovicola bovis* na končetině — *Bovicola bovis* attached to the leg of a fly — detail view

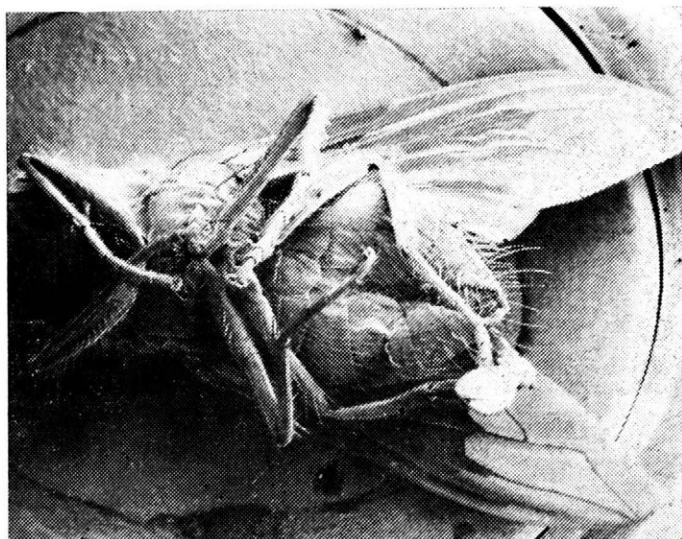
2. *Bovicola bovis* při bázi sosáku — *Bovicola bovis* at the base of the proboscis



pomnožuje. V letních měsících je její početnost minimální. Lokalizuje se hlavně na krku, plecích a v oblastech podél páteře. Když synbovilní mouchy usedají na tyto partie, zřejmě se na jejich končetiny či sosák všenky uchytávají. Mimo tělo hostitele hynou do týdne (Černý, 1983). V chovech s větším počtem zvířat, kde dochází k jejich přímému kontaktu, hraje forézie všenek zanedbatelnou roli při šíření tohoto ektoparazita. Forézií je však možný přenos všenek ze zamořeného chovu do okolních zdravých chovů.

Literatura

- ČERNÝ, V.: Všenky — Mallophaga. In: ROSICKÝ, B. et al.: Cizopasní členovci skotu na pastvinách. Praha, Academia 1983.
JACOB, W. L. — EADS, B. B.: Phoretic relationship between bird mallophaga and mosquitoes. Mosquito News, 39, 1979, s. 137.



3. *Bovicola bovis* na zadní končetině — *Bovicola bovis* on the rear leg

KEIRANS, J. E.: A review to the phoretic relationship between *Mallophaga* (Phthiraptera; Insecta) and *Hippoboscidae* (Diptera; Insecta). J. med. Ent., 12, 1975a, s. 71-76.

KEIRANS, J. E.: Records of phoretic attachment of *Mallophaga* (Insecta: Phthiraptera) on insects other than *Hippoboscidae*. J. med. Ent., 12, 1975b, s. 476.

NUTALL, G. H. F.: Note on lice and flies. Parasitology, 10, 1918, s. 104.

SOSNINA, E. F. — SKLJAR, V. E.: O forezii vshei (*Anoplura*) na mukhakh (*Diptera*). On phoresia of sucking lice (*Anoplura*) on flies (*Diptera*). Parazitologia, 19, 1985, s. 67-68.

Došlo dne 8. 7. 1987

МУШКА, М. — МАЦА, Я. (Институт паразитологии ЧСАН, Чешские Бүдейовицы): Форезия *Bovicola bovis* (*Mallophaga*) на мухах семейства *Muscidae*. Veter. Med. (Praha), 33, 1988 (6) : 381-384.

В течении 1986 года проводился отлов синбовильных мух на двух местах в Южно-чешской области. Из общего количества 2575 двухкрылых был отмечен случай форезии *Bovicola bovis* в десяти случаях на секретофагных видах мух *Musca autumnalis* и *Hydrotaea meteorica*. Как у мух, так и у пухоедок речь идет о особи женского пола.

экология; синбовильные мухи; секретофагные виды

MUŠKA, M. — MÁČA, J. (Parasitological Institute of the Czechoslovak Academy of Sciences, České Budějovice): The Phoresy of *Bovicola bovis* (*Mallophaga*) on the Flies of the *Muscidae* Family. Veter. Med. (Praha), 33, 1988 (6) : 381-384.

Synbovine flies were captured at two sites in the South Bohemia region during 1986. Out of the total number of 2575 dipterous insects, the phoresy of *Bovicola bovis* was recorded in ten cases in the secretophagous fly species *Musca autumnalis* and *Hydrotaea meteorica*. In the flies as well as biting lice, the individuals where the phoresy was observed were the females.

ecology; synbovine flies; secretophagous species

MUŠKA, M. — MÁČA, J. (Parasitologisches Institut der Tschechoslowakischen Akademie der Wissenschaften, České Budějovice): Phoresie der *Bovicola bovis* (*Mallophaga*) Fliegen der Familie *Muscidae*. Veter. Med. (Praha), 33, 1988 (6) : 381-384.

Im Verlauf des Jahres 1986 wurden auf zwei Lokalitäten des Bezirks Südböhmen synbovine Fliegen abgefangen. Von der Gesamtzahl von 2575 Zweiflüglern wurden zehn Fälle einer Phoresie der *Bovicola bovis* auf sekretophagen Arten der Fliegen *Musca autumnalis* und *Hydrotaea meteorica* verzeichnet. Sowohl bei den Fliegen als auch bei den Lausfliegen handelte es sich um Individuen männlichen Geschlechts.

Ökologie; synbovine Fliegen; sekretophage Arten

Adresa autorů:

MVDr. Miroslav Muška, RNDr. Jan Máča, Parazitologický ústav ČSAV, Branišovská 31, 370 05 České Budějovice

CONTENTS

Bekeová E., Elečko J., Lazár L., Krajničáková M.: The Influence of β -carotene on Changes in the Concentration of Thyroxine, Glucose and Insulin in Pregnant Heifers during Parturition	321
Baran M., Holeva L.: The Quality of Silages and Haylages in relation to Fermentation Processes in the Rumen of Ruminants	329
Zajac J., Žuffa T., Šedivá L.: Direct Immunofluorescence Used to Demonstrate the Canine Parvovirus in Tissue Culture	337
Konrád J., Cupák M., Hrušovský J., Husák S., Šmíd K.: The Effect of Training and Working Exercise on the Protein Metabolism of Dogs	347
Vyhnálek J.: Pharmacokinetics of Oxytetracycline in Mammals and Birds	357
Lukešová D., Trojáková H., Celerová L.: Experimental Infection of Laboratory Animals by Coccidia from the <i>Cryptosporidium</i> Genus	365
Koubek P., Mrlík V.: Immobilization of the Stags of Red Deer (<i>Cervus elaphus</i> L.) by Etorphine	375
Muška M., Máca J.: The Phoresy of <i>Bovicola bovis</i> (Mallophaga) on the Muscidae Family	381

INHALT

Bekeová E., Elečko J., Lazár L., Krajničáková M.: Einfluß von Beta-Karotin auf Veränderungen der Thyroxin-, Glukose- und Insulinkonzentration bei trächtigen Färsen während der Geburtsperiode	321
Baran M., Holeva L.: Silage- und Gärheuqualität in Relation zu Fermentationsprozessen im Pansen von Wiederkäurn	329
Zajac J., Žuffa T., Sedivá L.: Anwendung der direkten Immunofluoreszenz beim Nachweis des Parvovirus der Hunde in Gewebekulturen	337
Konrád J., Cupák M., Hrušovský J., Husák S., Šmíd K.: Einfluß der Dressur- und Arbeitsbelastung auf die Eiweißstoffwechsel beim Hund	347
Vyhnálek J.: Pharmakokinetik von Oxytetracyclin bei Säugetieren und Vögeln	357
Lukešová D., Trojáková H., Celerová L.: Experimentelle Invasion von Labortieren durch Kokzidien der Gattung <i>Cryptosporidium</i>	365
Koubek P., Mrlík V.: Immobilisierung männlicher Edelhirsche (<i>Cervus alphas</i> L.) durch Etorfin	375
Muška M., Máca J.: Phoresie der <i>Bovicola bovis</i> (Mallophaga) auf Fliegen der Familie Muscidae	381



Rukopisy odevzdány k tisku 2. 3. 1988 — Podepsáno k tisku 19. 5. 1988

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 1988

Rozšiřuje PNS. Informace o předplatném podá a objednávky přijímá každá administrace PNS, pošta, doručovatel a PNS-ÚED Praha, závod 01 — AOT, Kafkova 19, 160 00 Praha 6; PNS-ÚED Praha, závod 02, Obránců míru 2, 656 07 Brno; PNS-ÚED Praha, závod 03, Gottwaldova tř. 206, 709 90 Ostrava 9. Objednávky do zahraničí vyřizuje PNS — ústřední expedice a dovoz tisku Praha, závod 01, administrace vývozu tisku, Kafkova 19, 160 00 Praha 6.