

VĚDECKÝ ČASOPIS



VETERINÁRNÍ MEDICÍNA

8

ROČNÍK 33 (LXI)
PRAHA
SRPEN 1988
CENA 10 Kčs
CS ISSN 0375-8427

ČESKOSLOVENSKÁ AKADEMIE ZEMĚDĚLSKÁ
ÚSTAV VĚDECKOTECHNICKÝCH INFORMACÍ
PRO ZEMĚDĚLSTVÍ

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

Za vedení časopisu odpovídá akademik Jaroslav Otto Vrtiak

Redaktorka ing. Jovanka Václavičková

OBSAH

Dvořák R., Jagoš P., Přikrylová J., Hradilová M., Zendulka I.: Metabolické procesy v bacheru dojníc při použití antiketogenního preparátu na bázi polyolů Liuos Asetona	449
Jagoš P., Dvořák R., Zendulka I., Přikrylová J., Vospěl B.: Minerální metabolismus dojníc při použití antiketogenního preparátu na bázi polyolů Liuos Asetona	459
Gabriš J., Ďuran A.: Zmeny aktivity ALT, AST a alkalickéj fosfatázy v krvnom sére dojníc v priebehu 24 hodín	469
Mazurová J., Mazura F.: Beta hemolytické streptokoky v pohlavním ústrojí koní	475
Vrzal V., Čupera Z., Chumela J., Zatloukal L.: Protilátková odpověď psů na aplikaci vakcíny proti vzteklině tkáňové inaktivované a živé	485
Fukal L., Haisl K., Sova Z., Reisnerová H.: Histopatologické nálezy a změny koncentrace aflatoxinů a lipidů v játrech nosnic při experimentální akutní aflatoxikóze	495
Šutiak V., Šutiaková I.: Interakcia imunomodulátora chloridu levamizolia s králičími erytrocytmi, hemoproteínami a s ovčím hemoglobínom	503

JUBILEA

Kováč G.: Prof. MVDr. Eudovít Slanina, DrSc., šesťdesiatročný	484
---	-----

СОДЕРЖАНИЕ

Дворжак Р., Ягош П., Пржикрылова Я., Градилова М., Зендулка И.: Метаболические процессы в рубце коров через антикетогенный препарат на базе полиолов Лиуос Асетона	449
Ягош П., Дворжак Р., Зендулка И., Пржикрылова Я., Воспел Б.: Минеральный метаболизм коров под воздействием антикетогенного препарата на базе полиолов Лиуос Асетона	459
Габриш Ю., Дюран А.: Изменения активности ALT, AST и щелочной фосфатазы в кровяной сыворотке коров в течение 24 часов	469
Мазурова Я., Мазура Ф.: Бета-гемолитические стрептококки в половом аппарате лошадей	475
Врзал В., Чупера З., Хумела Й., Затлоукал Л.: Реакция антител у собак вакцинированных против бешенства тканевой инвактивационной и живой вакцинами	485
Фукал Л., Хайсл К., Сова З., Райснерова Г.: Гистопатологические диагнозы и изменения концентраций альфатоксинов и липидов в печени несушек при экспериментальном остром афлатоксикозе	495
Шутиак В., Шутиакова И.: Взаимодействие иммуномодулятора хлорида левамизолия с кроличьими эритроцитами, гемопротеинами и с овечьим гемоглобином	503

METABOLICKÉ PROCESY V BACHORU DOJNIC PŘI POUŽITÍ ANTIKETOGENNÍHO PREPARÁTU NA BÁZI POLYOLŮ LIUOS ASETONA

R. Dvořák, P. Jagoš, J. Příkrylová, M. Hradilová, I. Zendulka

Věnováno k 60. narozeninám prof. MVDr. Ludovíta Slaniny, DrSc.

DVOŘÁK, R. — JAGOŠ, P. — PŘÍKRYLOVÁ, J. — HRADILOVÁ, M. — ZENDULKA, I. (Vysoká škola veterinární, Brno): *Metabolické procesy v bacheru dojníc při použití antiketogenního preparátu na bázi polyolů Liuos Asetona*. Veter. Med. (Praha), 33, 1988 (8) : 449-458.

Ověřovali jsme vliv antiketogenního preparátu Liuos Asetona (Farmous Group) na bacherový metabolismus vysokoprodukčních dojníc s napjatou energetickou bilancí v dávce 300 ml na kus a den u souboru B, tj. před porodem a po něm v období 28 dnů, v dávce 400 ml na kus a den u souboru A, tj. po porodu v období 28 dnů, a ve stejné dávce u souboru C, tj. před porodem a po něm v období 78 dnů. Preparát jsme podávali na konci zimy a v přechodném období, při převádění zvířat na letní krmnou dávku. Metabolické procesy byly sledovány pomocí vybraných ukazatelů metabolického profilu bacherové tekutiny (pH, celková acidita CA, amoniak NH₃, kyselina mléčná, celkové těkavé mastné kyseliny a jejich molární zastoupení, poměr C₂:C₃, poměr neglukogenních kyselin ku glukogenním kyselinám NG:GR, energetická výtežnost těkavých mastných kyselin E, celkový počet nálevníků a hladiny ketolátů). Stimulační vliv aditiva na metabolismus v bacherové tekutině se projevil v nesignifikantním zvýšení počtu infuzorií v bacherovém ekosystému, mírným zvýšením kyselinu propionové u souboru A, zvýšením celkových mastných kyselin u souboru C a snížením hladin celkových ketolátů. Rozdíly hodnot však nebyly statisticky významné. Antiketogenní preparát Liuos Asetona může příznivě ovlivňovat energetický metabolismus a zdravotní stav dojníc v období napjaté energetické bilance. Nelze však předpokládat, že bude vyrovnávat hrubé nedostatky v krmných dávkách nebo působit tam, kde již došlo k vážnějšímu poškození jater.

antiketogenní preparát Liuos Asetona; energetický metabolismus; ketóza; metabolický profil bacherové tekutiny

Mléčná produkce ve vyspělých zemích se během posledních deseti letí výrazně zvýšila. V chovatelsky nejvyspělejších státech činil meziroční nárůst až 96 kg mléka (SHS ANNUAL REPORT, 1972). Zvyšování užitečnosti i přes zlepšenou chovatelskou péči a výživu má za následek zdravotní rizika projevující se zejména v oblasti metabolismu a reprodukčních funkcí.

Poruchy energetického metabolismu náleží mezi nejčastější. Subklinická a klinická ketóza postihuje 11 až 32 % vysokoprodukčních dojníc.

nic v prvních dvou měsících laktace (Müller a Schäfer, 1979; Dohoo a Martin, 1984). Ketózy vznikají nejen jako samostatná onemocnění nutričního původu, ale doprovázejí i poruchy metabolismu vyvolané jinými primárními onemocněními. Prvořadým faktorem v etiologii ketóz však stále zůstávají nutriční problémy, tj. nedostatek glycidových krmiv nebo nadbytek krmiv s ketogenním účinkem. Příznaky ketóz jsou mnohotvárné, často doprovázené komplikacemi (retence sekundin, metritidy apod.). Při absolutním nebo relativním hladovění dochází k četným změnám v krvi a orgánech typickým pro primární ketózy, a to zejména v prvních dvou měsících laktace (Pehrson, 1966). Porod a začátek laktace rozkolísává metabolismus vysokoprodukčních dojnic. Většina krav s pozitivní energetickou bilancí v době zaprahnutí se krátce po porodu dostává do negativní bilance a je přinucena mobilizovat endogenní tuk ke krytí energetických potřeb (Kronfeld, 1965; Radloff a Schutz, 1967; Dale aj., 1978; Hibbitt, 1979). Tuková mobilizace se zvyrazňuje zejména při přísunu energie pod úroveň potřeby.

Opatření, která by zabránila vzniku poruch energetického metabolismu, směřují k takovým úpravám krmného režimu, aby v době zaprahnutí dojnice neztučněly a aby se přísun živin kontinuálně zvyšoval v počátečním období laktace. I za těchto podmínek však vysokoprodukční dojnice zůstávají v prvních týdnech po porodu v negativní energetické bilanci a je třeba u nich počítat s jistým stupněm hyperketonemie (Baird aj., 1974; Dale aj., 1978).

Další opatření zmírňující toto nebezpečí směřují k použití různých glukoplastických látek nebo léčiv na počátku laktace, jako jsou propionáty, glycerol, propylenglykol a další prekurzory pro syntézu glukózy. Před několika lety byl ve Finsku firmou Farmous Group vyvinut preparát na bázi alkoholických cukrů (Polyolů) s přídavkem propylenglykolu, propionátu sodného a melasy pod obchodním názvem LIUOS ASETONA k prevenci poruch energetického metabolismu. Liuos Asetona byla poskytnuta našemu pracovišti finskou stranou k přezkoušení. Smyslem naší práce bylo posoudit vliv preparátu na metabolické procesy v bachoru přežvýkavců.

MATERIÁL A METODY

CHARAKTERISTIKA A HISTORIE VZNIKU PREPARÁTU

Finská společnost Finsugar vyrábí xylit z hydrolyzátů březového dřeva. Tento přípravek je vhodný jako sladilo pro diabetiky, poněvadž jeho inzulínový účinek je malý a sladící schopnost obdobná jako u sacharózy. V dutině ústní není odbouráván a působí pozitivně na funkce sliznic a jater. Při výrobě xylitů z hydrolyzátů březového dřeva však zůstává směs (asi 50 % sušiny) s touto skladbou (%): xylit 10, arbinin 20, manit 20, sorbit 10, galacit 7, redukční cukry 11, ostatní alkoholické cukry s krátkým řetězcem 15. Aby mohlo být nalezeno použití pro vedlejší alkoholické cukry (polyoly) získávané při výrobě xylitu, dělali ve Finsku rozsáhlý výzkum, jehož výsledkem byl preparát vyráběný firmou Farmous Group, Liuos Asetona, o tomto složení (Virkki, 1977):

alkoholické cukry (polyoly)	40 %
propylenglykol	10 %
propionát sodný	5 %
melasa (10–20 % cukru)	45 %

Bylo zjištěno, že polyoly zvyšují chuť k příjmu krmiva, jsou rezistentní k mikrobiálnímu odbourávání v bachoru, pozitivně ovlivňují hladinu glukózy v krvi, zlepšují činnost jater a snižují hladinu ketolátů v krvi.

Liuos Asetona obsahuje (‰):

voda	40,0,
hrubý protein	8,5,
bezdušikaté látky výtahové	44,0,
stravitelné dusíkaté látky	6,0,
popel	7,5.

Podle údajů výrobce se používá 0,3 až 0,5 litru preparátu denně při krmení. Aplikace se zahájí asi dva týdny před předpokládanou dobou porodu a pokračuje asi čtyři až šest týdnů po porodu. U zvláště výkonných dojníc nebo při příznacích hyperketonemie je možné dávku zdvojnásobit (Virkki, 1977).

METODICKÝ POSTUP PŘI REALIZACI POKUSŮ

K pokusu bylo vybráno 40 vysokoprodukčních dojníc, jejichž užitkovost se pohybovala od 3600 do 6800 l mléka za laktaci. Zvířata byla rozdělena do tří souborů: A — zvířata, u kterých byla sledována dynamika metabolických změn po porodu v období 28 dnů při dávce aditiva 400 ml na kus a den; B — soubor zahrnující krátkodobou dynamiku metabolických změn v období před porodem a po něm v období 28 dnů při dávce aditiva 300 ml na kus a den; C — soubor zahrnující dlouhodobou dynamiku metabolických změn v období před porodem a po něm po dobu 78 dnů při dávce přípravku Liuos Asetona 400 ml na kus a den.

Vysokoprodukční dojnice v souborech A a B byly vybrány na základě pozitivního výskytu ketolátů v moči screeningovou metodou pomocí diagnostických papírků Bililabstix fy Ames. Do pokusu C byla vybrána vysokoprodukční zvířata bez ohledu na výskyt ketolátů v moči při zahájení pokusu. V souborech A a B byly uskutečněny tři odběry vzorků biologických tekutin v rozmezí 28 dnů. U souboru C, sledujícího dlouhodobou dynamiku, bylo uskutečněno pět odběrů v rozmezí 78 dnů.

V zimním období přijímaly dojnice souborů A a B krmnou dávku tohoto složení: skrojková siláž 25 kg, kukuřičná siláž 5 kg, seno luční 1 kg, sláma 5 kg, tvařovaná směs 2,5 kg, směs DOB 1,6 kg nad hranici užitkovosti sedm litrů. Dojnice souboru C přijímaly tuto krmnou dávku: siláž kukuřičná 25 kg, seno luční (horší kvality) 4 kg, DOMT 6 kg, mláto 5 kg.

Experimentální práce se konaly na konci zimního období a v přechodném období při převádění na letní krmnou dávku. Při každém odběru vzorků biologických tekutin bylo provedeno zkrácené klinické vyšetření.

K vlastnímu odběru bacherové tekutiny byla použita sonda s kovovou hlavicí s využitím vakua, podle autorů Sørensen a Schambye (1955) ve vlastní modifikaci (Dvořák, 1979). Vzorek bacherové tekutiny byl posouzen adseptivně a k dalšímu vyšetření upraven cezením přes standardní sílonové síto.

Ve vzorcích bacherové tekutiny byly stanoveny pH přístrojem fy Seibold, typ GKA, celková titrační acidita (CA) metodou podle Jonova aj. (1957), amoniak mikrodifúzní metodou v Conwayových nádobkách v modifikaci podle Zappetala (1967). Těkavé mastné kyseliny jsme zjišťovali metodou, kterou vypracovali Cottyn a Boucque (1968) ve vlastní modifikaci s upravenými chromatografickými podmínkami (Jagoš aj., 1977). Počet nálevníků byl určován v komůrce podle Fuchs—Rosenthala (Jagoš aj., 1975). Molární poměr kyseliny octové ku kyselině propionové ($C_2:C_3$) byl vypočítán na základě podílu molárního zastoupení kyseliny octové a kyseliny propionové. Poměr neglukogenních kyselin ke kyselinám glukogenním (NG/GR) a energetická výtěžnost těkavých mastných kyselin (E) byly stanoveny výpočtem podle Orskova aj. (1968). Jednotlivé frakce ketolátů (aceton, kyselina acetoctová, kyselina beta-hydroxymásečná) a celkové ketolátky byly určovány plynovou chromatografií na přístroji CHROM IV s použitím „Head space“ techniky (Hradecký aj., 1981). Rovněž byl stanoven procentuální poměr koncentrací oxidovaných ketolátů ke ketolátkám celkovým (O/T). Poměr je diagnosticky citlivý, poněvadž indikuje napjatou energetickou bilanci dříve, než se začnou výrazněji zvyšovat koncentrace ketolátů.

VÝSLEDKY

Výsledky sledovaných ukazatelů v bachorové tekutině jsou uvedeny v tab. I—II.

Optimální rozsah pH pro bachorovou fermentaci se uvádí 6,0 až 7,2. V našem sledování ukazatel pH bachorové tekutiny nevybočoval z udávaného fyziologického rozmezí u souboru A, B, C, i když byly zaznamenány dynamické změny v průběhu pokusu. U souboru B byly hodnoty pH nižší než u souborů A a C, z toho nejnižší pH u souboru B měla skupina kontrolní (6,44). Naopak celková acidita (CA) u souboru B byla vyšší než u A a C. Kyselina mléčná, stanovená jen u A a B, měla hodnoty téměř stabilní ($0,38 \text{ mmol} \cdot \text{l}^{-1}$), pouze pokusná skupina v souboru A měla hodnoty poněkud nižší ($0,30 \text{ mmol} \cdot \text{l}^{-1}$), což odpovídá vyššímu pH u této skupiny. Celkové mastné kyseliny (TMK) u A a B byly zvýšeny proti udávanému fyziologickému rozmezí 80 až $120 \text{ mmol} \cdot \text{l}^{-1}$. U souboru C byly TMK spíše při dolní hranici udávaného rozmezí — $83,8 \text{ mmol} \cdot \text{l}^{-1}$ u kontrolní skupiny a $84,0 \text{ mmol} \cdot \text{l}^{-1}$ u pokusné skupiny. Molární procento kyseliny octové bylo poměrně stále u všech sledovaných souborů A, B, C, z toho pokusné skupiny souboru A a B měly hodnoty poněkud vyšší než skupiny kontrolní. U souboru C byl trend opačný. Hodnoty všech souborů byly ve fyziologickém rozmezí (55—75 mol%). Zastoupení kyseliny propionové (C₃) u souborů A, B i C bylo cca 18 mol% (rozmezí 15—20 mol%), z toho nejnižší u souboru B (cca 16,5 mol%), kde však zároveň pozorujeme vyšší zastoupení kyseliny *n*-másečné (11,7 mol%) než u souborů A a B (9,3—10,8 mol%). Kyselina izo-másečná měla nejvyšší zastoupení u kontrolní skupiny souboru C (1,86 mol%). Nejvyšší naměřené hodnoty byly u kontrolní skupiny souborů A (4,64 mol%) a B (3,87 %), u pokusných skupin byly hodnoty nižší. Poměr C₂:C₃, jakož i NG/GR, byl nejvyšší u souboru B, z toho u skupiny pokusné vyšší než u skupiny kontrolní (tab. I). Energetická výtěžnost byla přibližně na stejné úrovni u všech sledovaných souborů včetně skupin kontrolních a pokusných (cca 73,1 %). Počet nálevníků se pohyboval v průměru $2,565 \cdot 10^8 \cdot \text{l}^{-1}$. U pokusných skupin, kterým byl aplikován preparát L-Asetona, byl počet nálevníků cca o 10 % vyšší. Ketolátky v bachorové tekutině jsme sledovali u souborů A a B. Aceton byl u souboru A vyšší u pokusné skupiny, nižší u kontrolní. V souboru B tomu bylo naopak. Aceton a kyselina acetocetová byly u pokusné skupiny souboru A i B vyšší než u kontrolní. Naopak kyselina beta-hydroxymásečná byla nižší u pokusné skupiny souboru A i B. Poměr O/T byl však u pokusných skupin obou souborů vyšší než u kontroly (tab. II).

Je však třeba konstatovat, že všechny hodnoty ketolátek jak u pokusných, tak kontrolních skupin se pohybovaly na nižších hladinách, než udává Rosenberger (1970) jako hranici pro subklinickou acetoniemií.

DISKUSE

U pokusných zvířat jsme zaznamenali snížení hladin celkových ketolátek v bachorové tekutině při aplikaci antiketogenního preparátu Liuos-Asetona. Ketolátkám přísluší v energetickém metabolismu zvířat důležité místo, poněvadž rychle reagují na změny energetického stavu

I. Průměrné hodnoty ($\bar{x}$) a směrodatná odchylka (s) sledovaných ukazatelů v bachorové tekutině v průběhu celého pokusného období u souboru A = po porodu, B = před porodem a po něm (krátkodobá dynamika 28 dní), C = před porodem a po něm (dlouhodobá dynamika 78 dní); P — pokusná skupina, K — kontrolní skupina — Average values ($\bar{x}$) and standard deviations (s) of the parameters in rumen fluid all over the experimental period in sets A = after parturition, B = before and after parturition (short-term dynamics of 28 days), C = before and after parturition (long-term dynamics of 78 days); P — experimental group, K — control group

Materiál		Bachorová tekutina					
Soubor		A		B		C	
Ukazatele		P	K	P	K	P	K
pH	$\bar{x}$	6,76	6,65	6,51	6,44	6,66	6,74
	s	0,16	0,25	0,29	0,31	0,22	0,25
Celková acidita klin. jed.	$\bar{x}$	18,12	18,52	22,26	21,57	17,34	17,73
	s	7,25	7,49	4,43	4,21	3,15	3,31
Kyselina mléčná mmol.l ⁻¹	$\bar{x}$	0,30	0,38	0,38	0,38		
	s	0,05	0,08	0,06	0,04		
Celkové mastné kyseliny mmol.l ⁻¹	$\bar{x}$	165,60	171,20	138,10	147,90	84,00	83,80
	s	31,50	36,30	30,90	29,40	17,80	12,60
Kyselina octová mol ^o _o	$\bar{x}$	69,30	68,20	68,60	66,80	65,90	68,50
	s	2,90	2,90	3,10	3,40	6,70	2,50
Kyselina propionová mol ^o _o	$\bar{x}$	18,30	17,90	16,50	16,80	18,10	18,50
	s	2,20	1,80	2,10	1,60	2,00	2,20
Kyselina n-máslná mol ^o _o	$\bar{x}$	9,90	10,80	11,50	11,70	10,40	9,30
	s	1,10	2,20	1,40	1,00	1,00	1,50
Kyselina izo-máslná mol ^o _o	$\bar{x}$	2,48	4,64	3,50	3,87	2,03	1,86
	s	2,10	2,60	0,90	1,90	0,90	0,70
C ₂ : C ₃	$\bar{x}$	3,79	3,81	4,16	3,98	3,64	3,70
	s	0,54	0,45	0,67	0,47	0,52	0,49
NG/GR	$\bar{x}$	4,86	5,02	5,55	5,37	4,79	4,71
	s	0,65	0,57	0,86	0,58	0,65	0,61
Energetická výtěžnost %	$\bar{x}$	73,10	73,20	72,70	73,00	73,20	73,20
	s	0,90	0,80	1,00	0,70	0,90	0,90
Amoniak mmol.l ⁻¹	$\bar{x}$	8,73	6,96	6,43	7,26	8,53	9,00
	s	2,87	2,05	3,05	3,44	1,75	3,06
Protozoa 10 ⁸ .l ⁻¹	$\bar{x}$	2,812	2,585	2,600	2,493	2,668	2,252
	s	1,119	1,324	1,276	0,923	0,817	0,818

II. Průměrné hodnoty ($\bar{x}$) a směrodatná odchylka (s) ketoláték v bachorové tekutině v průběhu celého pokusného období u souboru A = po porodu, B = před porodem a po něm (krátkodobá dynamika 28 dní); P — pokusná skupina, K — kontrolní skupina — Average values ($\bar{x}$) and standard deviations (s) in the ketone bodies of rumen fluid throughout the experimental period in sets A = after parturition, B = before and after parturition (short-term dynamics of 28 days); P — experimental group, K — control group

Materiál		Bachorová tekutina			
Soubor		A		B	
Ukazatele		P	K	P	K
Aceton mmol.l ⁻¹	$\bar{x}$	0,032	0,028	0,057	0,076
	s	0,015	0,006	0,015	0,018
Aceton + kyselina acetoctová mmol.l ⁻¹	$\bar{x}$	0,081	0,063	0,123	0,114
	s	0,042	0,025	0,031	0,019
Kyselina beta-hydroxymáselná mmol.l ⁻¹	$\bar{x}$	0,292	0,327	0,394	0,429
	s	0,093	0,078	0,103	0,097
Celkové ketolátky mmol.l ⁻¹	$\bar{x}$	0,373	0,390	0,523	0,543
	s	0,093	0,093	0,090	0,102
O/T	$\bar{x}$	25,200	16,980	23,300	21,190
	s	15,840	5,920	5,620	3,150

organismu změnou svých koncentrací (Jagoš a Hradecký, 1981). Při ketózách dochází k charakteristickým změnám v hladinách a zastoupení jednotlivých složek ketoláték (Bergman, 1971; Baird aj., 1972). Kromě absolutních údajů o jejich koncentracích je vhodné sledovat procentuální poměr koncentrací oxidovaných ketoláték k celkovým (totálním) O/T. Poměr je diagnosticky citlivý, protože začíná reagovat na energetický nedostatek dříve, než se začnou výrazněji měnit koncentrace ketoláték. Za fyziologický poměr O/T v bachorové tekutině lze považovat hodnoty do 30 % při použití head space techniky (Hradecký, 1981).

Preparát Liuos Asetona obsahuje alkoholické cukry, propylen-glykol, natriumpropionát a melasu, které se uplatňují jako účinné zdroje energie. Alkoholické cukry odolávají mikrobiální fermentaci v bachoru a po resorpci v postrumenálním úseku gastrointestinálního traktu působí pozitivně na energetický metabolismus, funkci jater a energetickou bilanci. Antiketogenní působení některých komponentů (propylen-glykol, melasa, natriumpropionát) je známo z dřívějších prací. Stimulační vliv aditiva na metabolismus v bachorové tekutině jsme zaznamenali ve zvýšení počtu infuzorií v bachorovém ekosystému, v nepatrném zvýšení hladiny kyseliny propionové u souboru A, celkových mastných kyselin u souboru C a ve snížení hladin celkových ketoláték. Rozdíly však nebyly statisticky významné. Z výsledků se dá usuzovat na příznivé působení preparátu zvláště u krav po porodu (soubor A). Při sledování dyna-

miky před porodem a po něm, tj. krátkodobé a dlouhodobé aplikace preparátu, byly výsledky v souborech B a C rozdílné. Z výsledků je patrné, že se především uplatňují vlivy fáze laktace a charakter krmných dávek, které aplikace preparátu nemůže výrazně ovlivnit, zvláště jedná-li se o dlouhodobější působení. U vysokoprodukčních dojnic bez příznaků energetické disbalance jsou změny ve jmenovaných parametrech ještě daleko méně výrazné. Při prevenci ketóz je nutné zabývat se především nutričními faktory, poměrem živin a krytím potřeby SNL a ŠJ. U krav s nedostatkem SNL nebo s kombinovaným nedostatkem SNL a ŠJ vznikají ketonúrie i za rozšířeného poměru živin při zvyšující se tvorbě mléka. Hlavní cestou k prevenci ketóz je dodržování normovaného poměru živin, který by ani u krav s vysokým nádojem neměl klesnout pod 5,5 (Lebeda aj., 1982).

Dojnice si na konci březosti vytváří rezervu bílkovin a tuků pro nastupující laktaci. Vysokoprodukční zvířata nestačí v prvních 6 až 12 týdnech laktace krýt veškerou potřebu živin na produkci mléka a ztrácejí 10 až 25 % své tělesné hmotnosti. Mohlo by se tedy zdát, že obézní dojnice se značnými rezervami tuku jsou lépe připraveny vyrovnávat energetický deficit po porodu než dojnice v přiměřené výživné kondici s menšími rezervami tuku. Pro úspěšné zvládnutí metabolické zátěže je však důležitější schopnost zvířete krátce po porodu přijímat co největší množství krmiva než tělesné rezervy ve formě tuku, vytvořené v době zaprahnutí. Zvyšující se laktace enormně zvýší nároky na glukózový vstup. Rezervy glukózy u přežvýkavců ve formě glykogenu jsou nepatrné a jsou rychle vyčerpány. Zvládnutí metabolické zátěže v důsledku laktace je závislé na schopnosti pohotově zapojit mechanismy glukoneogenezy a maximálním příjmem krmiva zajistit přísun glukogenních prekurzorů z gastrointestinálního traktu. Tato schopnost je u obézních dojnic výrazně snížena (Morrow aj., 1976).

U alimentárních ketóz je nutné obnovit normální glykémii, normalizovat metabolismus glycidů a tuků, aby si organismus opět mohl vytvořit zásoby glykogenu v játrech. Důležitá je úprava poměru živin na normu, nebo i mírné rozšíření poměru živin, zvláště u krav s těžšími ketonúriemi nebo s klinickou formou ketózy (Baird aj., 1974; Lebeda aj., 1980).

Pozornost věnovaná využití polyolů v dietách se nejprve soustředila do oblasti humánní medicíny, když bylo zjištěno, že xylitol inhibuje růst bakterií v dutině ústní a snižuje výskyt zubního kazu (Scheinin a Mäkinen, 1974). Na základě této zjištěné rezistence polyolů k odbourávání enzymy bakterií vznikla myšlenka použít alkoholické cukry jako pohotové zdroje energie u přežvýkavců vzhledem k možnosti jejich průchodu předžaludky bez metabolizace na těkavé mastné kyseliny ruminální mikroflórou. Tento předpoklad potvrdili ve svých pokusech Poutiainen aj. (1976), kteří zjistili, že zejména xylitol, arabinitol a galactitol, které tvoří podstatnou součást alkoholických cukrů v Liuos Asetoně, jsou metabolizovány v bachorové tekutině s mnohem nižší rychlostí než například sacharóza. Rovněž tyto polyalkoholické cukry nebyly při zkrmování vylučovány ve zvýšené míře ve výkalech, ale byly absorbovány a metabolizovány zvířetem.

Antikogenní Liuos Asetona může těmito mechanismy příznivě ovlivnit zdravotní stav zvířat. Neřeší však problémy poruch energetických

kého metabolismu, pokud se v krmných dávkách vyskytují hrubé nedostatky a pokud již došlo k těžšímu stupni jaterního poškození (jaterní steatózy).

Na základě zhodnocení klinického nálezu a metabolického profilu bachorové tekutiny je možné použití tohoto preparátu u nás doporučit k prevenci poruch energetického metabolismu, pokud ovšem i relace spojené s dovozem přípravku jako celku nebo účinných polyolů budou příznivé.

Literatura

- BAIRD, G. D. — HEITZMAN, R. J. — HIBBITT, K. G.: Effects of starvation on intermediary metabolism in the lactating cow. A comparison with metabolic changes occurring during bovine ketosis. *Biochem. J.*, 128, 1972, s. 1311-1318.
- BAIRD, D. G. — HEITZMAN, R. J. — HIBBITT, K. G. — HUNTER, G. D.: Clinical problems of preventive medicine. Bovine ketosis: A review with recommendations for control and treatment. Part I. *Brit. veter. J.*, 130, 1974, s. 214-220.
- BERGMAN, E. N.: Glucose metabolism in ruminants as related to hypoglycemia. *Cornell Veter.*, 63, 1973, s. 341.
- COTTYN, E. G. — BOUCQUE, CH. V.: Rapid method for the gas-chromatographic determination of volatile fatty acids in rumen fluid. *J. Agric. Fd., Chem.*, 1, 1968, s. 105-107.
- DALE, H. L. a kol.: Ketosis and energy balance in cows during early lactation. *Norsk. veter. Tidsskr.*, 90, 1978, s. 3-10.
- DOHOO, I. R. — MARTIN, S. W.: Subclinical ketosis: Prevalence and associations with production and disease. *Can. J. comp. Med.*, 48, 1984, s. 1-5.
- DVOŘÁK, R.: Využití některých fyzikálně chemických a biologických vlastností bachorové tekutiny při diagnostice metabolických poruch. [Kandidátská disertace.] Brno 1979. 231 s. Vysoká škola veterinární. Katedra diagnostiky, terapie a prevence.
- HIBBITT, K. G.: Bovine ketosis and its prevention. *Veter. Rec.*, 105, 1979, č. 1, s. 13-15.
- HRADECKÝ, P. — JAGOŠ, P. — JANÁK, J.: Stanovení ketolátů v tělních tekutinách s použitím plynové chromatografie. *Veterinární laboratorní a klinická diagnostika, Pardubice*, 1, 1981, s. 17-24.
- JAGOŠ, P. — HRADECKÝ, P.: Klinicko-biochemické aspekty poruch energetického metabolismu. *Veterinární laboratorní a klinická diagnostika, Pardubice*, 1, 1981, s. 24-30.
- JAGOŠ, P. — ŠUPÍKOVÁ, M. — DVOŘÁK, R.: Analýza těkavých mastných kyselin v bachorové tekutině plynovou chromatografií. *Veterinářství*, 10, 1977, s. 465.
- JAGOŠ, P. — HOFÍREK, B. — DVOŘÁK, R. — ŠUPÍKOVÁ, M. — STRÍŽ, J.: Studium diagnostiky, terapie a prevence poruch bachorového trávení. [Výzkumná zpráva.] Brno, Vysoká škola veterinární 1975. 94 s.
- JONOV, P. S. — MUCHIN, V. G. — SEMUŠKIN, N. R. — FEDOTOV, A. I. — ŠARABRIN, I. G.: *Laboratornye issledovaniya v veterinarnoj kliničeskoj diagnostike*. Moskva 1957. 288 s.
- KRONFELD, D. S.: Plasma non-esterified fatty acid concentration in the dairy cow: Responses to nutritional and hormonal stimuli and significance in ketosis. *Veter. Rec.*, 77, 1965, s. 30-35.
- LEBEDA, M. — PŘIKRYLOVÁ, J. — BUŠ, A.: Krytí potřeby energetických živin v letních a zimních krmných dávkách dojníc podle fáze laktace v letech 1975—1979 a jeho vliv na některé metabolické ukazatele. *Veterinářství*, 1980, č. 6, s. 260-263.
- LEBEDA, M. — PŘIKRYLOVÁ, J. — BUŠ, A.: Ketonurie dojníc. *Veter. Med. (Praha)*, 27, 1982, č. 9, s. 513-523.
- MORROW, D. A. — HILLMAN, D. — DADE, A. W. — KITCHEN, H.: Clinical investigation of dairy herd with the fat cow syndrome. *J. Amer. veter. med. Assoc.*, 174, 1979, č. 2, s. 161-167.
- MÜLLER, K. H. — SCHÄFER, M.: Untersuchungen zur Häufigkeit und Dauer der Ketonurie bei Milchkühen. *Mh. veter. Med.*, 34, 1979, s. 481-484.
- ORSKOV, E. R. — FLATT, W. P. — MOE, P. W.: Fermentation balance approach to estimate extent of fermentation and efficiency of volatile fatty acid formation in ruminants. *J. Dairy Sci.*, 51, 1968, s. 1429-1435.

PEHRSON, B.: Studies on ketosis in dairy cows. Acta veter. scand., 1966, 7, suppl. 15.
 POUTIAINEN, E. — TUORI, M. — SIRVIÖ, I.: The fermentation of polyalcohols by rumen microbes *in vitro*. Proc. Nutr. Soc., 35, 1976, s. 140.
 RADLOFF, H. P. — SCHUTZ, B.: Blood and rumen changes in cows in early stages of ketosis. J. Dairy Sci., 50, 1967, s. 68-72.
 ROSENBERGER, G.: Krankheiten des Rindes. Berlin-Hamburg 1970. 1390 s.
 SHS (Annual Report), SHS, S-631 84 Eskilstuna, 1972.
 SCHEININ, A. — MÄKINEN, K. K.: TURKU sugar studies I—IV. Acta odontol. scand., 32, 1974, s. 383-444.
 SÖRENSEN, V. — SCHAMBYE, P.: Apparatur til udtagelse af vomindhold. Medlemsbl. Danske Dyrægeforen, 38, 1955, s. 60-63.
 VIRKKI, M.: Silážování formaldehydem, alkoholické cukry, Praha 1977, Farmous Group LTD., FINN-SPOL OY. 13 s.
 ZAPLETAL, O.: Toxicita močoviny a některé možnosti jejího ovlivnění u skotu. [Kandidátská disertace.] Brno 1967. 109 s. Vysoká škola veterinární. Katedra fyziky, chemie a biochemie.

Došlo dne 19. 12. 1987

ДВОРЖАК, Р. — ЯГОШ, П. — ПРЖИКРЫЛОВА, Я. — ГРАДИЛОВА, М. — ЗЕНДУЛКА, И. (Институт ветеринарии, Брно): **Метаболические процессы в рубце коров через антикетогенный препарат на базе полиолов Лиус Асетона.** Veter. Med. (Praha), 33, 1988 (8) : 449-458.

Влияние препарата (Фармоус Грауп) испытывали у высокопродуктивных коров с напряженным энергобалансом в дозе 300 мл на гол. сутки в группе Б (т. е. до и после отела 28 дней), в дозе 400 мл в гр. А — после отела 28 дней и в гр. В — до и после отела 78 дней в конце зимы и в переходный период, при переводе скота на летний кормовой рацион. Метаболизм прослеживали по некоторым показателям метабол. профиля рубцовой жидкости (pH, общая АС, аммиак NH_3 , молочная и общие летучие кислоты, их молярное участие, соотношение $\text{C}_2 : \text{C}_3$ и между неглюкогенными кислотами к глюкогенным $\text{NG} : \text{GR}$, энергосодержание летучих жирных кислот Е, общая численность инфузорий и уровень кетовеществ). Стимулирующее влияние добавки на этот метаболизм проявилось в недоверном росте инфузорий в экосистеме рубца и пропионовой кисл. в гр. А, а жирных кислот в гр. В, в понижении уровней кетовеществ. Но различия недоверны. Препарат может улучшать энергометаболизм и здоровье коров в период напряженного энергобаланса, но от него нельзя ожидать исправления крупных недостатков в рационах или же при серьезных повреждениях печени.

антикетогенный препарат Лиус Асетона; энергометаболизм; кетоза; метаболический профиль рубцовой жидкости

DVOŘÁK, R. — JAGOŠ, P. — PŘIKRYLOVÁ, J. — HRADILOVÁ, M. — ZEN-DULKA, I. (University of Veterinary Medicine, Brno): **Metabolic Processes in the Rumens of Dairy Cows after Ingestion of the Liuos Asetona Antiketogenic Preparation Based on Polyols.** Veter. Med. (Praha), 33, 1988 (8) : 449-458.

The effect of the Liuos Asetona antiketogenic preparation (product of Farmous Group) was studied as exerted on the rumen metabolism in high-performance dairy cows with tense energy balances. Every cow in set B (treated for 28 days before and after parturition) received 300 ml of the preparation daily, in set A (for 28 days after parturition) 400 ml, and in set C (for 78 days before and after parturition) the same dose. The treatment was performed late in winter and in the transient period when the summer feed ration was introduced. The metabolic processes were monitored on the basis of selected parameters of the metabolic profile of the rumen fluid (pH, total acidity CA, ammonia NH_3 , lactic acid, total volatile fatty acids and their molar proportions, the $\text{C}_2 : \text{C}_3$ ratio, the ratio of non-glucogenic to glucogenic acids $\text{NG} : \text{GR}$, energy yield of fatty acids Е, total number of infusorians, and the concentrations of ketone bodies). The stimulative influence of the additive on metabolism in the rumen fluid manifested itself as an insignificant increase in the number of infusorians in the rumen ecosystem, a slight increase in the content of propionic acid in set A, an increase in total

fatty acids in set C, and a decrease in the contents of total ketone bodies. However, the differences were not statistically significant. The antiketogenic preparation Lios Asetona can influence positively the energy metabolism and the health condition of dairy cows during the period of tense energy balance. But its administration can hardly be expected to remedy gross faults in the feed rations or to act where the liver has already been damaged.

antiketogenic preparation Lios Asetona: energy metabolism; ketosis; metabolic profile of rumen fluid

DVOŘÁK, R. — JAGOŠ, P. — PŘIKRYLOVÁ, J. — HRADILOVÁ, M. — ZENDULKA, I. (Veterinärmedizinische Hochschule, Brno): *Stoffwechselprozesse im Pansen von Kühen bei Anwendung eines antiketogenen Präparats auf der Basis von Polyolen Lios Asetona*. Veter. Med. (Praha), 33, 1988 (8) : 449-458.

Wir prüften den Einfluß des antiketogenen Präparats Lios Asetona (Farmous Group) auf den Pansenstoffwechsel von Hochleistungskühen mit angespannter energetischer Bilanz u. zw. in einer Dosis von 300 ml pro Stück und Tag bei der Kollektion B, d. h. vor dem Abkalben und im Zeitraum von 28 Tagen danach, in einer Dosis von 400 ml pro Stück und Tag bei der Kollektion A, d. h. im Zeitraum von 28 Tagen nach dem Abkalben und in derselben Dosis bei der Kollektion C, d. h. vor dem Abkalben und im Zeitraum von 78 Tagen danach. Das Präparat verabreichten wir am Ende des Winters und in der Übergangsperiode, wo die Tiere auf die Sommerfütterration umgestellt wurden. Die Stoffwechselprozesse wurden anhand ausgewählter Parameter des Stoffwechselprofils der Pansenflüssigkeit untersucht (pH, Gesamtsäuregrad CA, Ammoniak NH₃, Milchsäure, flüchtige Gesamtfettsäuren und deren Molarverteilung, C₂:C₃-Verhältnis, Verhältnis der nichtglukogenen Säuren zu den glukogenen Säuren NG:GR, energetische Ausbeute der flüchtigen Fettsäuren E, Infusoriengesamtzahl und Ketonkörperniveaus). Die Stimulationswirkung des Additivs auf den Stoffwechsel in der Pansenflüssigkeit kam durch eine unsignifikante Erhöhung der Infusorienzahl im Pansenökosystem, durch mäßigen Anstieg der Propionsäure bei der Kollektion A, durch einen Anstieg der Gesamtfettsäuren bei der Kollektion C und durch einen Rückgang der Gesamtketonkörperniveaus zum Ausdruck. Die Unterschiede der Werte waren jedoch statistisch unsignifikant. Das antiketogene Präparat Lios Asetona vermag den energetischen Stoffwechsel und den Gesundheitszustand der Kühe in der Periode der angespannten energetischen Bilanz günstig zu beeinflussen. Es ist jedoch nicht anzunehmen, daß das Präparat imstande wäre, grobe Mängel der Fütterationen ausgleichen zu können oder sich dort wirksam zu betätigen, wo bereits ernsthafte Leberschäden aufgetreten sind.

antiketogenes Präparat Lios Asetona; energetischer Stoffwechsel; Ketosis; Stoffwechselprofil der Pansenflüssigkeit

Adresa autorů:

Doc. MVDr. Rudolf Dvořák, CSc., prof. MVDr. Přemysl Jagoš, CSc., MVDr. Jaroslava Přikrylová, RNDr. Milada Hradilová, MVDr. Ivo Zendulka, Vysoká škola veterinární, Palackého 1-3, 612 42 Brno

MINERÁLNÍ METABOLISMUS DOJNIC PŘI POUŽITÍ ANTIKETOGENNÍHO PREPARÁTU NA BÁZI POLYOLŮ LIUOS ASETONA

P. Jagoš, R. Dvořák, I. Zendulka, J. Příkrylová, B. Vospěl

Věnováno k 60. narozeninám prof. MVDr. Ludvíka Slaniny, DrSc.

JAGOŠ, P. — DVOŘÁK, R. — ZENDULKA, I. — PŘÍKRYLOVÁ, J. — VOSPĚL, B. (Vysoká škola veterinární, Brno): *Minerální metabolismus dojníc při použití antiketogenního preparátu na bázi polyolů Liuos Asetona*. Veter. Med. (Praha), 33, 1988 (8) : 459-468.

Na žádost SVS MZVŽ ČSR byl ověřován vliv antiketogenního preparátu Liuos Asetona na minerální metabolismus u vysokoprodukčních dojníc s rizikovou energetickou bilancí. Preparát jsme podávali na konci zimy a v přechodném období při převádění zvířat na letní krmnou dávku. Dojnice byly rozděleny do tří souborů. V souboru A byl preparát aplikován dojnícím po porodu v krátkodobé dynamice 28 dnů v dávce 400 ml na kus a den, u souboru B rovněž v krátkodobé dynamice 28 dnů, a to dojnícím před porodem a po něm, v dávce 300 ml na kus a den. Dojnicím v souboru C byla Liuos Asetona aplikována před porodem a po něm v dlouhodobé dynamice po dobu 78 dnů, v dávce 400 ml na kus a den. U vybraných makroprvků (vápník, sodík, draslík, hořčík, fosfor) i mikroprvků (zinek, měď, železo) v krevní plazmě nebyly zjištěny signifikantní změny poukazující na vliv antiketogenního preparátu. V moči jsme zaznamenali signifikantní rozdíl v hladině sodíku u souboru C a nevýznamně nižší hladiny hořčíku u všech pokusných skupin. Fosfor v moči vykazoval značnou variabilitu se sklonem k hyperfosfaturii, která však nedosáhla significance. Antiketogenní preparát ovlivnil signifikantně pouze acidobazický stav moče u souboru C a jeho prostřednictvím hladiny sodíku v moči.

antiketogenní preparát Liuos Asetona; dojnice; minerální metabolismus

Minerální látky významně ovlivňují metabolické procesy a vystupují jako důležité regulátory fyzikálně chemických funkcí organismu přežvýkavců. Využitelnost minerálií záleží na mnoha faktorech a jejich potřeba musí být hrazena především dobře vybilancovanou krmnou dávkou (Veselý aj., 1984). Stejně důležité jsou i mikroelementy, které jsou nezbytné pro normální látkovou přeměnu buněk (Bergner, 1971). Jejich využitelnost je závislá na charakteru chemických vazeb, kterými jsou vázány v potravních substrátech. Přežvýkavci dobře využívají minerální látky ve formě rozpustných organických solí (Sommer aj., 1985).

Obsah minerálních látek v krmivu je velmi rozdílný a závisí na půdním typu, klimatických podmínkách, druhu rostlin a jejich vegetačním stadiu, způsobu konzervace, hnojení atd. Například hypomagneziemická tetanie a některé další metabolické poruchy přežvýkavců pocházejí z nedostatečného množství absorbovaného dietního hořčíku. Propuknutí onemocnění napomáhá nedostatek pohotových sacharidů, a proto přídatky pohotových cukrů do krmné dávky mohou vzniku onemocnění zabránit

(Metson aj., 1966). Přidávky sacharózy (House a Mayland, 1976), glukózy (Madsen aj., 1976) a laktózy (Rayssiquier a Poncet, 1980) zvýšily absorpci, popřípadě exkreci hořčiku u přežvýkavců. Obdobný vliv však nebyl pozorován po přidavcích škrobu (House a Mayland, 1976). Zvýšenou absorpci hořčiku po přidavcích glukózy, sacharózy, laktózy a škrobu zaznamenali ve svých experimentech také Giduck a Fontenot (1984). Změny v absorpci vápníku, draslíku nebo fosforu po přidavcích glukózy do diet na bázi sena nebo trávy však nebyly pozorovány (Madsen aj., 1976). Příznivý efekt pohotově fermentovatelných sacharidů na absorpci hořčiku může být způsoben nižším ruminálním pH nebo poskytováním energie pro hořčikový transport (Rayssiquier a Poncet, 1980).

Poruchy metabolismu minerálních látek u přežvýkavců vyvolávají pokles užítkovosti, poruchy reprodukce a klinicky manifestní onemocnění (Jagoš aj., 1985).

Sledovali jsme některé vybrané ukazatele minerálního profilu v interakci s použitím antiketogenního preparátu LIUOS ASETONA, vyvinutého finskou firmou Farmous Group, který by vzhledem k obsahu pohotových cukrů mohl pozitivně ovlivňovat minerální metabolismus, zejména při nadbytku dusíkatých látek.

MATERIÁL A METODY

Charakteristiku a historii vzniku preparátu popsali Dvořák aj. (1988). Metodický postup při realizaci pokusů vycházel z podmínek, které rovněž popsali Dvořák aj. (1988).

Minerální profil byl sledován v krevní plazmě a moči za tři až čtyři hodiny po nakrmení. Krev jsme odebírali z *vena jugularis*, moč katetrizací. Obsah makroprvků (sodík, draslík, vápník, hořčík) a mikroprvků (měď, železo, zinek) v krevní plazmě jsme stanovili metodou atomové absorpční spektrofotometrie na přístroji Atomspek fy RANG-HILGER. pH moče bylo měřeno přístrojem fy Seibold typ GKA. Anorganický fosfor v plazmě a moči byl stanoven Bio-La-testem firmy Lachema. Výsledky byly statisticky zhodnoceny *t*-testem na počítači HP 10.

VÝSLEDKY

Hladiny sodíku a draslíku v krevní plazmě se neodchylovaly od fyziologického rozmezí. Také hodnoty draslíku v moči byly v mezích normy. Pokud se týká sodíku v moči, u kontrolní skupiny souboru B se projevilo jeho zvýšené vylučování. U souboru C byla u pokusné skupiny naopak zjištěna hypernatriurie a dosáhla statistické významnosti ($P < 0,05$).

Hladiny vápníku v krevní plazmě u všech souborů a sledovaných skupin nepřekročily hodnoty fyziologického rozmezí, udávané pro skot. Rovněž v moči byly hladiny vápníku v normě, kromě souboru C; u tohoto souboru jsme u kontrolní skupiny zjistili jeho větší vylučování ($3,21 \text{ mmol} \cdot \text{l}^{-1}$).

V hladinách anorganického fosforu v krevní plazmě jsme nezjistili rozdíly mezi skupinou pokusnou a kontrolní. Hladiny fosforu u obou skupin nevybočovaly z fyziologického rozmezí $1,62$ až $2,26 \text{ mmol} \cdot \text{l}^{-1}$, které udávají Jagoš aj. (1981). Hladiny fosforu v moči byly značně variabilní. U souboru A u obou skupin jsme zaznamenali zvýšenou fosfaturií. Obdobný nález jsme zjišťovali u souboru B u pokusné skupiny a u souboru C u kontrolní skupiny. Změny v koncentracích fosforu však ani v těchto případech nedosáhly signifikace.

Množství hořčíku v plazmě se pohybovalo v rámci referenčních hodnot. V moči jsme zjistili snížené koncentrace u souborů A a B v pokusných i kontrolních skupinách.

Ze sledovaných mikroelementů byly v plazmě zvýšeny hladiny zinku nad fyziologické rozmezí u pokusné skupiny v souboru A ($50,44 \mu\text{mol} \cdot \text{l}^{-1}$). U této skupiny byla zjištěna také největší směrodatná odchylka, rozdíl však nebyl signifikantní.

Hladiny mědi v plazmě se neodchýlily z fyziologického rozmezí u všech sledovaných souborů a skupin. Pokusné skupiny měly obsah mědi zhruba o $2,03 \mu\text{mol} \cdot \text{l}^{-1}$ vyšší než skupiny kontrolní, i když rozdíly nedosáhly signifikance.

Pokud se týká hladin železa v plazmě, zaznamenali jsme v porovnání s referenčními hodnotami, které udávají J a g o š aj. (1981), u souboru A zvýšení nad fyziologickou hranici o $17,1 \mu\text{mol} \cdot \text{l}^{-1}$ u skupiny pokusné a o $22,6 \mu\text{mol} \cdot \text{l}^{-1}$ u skupiny kontrolní. U souboru B pokusná skupina vykazovala zvýšení nad fyziologickou hranici o $7,5 \mu\text{mol} \cdot \text{l}^{-1}$, kontrolní o $1,0 \mu\text{mol} \cdot \text{l}^{-1}$. V souboru C byly hladiny v obou skupinách v normě. Výsledky jsou uvedeny v tab. I až III a obr. 1 a 2.

DISKUSE

Minerální látky jsou v organismu řízeny složitými homeostatickými mechanismy. Jsou v neustálé dynamické rovnováze a předpokladem jejich normální hladiny v tělních tekutinách a tkáních je jejich dostatečný přísun v krmivu, odpovídající biologické potřebě zvířat a respektující jejich vzájemný poměr. Existuje celkem 70 známých minerálních in-

I. Hladiny makroprvků v krevní plazmě u sledovaných souborů A, B, C (P — pokusná skupina, K — kontrolní skupina) — The contents of macroelements in the blood plasma of cows in the sets A, B, C (P — experimental group, K — control group)

Materiál		Plazma					
Soubor		A		A		B	
Ukazatele		P	K	P	K	P	K
Sodík (Na) $\text{mmol} \cdot \text{l}^{-1}$	$\bar{x}$	143,15	142,60	140,15	145,50	143,52	143,34
	s	3,04	3,32	4,30	3,35	2,86	3,50
Draslík (K) $\text{mmol} \cdot \text{l}^{-1}$	$\bar{x}$	5,72	5,10	5,49	5,26	5,16	5,06
	s	0,33	0,79	0,55	0,41	0,38	0,29
Vápník (Ca) $\text{mmol} \cdot \text{l}^{-1}$	$\bar{x}$	2,75	2,85	2,57	2,69	2,36	2,36
	s	0,20	0,57	0,06	0,11	0,11	0,13
Fosfor (P) $\text{mmol} \cdot \text{l}^{-1}$	$\bar{x}$	2,10	2,25	2,45	2,11	1,97	2,02
	s	0,42	0,27	0,34	0,15	0,26	0,23
Hořčík (Mg) $\text{mmol} \cdot \text{l}^{-1}$	$\bar{x}$	0,90	0,90	1,01	0,92	0,99	0,96
	s	0,11	0,10	0,09	0,11	0,10	0,08

II. Hladiny mikroprvků v moči u sledovaných souborů A, B, C (P — pokusná skupina, K — kontrolní skupina) — The contents of microelements in the urine of cows in the sets A, B, C (P — experimental group, K — control group)

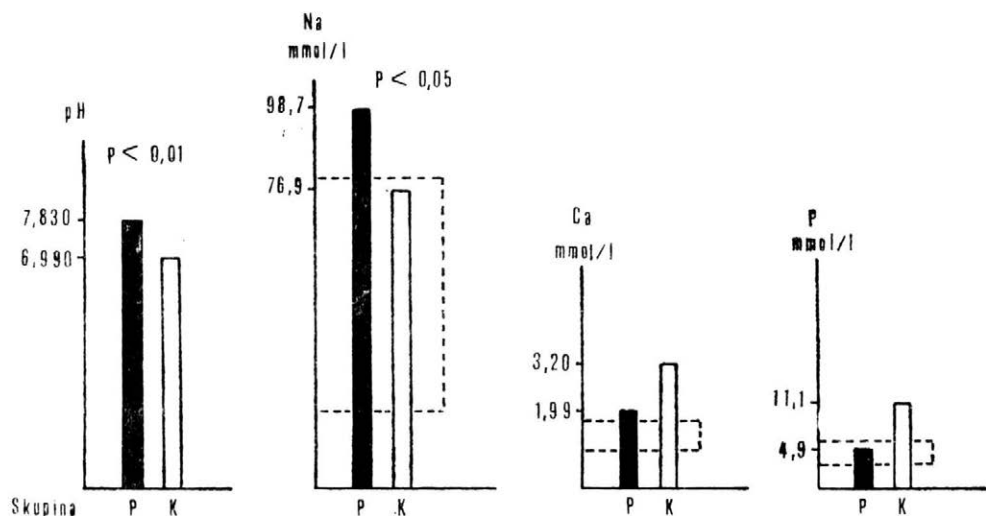
Materiál		Moč					
Soubor		A		B		C	
Ukazatele		P	K	P	K	P	K
Sodík (Na) mmol.l ⁻¹	$\bar{x}$	80,83	75,67	74,16	98,83	98,68	76,97
	s	41,39	34,16	37,03	39,10	37,03	32,28
Draslík (K) mmol.l ⁻¹	$\bar{x}$	220,00	214,80	198,30	219,05	146,06	154,28
	s	40,22	28,64	54,50	32,05	41,74	43,24
Vápník (Ca) mmol.l ⁻¹	$\bar{x}$	1,27	0,95	0,72	1,49	1,99	3,20
	s	0,64	0,71	0,19	1,08	0,81	1,68
Fosfor (P) mmol.l ⁻¹	$\bar{x}$	9,46	13,24	8,57	2,32	4,95	11,11
	s	6,26	6,97	7,22	1,44	3,23	8,15
Hořčík (Mg) mmol.l ⁻¹	$\bar{x}$	4,50	5,72	4,16	4,24	9,54	12,23
	s	3,24	2,46	4,09	1,72	5,35	6,41

terakcí, ve kterých zvýšení jednoho prvku v dietě ovlivňuje absorpci nebo utilizaci dalších minerálních látek (J a c o b s o n aj., 1971). Zvýšený přísun draslíku například snižuje absorpci hořčíku, jeho plazmovou koncentraci a vylučování močí (N e w t o n aj., 1972).

Sledovaný antiketogenní preparát Lios Asetona, obsahující alkoholické cukry, propylenglykol, propionát sodný a melasu v poměrech 40 : 10 : 5 : 45 %, neovlivnil výrazně metabolismus minerálních látek

III. Hladiny mikroprvků v krevní plazmě u sledovaných souborů A, B, C (P — pokusná skupina, K — kontrolní skupina) — The contents of microelements in the blood plasma of cows in the sets A, B, C (P — experimental group, K — control group)

Materiál		Plazma					
Soubor		A		B		C	
Ukazatele		P	K	P	K	P	K
Zinek (Zn) μmol.l ⁻¹	$\bar{x}$	50,44	40,40	25,60	25,01	24,49	28,53
	s	21,72	13,28	5,69	6,76	7,59	9,82
Měď (Cu) μmol.l ⁻¹	$\bar{x}$	13,81	10,31	13,96	11,47	17,78	17,57
	s	4,05	2,56	4,67	4,61	2,84	3,86
Železo (Fe) μmol.l ⁻¹	$\bar{x}$	52,94	58,48	43,33	36,81	27,76	27,70
	s	11,83	9,32	10,99	8,34	7,91	7,43



1. Sledované ukazatele moče u souboru C s vymezením rozmezí referenčních hodnot (P — pokusná skupina, K — kontrolní skupina) — The parameters of urine in set C with the delimitation of the range of reference data (P — experimental group, K — control group)

v jednotlivých souborech sledovaných dojníc. Signifikantní rozdíl mezi skupinou pokusnou a kontrolní ze všech sledovaných makroelementů a mikroelementů byl zjištěn pouze u sodíku u souboru C v moči. U kontrolní skupiny byla exkrece sodíku močí nižší než u pokusné skupiny (obr. 1), přičemž jeho obsah v plazmě u obou skupin tohoto souboru byl ve fyziologickém rozmezí. U tohoto souboru jsme také pozorovali signifikantní rozdíly v pH moče (obr. 1). Pokusná skupina souboru C měla v průměru pH 7,83. U kontrolní skupiny byl v moči zaznamenán signifikantní acidotický posun pH v hodnotě 6,99. Jelikož signifikantní rozdíl v pH byl zjištěn ve třech odběrech, můžeme předpokládat, že antiketogenní preparát působil příznivě v rámci pokusné skupiny spíše na úrovni acidobazické než minerální. Hodnoty sodíku v plazmě mají malý diagnostický význam na rozdíl od hodnot zjišťovaných v moči.

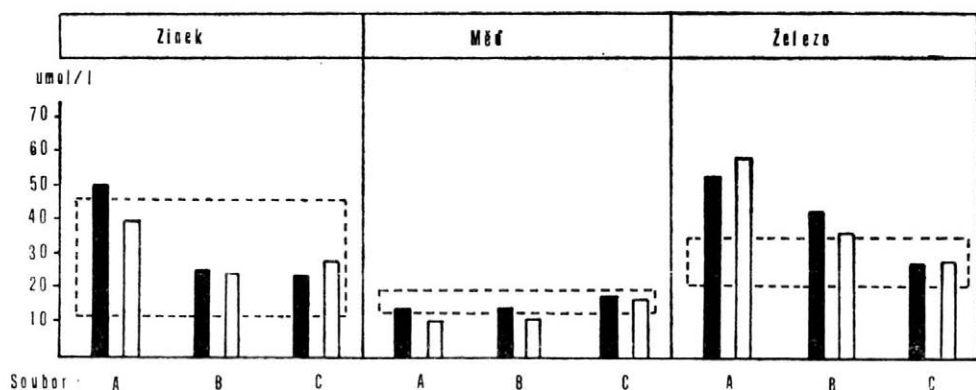
Znalost koncentrace sodíku v moči představuje vhodnou diagnostickou pomůckou pro posouzení zásobení organismu sodíkem, neboť jeho koncentrace v moči se velmi rychle snižuje při nebezpečí jeho negativní bilance (Lebeda aj., 1981). Množství sodíku v moči je třeba posuzovat i vzhledem k její kyselosti. Při acidóze se výměnou za H^+ reabsorbuje větší množství sodíku (Vrzgula, 1982). Důležitá je i skladba krmné dávky. Poměr $K/Na = 3,44$ v krmné dávce byl zúžený (norma 5,5), což svědčí o přetížení organismu sodíkem. U kontrolní skupiny souboru C, u níž byl zaznamenán acidotický posun v moči, se reabsorpce sodíku mohla zvýšit na rozdíl od skupiny pokusné, ve které pH moče bylo o 0,84 jednotek vyšší a aplikace antiketogenního preparátu příznivě ovlivňovala acidobazické poměry. U skupiny kontrolní jsme také zaznamenali větší vyplavování vápníku a fosforu močí, což odpovídá nižšímu pH u této skupiny (obr. 1). Změny v koncentraci sérového sodíku po aplikaci směsi polyolů dojnícím nezjistili ani Mäkinen aj. (1981).

Draslík v plazmě i v moči jsme našli v rozmezí fyziologických hodnot a rozdíly mezi pokusnými a kontrolními skupinami nebyly patrné. Naše výsledky v tomto smyslu odpovídají zjištěním autorů Madsen aj. (1976), kteří aplikovali pohotovité cukry do diet na bázi sena a čerstvé

píce ve formě glukózy a kteří rovněž nezjistili změny v absorpci draslíku.

Vápník v plazmě je kontrolován homeostatickými mechanismy a jeho příjem se neodráží. Absorpce vápníku je přímo závislá na příjmu, pokud není dosaženo absorpčního maxima (Braithwaite, 1978). Faktory kontrolující homeostázu závisí na jeho uvolňování z potravy a absorpci v trávicím traktu (Field, 1981). V plazmě dojníc všech sledovaných souborů byly hladiny vápníku v rozmezí fyziologických hodnot a nebyly rozdíly mezi pokusnými a kontrolními skupinami. Naše výsledky odpovídají údajům, které uvedli Madsen aj. (1976). Tito autoři sledovali absorpci a minerální profil při přidavcích glukózy k dietám na bázi sena a čerstvé zelené píce. Podobně Schingoethe a Rook (1976) nepozorovali změny v absorpci vápníku po aplikaci laktózy ve formě sušené syrovátky v množství 5 % do koncentrátů při krmných dávkách dojníc na bázi kukuřičné siláže. Podobně Mäkinen aj. (1981) nezjistili změny v hladinách vápníku a draslíku v krevní plazmě po aplikaci směsi polyolů do diet dojníc.

Anorganický fosfor v krevní plazmě se pohyboval při horní fyziologické hranici bez significance mezi jednotlivými skupinami. V tomto smyslu jsou naše výsledky v souladu se zjištěními autorů Madsen aj. (1976), kteří k dietám přidávali glukózu, nebo Schingoethe a Rook (1976), kteří k dietám na bázi kukuřičné siláže přidávali pohotovou energii ve formě laktózy. K obdobným výsledkům po aplikaci polyolů do diet dojníc dospěli Mäkinen aj. (1981). Množství anorganického fosforu v krevní plazmě se zdá být nejlepším ukazatelem jeho příjmu v krmné dávce (Labuda aj., 1973). Obsah fosforu v dietě má vliv na jeho hladinu v krevní plazmě, zatímco obsah vápníku v dietě hladinu anorganického fosforu bezprostředně neovlivňuje (Kincaid aj., 1981). Vylučování fosforu močí je určováno poměrem Ca/P a stupněm přívodu fosforu krmnou dávkou. Utilizace vápníku a fosforu závisí na jejich přiměřeném přísunu do organismu, jejich vlastním poměru a adekvátním přísunu vitamínu D (Lane aj., 1968). Pro mléčnou produkci doporučuje většina autorů poměr Ca/P 1-2:1 (Jacobson aj., 1971). Přírůstky hmotnosti a příjem potravy jsou redukovány při poměru Ca/P = 8/1 a vyšším (Kincaid aj., 1981). Dotace fosforu v krmné dávce byla dostatečná a poměr Ca/P odpovídal normě. Stupeň resorpce závisí také na vazbách fosforu v krmivu. Nepříznivý poměr vápníku a hořčíku k fosforu resorpci fosforu zhoršuje. Rovněž acidóza nebo acidogenní dieta zvyšuje renální exkreci fosforu, ačkoliv moč není hlavní cestou jeho vylučování (Jacobson aj., 1971). Námi sledované vylučování fosforu močí ukazovalo jistou dynamiku změn, i když nebyly signifikantní mezi skupinami. U souboru A, u kterého byla zjištěna zvýšená exkrece fosforu do moče jak u pokusné, tak u kontrolní skupiny, a u souboru B u pokusné skupiny (zatímco u kontrolní skupiny byla spíše pod úrovní fyziologického rozmezí), se dá usuzovat spíše na zvýšenou citlivost ledvin na parathormon (Wright, 1967), neboť poměr Ca/P v krmné dávce byl v normě. Zvýšené vylučování fosforu močí u kontrolní skupiny souboru C lze naopak přikládat změnám pH moče. Zvířata udržují homeostázu vylučováním nadbytečného fosforu výkaly nebo močí. V případech, kdy je do bacheru redukována sekrece slin, vylučování fosforu močí se významně zvyšuje (Scott, 1972). Projevují se také individuální rozdíly v absorpci fosforu, což bylo prokázáno u dvojčat (Field, 1981).



2. Průměrné hodnoty mikroelementů v krevní plazmě u jednotlivých souborů a skupin s vymezením referenčních hodnot (— — — —) — (plný sloupec = pokusná skupina) — The average values of microelements in blood plasma in the different sets and groups with the delimitation of reference data (— — — —) — (solid column = experimental group)

Obsah hořčíku v krevní plazmě se pohyboval v rámci referenčních hodnot. V moči jsme zjišťovali u všech tří pokusných skupin snížené hodnoty, i když rozdíly proti kontrolním skupinám nedosáhly signifikance. Zvýšenou absorpci a exkreci hořčíku močí po aplikaci glukózy zjistili Madsen aj. (1976). Pozitivní vliv na jeho absorpci po přidavcích škrobu do diet uvádějí také Wilson aj. (1969) a analogické změny po aplikaci laktózy zjistili Rayssiquier a Poncet (1980). Zvýšenou absorpci, retenci a exkreci hořčíku močí po aplikaci sacharidů při bilančních studiích zjistili ve svých pokusech také House a Mayland (1976) a Giduck a Fontenot (1984). Naopak žádné změny — pokud se týká resorpce a retence hořčíku po aplikaci pohotovostní energie ve formě škrobu — nezaznamenali ve svých pokusech na ovčích House a Mayland (1976) a Thompson aj. (1984). Schingoethe a Rook (1976) nezjistili signifikantní změny v resorpci minerálních látek po aplikaci laktózy ve formě sušené syrovátky. Významné změny v hladinách hořčíku po aplikaci polyolů neuvádějí ani Mäkinen aj. (1981).

Absorpce hořčíku může být snížena vyšším zastoupením vápníku a fosforu v dietě (Kincaid aj., 1981). Absorpce je také ovlivňována aktuální aciditou a obsahem bílkovin a vápníku v séru. Se stoupajícím pH, obsahem bílkovin a s klesajícím množstvím vápníku se zvyšuje vazebná schopnost hořčíku (Wiesner, 1977).

Všechny čtyři sledované makroprvky jsou úzce spjaty s mnoha metabolickými procesy v organismu. Jejich dysbalance a vzájemné interakce jsou však někdy obtížně diagnostikovatelné (Jacobson aj., 1972; Jagoš aj., 1985).

Z mikroelementů jsme v krevní plazmě sledovali zinek, měď a železo. Rozdíly mezi skupinami nebyly signifikantní ani u jednoho sledovaného souboru.

Obr. 2 ukazuje dynamiku jednotlivých sledovaných mikroprvků. Vyšší obsah železa, zjištěný v souborech A a B, mohl v těchto případech způsobit částečnou depresi hladiny mědi, poněvadž využitelnost a vstřebatelnost mědi se snižuje se stoupajícím obsahem železa v krmivu. Při nadbytku železa v potravě dochází v těle zvířat k samovolné regulaci

jeho absorpce, ale déle trvající vysoký nadbytek železa může také nepříznivě ovlivňovat absorpci fosforu v důsledku tvorby nerozpustných fosforečnanů (Hidiroglou, 1979). Využití mědi je spojeno s působením dalších prvků, jako jsou molybden a kobalt, které jsme nesledovali. Hladiny železa po aplikaci polyolů sledovali Mäkinen aj. (1981). Změny v koncentraci sérového železa v souvislosti s aplikací preparátů na bázi polyolů dojnícím však nezjistili.

Zinek v plazmě přesáhl horní fyziologickou mez pouze u pokusné skupiny souboru A, ale rozdíl nedosáhl signifikance. Zvýšené hladiny zinku v důsledku vyššího obrátu u dojnic vysokobřezích a po porodu zjistil Hidiroglou (1980).

Při posuzování minerálního metabolismu dojnic jsme brali v úvahu více vzájemných interakcí, a proto můžeme konstatovat, že ve sledované dynamice minerálních látek se více uplatnily vlivy krmné dávky a neurohumorálních regulací než vlivy antiketogenního přípravku. Také rozdíly v hladinách sodíku v moči u souboru C byly způsobeny spíše změnami acidobazického stavu, než přímým působením antiketogenního preparátu.

Literatura

- BERGNER, H.: Výživa zvířat. Bratislava, Příroda 1971, 132 s.
- BRAITHWAITE, D. G.: The effect of dietary calcium intake of ewes in pregnancy on their calcium and phosphorus metabolism in lactation. Brit. J. Nutr., 39, 1978, s. 213-218.
- DVOŘÁK, R. — JAGOŠ, P. — PŘIKRYLOVÁ, J. — HRADILOVÁ, M. — ZENDULKA, I.: Metabolické procesy v bacheru dojnic při použití antiketogenního preparátu na bázi polyolů Liuos Asetona. Veter. Med. (Praha), 33, 1988, č. 8, s. 449-458.
- FIELD, A. C.: Some thoughts on dietary requirements of macroelements for ruminants. Proc. Nutr. Soc., 40, 1981, 267 s.
- GIDUCK, S. A. — FONTENOT, J. P.: Influence of readily available carbohydrates on magnesium absorption in ruminants. Can. J. anim. Sci., Suppl., 1984, s. 217-218.
- HIDIROGLOU, M.: Trace elements deficiencies and fertility in ruminant: a review 1. Dairy Sci., 62, 1979, s. 1195-1206.
- HIDIROGLOU, M.: Trace elements in the fetal and neonatal ruminant. Can. veter. J., 21, 1980, s. 328-335.
- HOUSE, W. A. — MAYLAND, H. F.: Magnesium utilization in wethers fed diets with varying ratios of nitrogen to readily fermentable carbohydrate. J. anim. Sci., 43, 1976, s. 842-849.
- JACOBSON, R. D. — HEMKEN, W. R. — BUTTON, F. F. — HATTON, H. R.: Mineral nutrition, calcium, phosphorus, magnesium and potassium interrelationship. J. Dairy Sci., 55, 1971, s. 935-943.
- JAGOŠ, P. a kol.: Základní biochemické a hematologické hodnoty u domácích zvířat a nové způsoby vyjadřování výsledků laboratorního vyšetření. Pardubice, SVS, odd. veter. osvěty, 585, 1981, 29 s.
- JAGOŠ, P. — ILLEK, J. — BOUDA, J. — STRÍŽ, J. — DVOŘÁK, R.: Systém preventivní diagnostiky produkčních a metabolických poruch ve velkochovech. [Výzkumná zpráva.] Brno, Vysoká škola veterinární 1985, 61 s.
- KINCAID, L. R. — HILLER, K. J. — CRONRATH, D. J.: Calcium and phosphorus supplementation ration for lactating cows. J. Dairy Sci., 64, 1981, s. 754-758.
- LABUDA, J. a kol.: Fosfor a užitkovost hospodářských zvířat. Bratislava, Příroda 1973, 158 s.
- LEBEDA, M. — PŘIKRYLOVÁ, J. — BUŠ, A.: Minerální výživa a její projevy v koncentraci makroprvků v krvi a moči dojnic. Pardubice, SVS, odd. veter. osvěty, 2, 1981, 91 s.
- LANE, A. G. — CAMPBELL, J. R. — KRAUSE, G. F.: Blood mineral composition in ruminants. J. anim. Sci., 27, 1968, s. 766-770.
- MADSEN, F. C. — LENTZ, D. E. — MILLER, J. K. — HANSARD, S. L.: Dietary carbohydrate effects upon magnesium metabolism in sheep. J. anim. Sci., 42, 1976, s. 1316-1322.
- MÄKINEN, K. K. — HÄMÄLÄINEN, M. — TUORI, M. — POUTAINEN, E.:

- A polyol mixture in the diet of dairy cows. Nutr. Rep. Int., 43, 1981, č. 6, s. 1077-1087.
- METSON, A. J. — SAUNDERS, W. M. H. — COLLIE, T. W. — GRAHAM, V. W.: Chemical composition of pastures in relation to grass tetany in beef breeding cows. N. Z. J. agric. Res., 9, 1966, s. 410-436.
- NEWTON, G. L. — FONTENOT, J. P. — TUCKER, R. E.: Effects of high dietary potassium intake on the metabolism of magnesium by sheep. J. anim. Sci., 35, 1972, s. 440-452.
- RAYSSIGUIER, Y. — PONCET, C.: Effect of lactose supplementation on digestion of lucerne hay by sheep. II. Absorption of magnesium and calcium in the stomach. J. anim. Sci., 51, 1980, s. 186-192.
- SCHINGOETHE, D. J. — ROOK, J. A.: Ration digestibility and mineral balance in lactating cows fed rations containing dried whey. J. Dairy Sci., 59, 1976, s. 992-996.
- SCOTT, D.: Changes in mineral water and acid base balance associated with feeding and diet. In: Digestion and metabolism in ruminant. New England, 1972, s. 205-216.
- SOMMER, A. a kol.: Výživa a krmienie hospodárskych zvierat. Bratislava, Príroda 1985. 279 s.
- THOMPSON, J. K. — GELMAN, A. L. — JESSIMAN, C. S.: Effect of digestible carbohydrate on the apparent absorption of magnesium by wether lambs. Can. J. anim. Sci., Suppl., 1984, s. 219-220.
- VIRKKI, M.: Silážování formaldehydem, alkoholické cukry. Praha 1977, Farmous Group LTD., Finn-Spol OY, 13 s.
- VESELY, Z. aj.: Výživa a krmienie hospodárskych zvierat. 1. vyd. Praha, Státní zemědělské nakladatelství 1984. 356 s.
- VRZGULA, L. a kol.: Poruchy látkového metabolismu hospodárskych zvierat a ich prevencia. 1. vyd. Bratislava, Príroda 1982. 492 s.
- WILSON, G. F. — REID, C. S. W. — MOLLOY, L. F. — METSON, A. J. — BUTLER, G. W.: Grass tetany. I. Influence of starch and peanut oil supplements on plasma magnesium, calcium and phosphorus levels in grazing dairy cows. N. Z. J. agric. Res., 12, 1969, s. 467-479.
- WRIGHT, S.: Klinická fyziologie. 11. vyd. Praha, Státní zdravotnické nakladatelství 1967. 679 s.
- WIESNER, E.: Rinderkrankheiten. Berlin, Paul Parey 1977. 388 s.

Došlo dne 9. 12. 1987

ЯГОШ, П. — ДВОРЖАК, Р. — ЗЕНДУЛКА, И. — ПРЖИКРЫЛОВА, Я. — ВОСПЕЛ, Б. (Институт ветеринарии, Брно): Минеральный метаболизм коров под воздействием антикетогенного препарата на базе полиолов Лиуос Асетона. Veter. Med. (Praha), 33, 1988 (8) : 459-468.

По требованию МСХПд ЧСР испытано влияние этого препарата на минеральный метаболизм высокопродуктивных коров с критическим энергобалансом. Препарат подавали в конце зимы и в переходный период при переводе скота на летний рацион. Коров разделили на 3 группы: в гр. А его давали после отела в течение 28 дней в дозе 400 мл на гол./сутки; в гр. Б — 28 дней до и после отела в дозе 300 мл; в гр. В — 78 дней до и после отела в дозе 400 мл. Анализы макроэлементов (кальций, натрий, калий, магний, фосфор) и микроэлементов (цинк, медь, железо) в кровяной плазме не отмечено значимых изменений, показывающих влияние антикетогенного препарата. В моче же отмечена значимая разница в уровне натрия в гр. В и незначимая — в уровне магния во всех группах. Фосфор в моче значительно варьировал с тенденцией к гиперфосфатемии, но без достоверного значения. Препарат значимо повлиял лишь на кислотно-основной характере мочи в гр. В и посредством этого — на уровне натрия в моче.

антикетогенный препарат Лиуос Асетона; коровы; минеральный метаболизм

JAGOŠ, P. — DVOŘÁK, R. — ZENDULKA, I. — PŘIKRYLOVÁ, J. — VOSPĚL, B. (University of Veterinary Medicine, Brno): Mineral Metabolism of Dairy Cows with the Use of the Liuos Asetona Antiketogenic Preparation Based on Polyols. Veter. Med. (Praha), 33, 1988, (8) : 459-468.

The effect of the Lios Asetona antiketogenic preparation on mineral metabolism was studied in high-performance dairy cows with risky energy balances, on request of the State Veterinary Administration of the Ministry of Agriculture and Food of the Czech Socialist Republic. The preparation was administered late in winter and during the transient period when the summer feed ration was introduced. The cows were divided into three sets. In set A the cows were treated with the preparation at the dose of 400 ml per head/day for a short period (28 days) after parturition, in set B the cows received the dose of 300 ml for a short period (28 days) before and after parturition, and in set C the preparation was administered at the dose of 400 ml per head/day in a long period (78 days) before and after parturition. No significant changes that would suggest an influence of the antiketogenic preparation were recorded in the contents of macroelements (calcium, sodium, potassium, magnesium, phosphorus) and microelements (zinc, copper, iron) in blood plasma. In urine a significant difference was observed in the content of sodium in set C, and insignificantly lower contents of magnesium were recorded in all experimental groups. Phosphorus concentrations in urine were highly variable with a tendency to hyperphosphaturia, which however remained insignificant. The preparation had a significant influence only on the acid-base state of the urine in set C and, consequently, on sodium content in urine.

antiketogenic preparation Lios Asetona; dairy cow; mineral metabolism

JAGOŠ, P. — DVOŘÁK, R. — ZENDULKA, I. — PŘIKRYLOVÁ, J. — VOSPĚL, B. (Veterinärmedizinische Hochschule, Brno): *Mineralischer Stoffwechsel von Kühen unter Anwendung eines antiketogenen Präparats auf der Basis von Polyolen Lios Asetona*. Veter. Med. (Praha), 33, 1988 (8) : 459-468.

Der Aufforderung des Staatlichen Veterinärdienstes des Ministeriums für Landwirtschaft und Ernährung der CSR folgend prüften wir den Einfluß des antiketogenen Präparats Lios Asetona auf den mineralischen Stoffwechsel von Hochleistungskühen mit energetischer Risikobilanz. Das Präparat verabreichten wir am Ende des Winters und in der Übergangsperiode, wo die Tiere auf die Sommerfütteration umgestellt wurden. Die Kühe waren in drei Kollektionen eingeteilt. Bei der Kollektion A wurde das Präparat nach dem Abkalben der Kühe in kurzfristiger Dynamik 28 Tage lang in Gaben von 400 ml pro Stück und Tag appliziert, bei der Kollektion B ebenfalls in kurzfristiger Dynamik 28 Tage lang u. zw. an Kühe vor und nach dem Abkalben, wobei in diesem Fall die Dosen 300 ml pro Stück und Tag betrugen. An Kühe der Kollektion C wurde Lios Asetona vor dem Abkalben sowie danach in langfristiger Dynamik im Verlauf von 78 Tagen, in Gaben von 400 ml pro Stück und Tag, verabreicht. Sowohl bei den ausgewählten Makroelementen (Kalzium, Natrium, Kalium, Magnesium, Phosphor) als auch bei den Mikroelementen (Zink, Kupfer, Eisen) wurden im Blutplasma keine signifikanten, auf den Einfluß des antiketogenen Präparats zurückzuführenden Veränderungen festgestellt. Im Harn wurde ein signifikanter Unterschied beim Natriumspiegel bei der Kollektion C und unsignifikant niedrigere Magnesiumspiegel bei allen Versuchsgruppen festgestellt. Der Phosphor im Harn wies eine beträchtliche Variabilität, mit Inklination zur Hyperphosphaturie auf, wobei diese jedoch die Signifikanzschwelle nicht erreichte. Das antiketogene Präparat beeinflusste in signifikantem Maße nur den azidobasischen Zustand des Harns bei der Kollektion C und infolgedessen die Natriumspiegel im Harn.

antiketogenes Präparat Lios Asetona; Milchkühe; mineralischer Stoffwechsel

Adresa autorů:

Prof. MVDr. Přemysl Jagoš, CSc., doc. MVDr. Rudolf Dvořák, CSc., MVDr. Ivo Zendulka, MVDr. Jaroslava Přikrylová, ing. Bohumír Vospěl, Vysoká škola veterinární, Palackého 1-3, 612 42 Brno

ZMENY AKTIVITY ALT, AST A ALKALICKEJ FOSFATÁZY V KRVNOM SÉRE DOJNÍC V PRIEBEHU 24 HODÍN

J. Gabriš, A. Ďuran

GABRIŠ, J. — ĎURAN, A. (Vysoká škola veterinárska, Košice): *Zmeny aktivity ALT, AST a alkalickéj fosfatázy v krvnom sére dojníc v priebehu 24 hodín*. Veter. Med. (Praha), 33, 1988 (8) : 469-474.

Od štyroch zdravých kráv čiernostrakatého plemena sme odoberali vzorky krve z *vena subcutanea abdominis sinistra* v jedn hodinových intervaloch v priebehu 24 hodín. Zo získaných vzoriek sme pomocou Bio-La-testov zistili aktivitu alaninaminotransferázy (ALT), aspartátaminotransferázy (AST) a alkalickéj fosfatázy. Aktivita týchto enzýmov má značne výraznú dynamiku v priebehu 24 hodín. ALT a AST mali hodnoty menej vyrovnané, keď variačný koeficient bol okolo 20 % (AST 0,484 μ kat, ALT 0,389 μ kat). Alkalická fosfatáza mala hodnoty značne vyrovnané (1,114 μ kat) s variačným koeficientom $v = 3,07$ %. Aktivita AST bola najvyššia o 14.00 hodine, po poklese sa znovu zvýšila do 23.00 a 01.00 hodiny a ďalej nerovnomerne klesala do 11.00 hodiny. Poobede mala aktivita ALT vyrovnanú hladinu, potom o 22.00 a 23.00 hodine bolo prechodné zvýšenie s následným klesaním do 11.00 hodiny. Aktivita alkalickéj fosfatázy mierne stúpala s prechodným zvýšením o 20.00 hodine.

transaminázy; aktivita plazmatických enzýmov; variabilita aktivity enzýmov

Medzi konštitučne a úžitkove odlišnými typmi hovädzieho dobytku existujú rozdiely (Mácha a i., 1972; Mazmunder a Spooner, 1973; Antal a i., 1983). Zvieratá inklinujúce viac k produkcii mäsa majú vyššiu aktivitu najmä glykolytických enzýmov (aldoláza, LDH) a nižšiu aktivitu najmä aminotransferáz AST, ALT a dehydrogenázy kyseliny jablčnej (MDH), ktoré prevládajú pri typoch inklinujúcich k vyššej produkcii mlieka. Graf a i. (1978) poukazujú na to, že vysokoproduktívne zvieratá majú vyššiu aktivitu uvádzaných enzýmov ako priemerné dojnice.

Zmeny aktivity plazmatických enzýmov a koncentrácie metabolitov pomerne objektívne vyjadrujú priebeh procesov, ktoré sa dejú v organizme počas rastu (Bulla, in: Antal a i., 1983), vývinu a produkcie. Opakovateľnosť aktivity plazmatických enzýmov a koncentrácie metabolitov je rôzna a závisí od genetického fondu testovaných zvierat (Mácha a i., 1972; Bondarenko a i., 1977; Graf a i., 1979; Bulla a i., 1980). Hodnoty alkalickéj fosfatázy s vekom hodnotených zvierat klesajú (Antal a i., 1983). Hladina aktivity plazmatických enzýmov a koncentrácie metabolitov sa mení v priebehu laktácie (Furtmayr a i., 1979) i v priebehu dňa (Page a i., 1960; Hagemeister a Unshelm, 1968; Unshelm a Rappen, 1969; Graf a i., 1978). oveľa častejšie je sledovaná dynamika aktivity plaz-

matických enzýmov v krvi zdravých ľudí aj pacientov, ako to citujú Massarata (1964), Seaman a i. (1965), Hagemester a Unshelm (1968).

Našou prácou chceme prispieť k bližšiemu poznaniu cirkadiálnej aktivity niektorých plazmatických enzýmov (ALT, AST, alkalickéj fosfatázy) v krvnom sére dojnic na vrchole laktácie.

MATERIÁL A METÓDA

Od štyroch pokusných dojnic čierostrakatého nížinného plemena na ŠM Košice, hospodárstvo Haniska, sme odoberali vzorky krvi z *vena subcutanea abdominis sinistra* v jednodinových intervaloch počas 24 hodín.

Vybraté dojnice boli zdravé, ustajnené vedľa seba, ošetrované a kŕmené rovnako, aby vplyv vonkajších faktorov bol obmedzený na minimum. 48 hodín pred prvým odberom im boli zavedené do *vena subcutanea abdominis sinistra* kanyly podľa vlastného postupu (Duran a i., 1985). Dojnice boli rovnako staré (na druhej laktácii) a v rovnakom štádiu laktácie (dva až tri mesiace po otelení).

Vzorky boli bezprostredne po odobratí dopravené do laboratória, kde sa hneď spracovali. Na zistenie aktivity plazmatických enzýmov sme použili Bio-La-testy Lachema.

Výsledky sme spracovali variačne štatisticky s určením 5% intervalu spoľahlivosti.

VÝSLEDKY

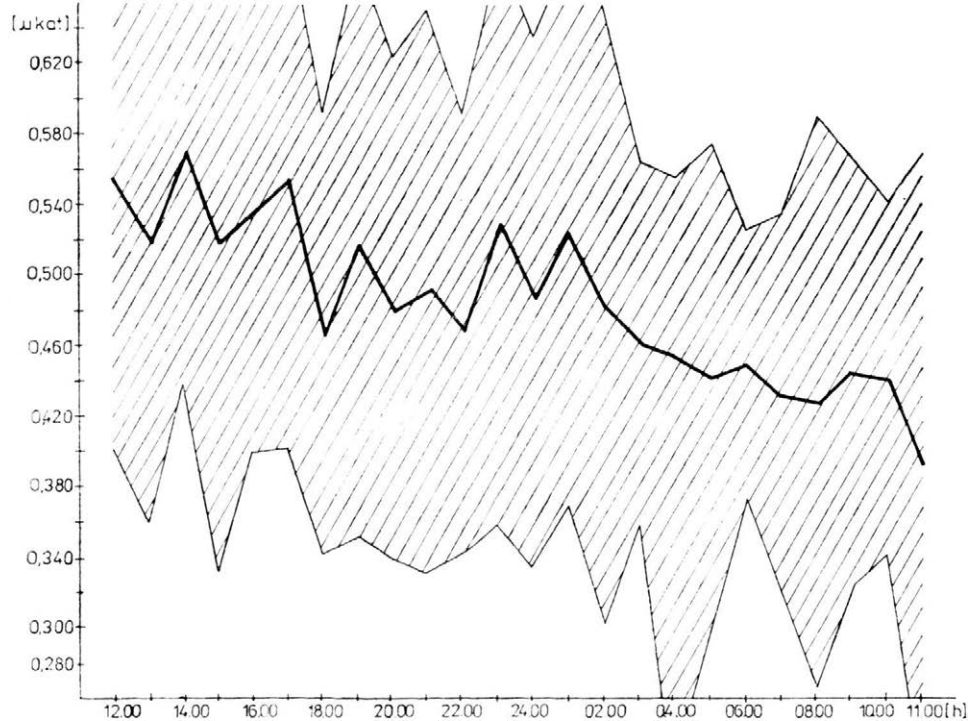
Hodnoty aktivity plazmatických enzýmov v krvnom sére dojnic v priebehu dňa kolíšu okolo 0,484 μ kat pre AST, 0,389 μ kat pre ALT a 1,114 μ kat pre alkalickú fosfatázu (tab. I). Variabilita AST a ALT je vyššia, variačný koeficient v je okolo 20 %; alkalická fosfatáza je málo variabilná, variačný koeficient v je len 3,07 %. Priemery sú z 96 vzoriek odobratých od štyroch kráv každú hodinu počas 24 hodín.

Aktivity jednotlivých sledovaných plazmatických enzýmov v priebehu 24 hodín majú výraznú dynamiku. Najvyššia hodnota aktivity AST bola 0,572 μ kat o 14.00 hodine, najnižšia 0,394 μ kat o 11.00 hodine. Od 14.00 hodiny aktivita enzýmu nerovnomerne klesala, potom od 23.00 hodiny do 01.00 hodiny mala znovu zvýšenú hodnotu a následne klesala až do 11.00 hodín, keď pokles od 10.00 do 11.00 hodiny bol značne prudký, a opäť od 11.00 do 12.00 hodiny došlo k prudkému zvýšeniu (obr. 1).

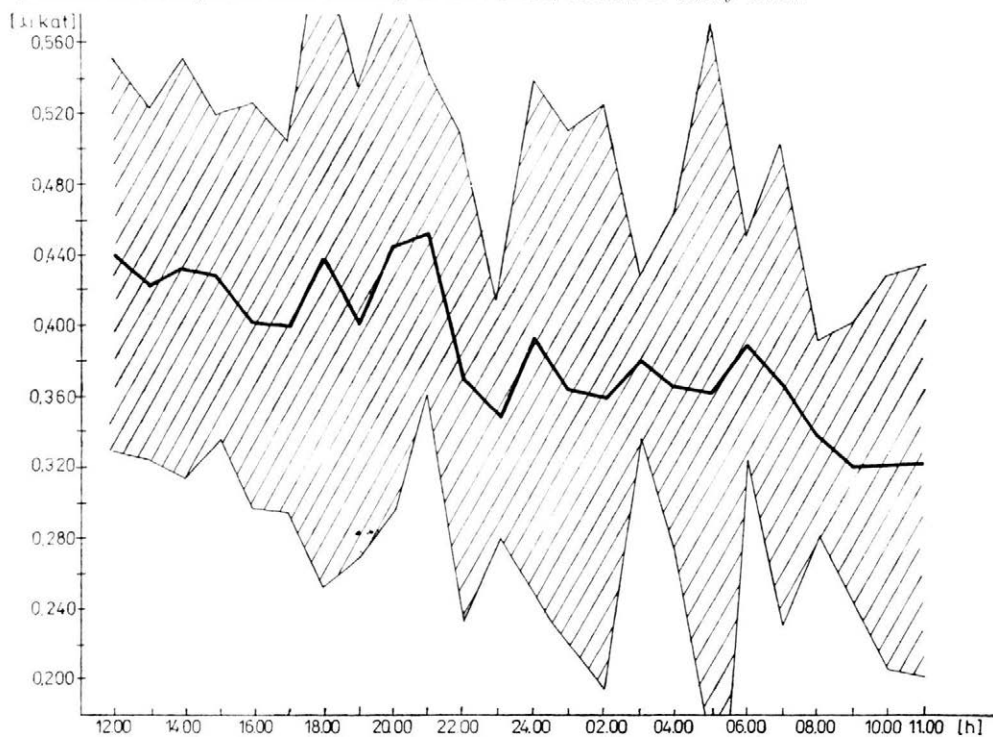
Aj aktivita ALT mala výraznú dynamiku, ktorú možno charakterizovať ako nerovnomernú hladinu od 12.00 do 19.00 hodiny; potom došlo

I. Priemerné hodnoty aktivity AST, ALT a alkalickéj fosfatázy v krvi dojnic za 24 hodín — The average values of AST, ALT and AP activities in the blood of dairy cows for 24 hours

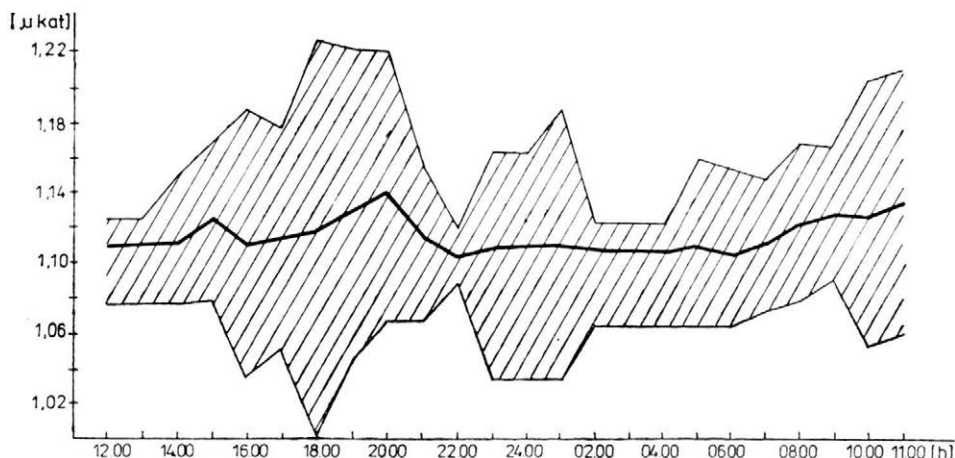
Ukazovateľ	$\bar{x} \pm s_{\bar{x}}$	s	v	5% interval spoľahlivosti
AST μ kat	0,484 $\pm$ 0,009	0,094	19,36	0,466 $\leq \bar{x} \leq$ 0,502
ALT μ kat	0,389 $\pm$ 0,008	0,079	20,43	0,373 $\leq \bar{x} \leq$ 0,405
Alkalická fosfatáza μ kat	1,114 $\pm$ 0,003	0,034	3,07	1,108 $\leq \bar{x} \leq$ 1,120



1. Dynamika AST v krvnom sére dojníc v priebehu 24 hodín — The circadian pattern of changes in AST activity in the blood serum of dairy cows



2. Dynamika ALT v krvnom sére dojníc v priebehu 24 hodín — The circadian pattern of changes in ALT activity in the blood serum of dairy cows



3. Dynamika alkalické fosfatázy v krvnom sére dojnic v priebehu 24 hodín — The circadian pattern of changes in AP activity in the blood serum of dairy cows

k prechodnému zvýšeniu o 20.00 a 21.00 hodine a následnému nerovnomernému klesaniu do 11.00 hodiny. Najvyššia hodnota aktivity ALT bola o 21.00 hodine (0,452 μ kat), najnižšia o 11.00 hodine (0,322 μ kat) s prudkým zvýšením znovu k 12.00 hodine (obr. 2).

Aktivita alkalické fosfatázy veľmi slabó stúpala od 12.00 hodiny do 11.00 hodiny ďalšieho dňa (od 1,100 μ kat po 1,137 μ kat) s prechodným zvýšením (na 1,142 μ kat) o 20.00 hodine. Najnižšia hodnota bola (1,100 μ kat) o 12.00 hodine a rovnaká aj o 23.00 a 24.00 hodine (obr. 3).

DISKUSIA

Pri porovnaní s dynamikou metabolitov krvi dojnic za 24 hodín je dynamika aktivity AST, ALT a alkalické fosfatázy výraznejšia (Gabriš a Ďuran, 1987).

Dynamické zmeny v priebehu dňa zistené jednotlivými autormi môžu byť oproti našim výsledkom čiastočne odlišné, zhoda je v tom, že dynamika aktivity plazmatických enzýmov je značne výrazná v súvisi s vekom, štádiom laktácie a dennou dobou.

Page a i. (1960) sledovali zmeny v aktivite ALT a AST od 4.00 do 20.00 hodiny denne, pričom zvieratá boli na paši vystavené priamemu slnečnému žiareniu. V ich sledovaniach aktivita ALT od 4.00 do 16.00 hodiny stúpala dosť prudko, potom klesala, aktivita AST od 4.00 do 20.00 hodiny stále skoro rovnomerne stúpala.

Podľa Unshelma a Flocka (1967) aktivita alkalické fosfatázy v priebehu laktácie zo začiatku klesala pomerne prudko, potom mierne.

Hagemester a Unshelm (1968) sledovali aktivitu ALT a AST od 8.00 do 18.00 hodiny denne v štvorhodinových intervaloch. Zistili, že aktivita týchto enzýmov sa zvyšovala skoro rovnomerne do 16.00 hodiny, potom do 18.00 hodiny nepatrne klesala.

Graf a i. (1979) zistili podobne ako Unshelm a Flock (1967), že v priebehu laktácie aktivita transamináz od prvých dní po pôrode, kedy je najvyššia, postupne klesala, najskôr prudkejšie, od piatich týždňov len mierne. Ako uvádzajú Furtmayr a i. (1979),

enzymatická aktivita a koncentrácie metabolitov v krvnom sére je vo vzťahu k výške produkcie mlieka. Tým naviazali na predchádzajúcu prácu [Graf a i., 1977], ktorej autori zistili, že aktivita ALT a ďalších enzýmov je v kladnom, signifikantnom vzťahu k produkcii mlieka, hladina glukózy v zápornom vzťahu a aktivita LDH a CK na vzťahy k výške produkcie mlieka neukazuje.

Na základe uvedených výsledkov vidieť, že je potrebné bližšie sa zaoberať súvislosťami medzi aktivitou transamináz, krvných metabolitov a dojivosťou kráv, odhliadnuc od ich významu pre iné účely.

Literatúra

- ANTAL, J. — BULLA, J. a kol.: Mäsová úžitkovosť slovenského strakatého dobytká. Bratislava, SAV 1983.
- BONDARENKO, G. A. — GUSEVA, H. I. a kol.: Nasledujemost urovnej soderžania metabolitov krvi u krupnogo roगतого skota v rozličnye vozrastnye periody i sezony goda. Genetika, 13, 1977, č. 3, s. 439-450.
- BULLA, J. a kol.: Morfológické a biochemické vlastnosti tkanív rôznych plemien a krížencov hospodárskych zvierat. [Výskumná správa.] Nitra, VÚŽV 1980.
- ĐURAN, A. — GABRIŠ, J. a kol.: Naše poznatky z kanylácie ciev u hovädzieho dobytká z *venae subcutaneae abdominis sinistra et dextra*. In: Zbor. XX. zasadnutia sekcie chirurgie, ortopedie a röntgenológie spoločnosti veter. lekárov. Prešov 1985.
- FURTMAYR, L. — OSTERKORN, K. a kol.: Enzymaktivitäten und Metabolitenkonzentrationen im Blutserum von Milchkühen als Messgrösse für die Reaktion auf die Leistungsbelastung. III. Faktorenanalyse der Serumwerte und die Beziehung der Faktoren zur Milchleistung. Z. Tierzücht. Zücht.-Biol., 95, 1979, č. 3-4, s. 240-245.
- GABRIŠ, J. — ĐURAN, A.: Hladina niektorých metabolitov v krvi kráv počas 24 hodín. Veter. Med. (Praha), 32, 1987, č. 7, s. 399-407.
- GRAF, F. — FURTMAYR, L. a kol.: Enzymaktivitäten Metabolitenkonzentrationen im Blutserum von Milchkühe als Messgrösse für die Reaktion auf die Leistungsbelastung. I. Die Korrelationen der Serumwerte mit der Milchleistung. Z. Tierzücht. Zücht.-Biol., 94, 1978, č. 4, s. 171-177.
- GRAF, F. — FURTMAYR, L. a kol.: Enzymaktivitäten Metabolitenkonzentrationen im Blutserum von Milchkühe als Messgrösse für die Reaktion auf die Leistungsbelastung. II. Die Wirkung von Einflüssen auf die Serumwerte und die Wiederholbarkeit von Laktation zu Laktation. Z. Tierzücht. Zücht.-Biol., 95, 1979, č. 3-4, s. 232-239.
- HAGEMEISTER, H. — UNSHELM, J.: Individuelle-, Tages- und Tageszeitabhängige Schwankungen von Blutbestandteilen beim Rind. 2. Mitteilung. Das Verhalten von Enzymaktivität von GOT, GPT, LDH, MDH, CLDH und alkalische Phosphatase. Zbl. Veter.-Med., R. A., 15, 1968, č. 6, s. 499-509.
- MÁCHA, J. — DVOŘÁK, J. a kol.: Studium hladiny některých enzymů v krevním séru různých plemen a jejich kríženců. Acta Univ. (Brno), 20, 1972, č. 1, s. 99-111.
- MASSARATA, S.: Tageschwankungen der Enzymaktivität der Glutamatacetylacetat-, Glutamat-Pyruvat-Transaminasen und Laktodehydrogenase im Serum von Leberkranken und Gesunden. Klin. Wschr., 42, 1964, č. 3, s. 91-94.
- MAZMUNDER, N. — SPOONER, R.: Anim. blood groups. Biochem. Genet., 4, 1973, s. 18.
- PAGE, H. N. — ERWIN, E. S. — NELM, G. E.: Effect of solar radiation on variations of blood constituents in cattle. J. Dairy Sci., 43, 1960, č. 1, s. 99-100.
- SEAMAN, G. V. F. — ENGEL, R. a kol.: Circadian periodicity in some physiological parameters of circulating blood. Nature, 207, 1965, č. 21, s. 833-835.
- UNSHELM, J. — FLOCK, D.: Die Konzentration des anorganischen Phosphors und die Aktivität der alkalischen Phosphatase im Blutplasma von Rindern in Abhängigkeit vom Alter und anderen Einflussfaktoren. Zbl. Veter.-Med., R. A., 14, 1967, č. 6, s. 528-547.
- UNSHELM, J. — RAPPEN, W. H.: Individuelle, Tages- und Tagesabhängige Schwankungen von Blutbestandteilen beim Rind. 1. Mitteilung. Das Verhalten der Mineralstoffe Natrium, Kalium, Kalzium, Magnesium und anorganischem Phosphor. Zbl. Veter.-Med., R. A., 15, 1968, č. 5, s. 418-437.

Došlo dňa 10. 10. 1986

ГАБРИШ, Ю. — ДЮРАН, А. (Институт ветеринарии, Кошице): Изменения активности ALT, AST и щелочной фосфатазы в кровяной сыворотке коров в течение 24 часов. Veter. Med. (Praha), 33, 1988 (8) : 469-474.

У 4 здоровых черно-пестрых коров брали образцы крови из *vena subcutanea abdominis sinistra* в почасовые интервалы в течение 24 часов, и по Био-Ла-тестам определяли активность аланинаминотрансферазы (ALT), аспартатаминотрансферазы (AST) и щелочной фосфатазы. Активность этих ферментов значительно возрастает в течение 24 часов. Величины ALT и AST не очень выравнены, а коэффициент вариации около 20 % (AST 0,484 μ кат., ALT 0,389 μ кат.). Величины же щел. фосфатазы выравненнее (1,114 μ кат.) с коэффициентом вариации $v = 3,07\%$. Активность AST наибольшая в 14.00 ч, потом падает, но к 23.00 и 01.00 ч снова поднимается, чтобы опять понижаться до 11.00 ч. После обеда уровень ALT выравненный, потом в 22.00 и 23.00 ч временно возрастает с последующим понижением до 11.00 ч. Активность щелочной фосфатазы слабо растет с временным нарастанием в 20.00 ч. трансаминазы; активность плазматических ферментов; вариативность активности ферментов

GABRIŠ, J. — DÜRAN, A. (University of Veterinary Medicine, Košice): Circadian Changes in ALT, AST and Alkaline Phosphatase Activities in the Blood Serum of Dairy Cows. Veter. Med. (Praha), 33, 1988 (8) : 469-474.

Within the period of 24 hours, blood samples were collected in one-hour intervals from the *vena subcutanea abdominis sinistra* of four healthy cows of the Black-Pied breed. Alanine aminotransferase (ALT), aspartate aminotransferase (AST) and alkaline phosphatase (AP) activities were determined in the blood samples by Bio-La test. The activities of these enzymes exhibit marked circadian patterns. The values for ALT and AST activities were less balanced, the coefficient of variation being about 20 % (AST 0.484 μ cat, ALT 0.389 μ cat). The values for AP activity were fairly balanced (1.114 μ cat) with the variation coefficient $v = 3.07\%$. AST activity was highest at 14.00 h; then, after a decline, it grew again until 23.00 and 01.00 h, to decrease irregularly until 11.00 h. ALT activity was fairly balanced in the afternoon; a transient increase was recorded at 22.00 and 23.00 h, followed by a decrease until 11.00 h. AP activity grew slightly, with a transient peak at 20.00 h.

transaminases; activities of plasma enzymes; variability in enzyme activities

GABRIŠ, J. — DÜRAN, A. (Veterinärmedizinische Hochschule, Košice): Veränderungen der ALT-, AST- und Alkaliphosphatase-Aktivität im Blutserum von Kühen im Verlauf von 24 Stunden. Veter. Med. (Praha), 33, 1988 (8) : 469-474.

Aus der *vena subcutanea abdominis sinistra* von vier gesunden Kühen haben wir in einstündigen Intervallen Blutproben entnommen. Aus den entnommenen Proben ermittelten wir mit Hilfe der Bio-La-Tests die Aktivitäten der Alaninaminotransferase (ALT), der Aspartataminotransferase (AST) und der Alkaliphosphatase. Die Aktivität dieser Enzyme weist im Verlauf von 24 Stunden eine ausgeprägte Dynamik auf. ALT und AST wiesen weniger ausgeglichene Werte auf, indem der Variationskoeffizient bei 20 % lag (AST 0,484 μ kat, ALT 0,389 μ kat). Die Alkaliphosphatasewerte waren ziemlich ausgeglichen (1,114 μ kat), mit einem Variationskoeffizienten $v = 3,07\%$. Die höchste AST-Aktivität wurde um 14,00 Uhr verzeichnet, nach einem danach folgendem Rückgang erhöhte sie sich wiederum bis 23,00 und 1,00 Uhr, um dann ungleichmäßig bis 11,00 Uhr abzusinken. Die ALT-Aktivität wies nach der Mittagszeit ein ausgeglichenes Niveau auf, dann um 22,00 und 23,00 Uhr gab es einen vorübergehenden Anstieg mit nachfolgendem Rückgang bis 11,00 Uhr. Die Aktivität der Alkaliphosphatase stieg mäßig an, mit einer vorübergehenden Erhöhung um 20,00 Uhr.

Transaminasen; Aktivität plasmatischer Enzyme; Variabilität der Enzymaktivität

Adresa autorov:

Prof. dr. ing. Juraj Gabriš, DrSc., doc. MVDr. Augustin Düran, CSc., Vysoká škola veterinárska, Komenského 73, 041 81 Košice

BETA HEMOLYTICKÉ STREPTOKOKY V POHLAVNÍM ÚSTROJÍ KONÍ

J. Mazurová, F. Mazura

MAZUROVÁ, J. — MAZURA, F. (Státní veterinární ústav, Pardubice): *Beta hemolytické streptokoky v pohlavním ústrojí koní*. Veter. Med. (Praha), 33, 1988 (8) : 475-483.

V letech 1981 až 1985 jsme izolovali beta hemolytické streptokoky z 11,7 % vyšetřených stěrů z krčku děložního, 24,1 % výtěrů z klitoris a 22,9 % děložních laváží klisen, zařazených do plemenitby. Frekvence výskytu ve vzorcích z pohlavních orgánů hřebců byla 7,7 % ve stěrech ze sliznice penisu, 14,1 % ve výtěrech jamky žaludu, 8,8 % v nativních ejakulátech a 0,7 % v inseminacních dávkách skladovaných při teplotě -196°C . Ze stěrů z krčku děložního klisen s klinickými příznaky onemocnění pohlavních orgánů jsme beta hemolytické streptokoky vykultivovali z 50,7 % vyšetřených vzorků. Obdobné výsledky jsme zaznamenali i z děložních laváží. U hřebců jsme klinické změny zjistili v pěti případech, z toho ve třech (60 %) byly prokázány beta hemolytické streptokoky. Podíl těchto mikroorganismů, izolovaných z abortovaných plodů, byl 23,3 % z 30 pozitivních bakteriologických nálezů. Beta hemolytické streptokoky byly nejčastější příčinou zánětlivých změn pohlavních orgánů vyvolaných bakteriemi jak u klisen, tak u hřebců. Z 368 typizovaných kmenů obsahovalo 90,7 % skupinový antigen C. Při další diferenciaci odpovídalo biochemickými vlastnostmi 87,4 % kmenů *Streptococcus equi* sub. *zooepidemicus*, 10,8 % *Streptococcus equisimilis* a 1,8 % *Streptococcus equi*. *Streptococcus equi* sub. *zooepidemicus* byl dominujícím druhem ve vzorcích odebraných z pohlavních orgánů klisen, hřebců i abortovaných plodů. Izolované kmeny byly dobře citlivé na chloramfenicol (98,1 %) a erytromycin (97,7 %) a rezistentní na neomycin.

kůň; pohlavní orgány; infekce; beta hemolytické streptokoky

Infekční onemocnění pohlavních orgánů koní jsou v současném období aktuálním problémem při řešení poruch plodnosti, zejména klisen. Na jejich vzniku se podílí mnoho známých mikroorganismů, z nichž se nejčastěji uplatňují beta hemolytické streptokoky. Mezi patogenními bakteriemi zaujímají zvláštní postavení, neboť snadno kolonizují sliznici genitálního ústrojí koní, kde přežívají různě dlouhou dobu bez zjevných příznaků. Za určitých predispozičních podmínek pak dochází ke vzniku patologického procesu. Účelem naší práce bylo sledovat výskyt beta hemolytických streptokoků v pohlavních orgánech klisen a hřebců zařazených do plemenitby a zjistit jejich podíl v etiologii infekčních onemocnění těchto orgánů.

Mikroorganismy považované za patogenní pro genitální trakt koní prokázal Röstel (1975) v 15,7 % z 3506 vyšetřených stěrů z krčku děložního klisen, z toho byl podíl beta hemolytických streptokoků 75 %.

Krabisch (1982) izoloval tyto mikroorganismy z 80 % vzorků s pozitivním bakteriologickým nálezem.

Ze vzorků odebraných při pitvě pohlavních orgánů vykultivovali Scott aj. (1971) beta hemolytické streptokoky v 75 % ze zadního úseku pochvy, ve 41 % z krčku děložního, v 15 % z děložního kanálu a ve 14 % z dělohy. Leidl aj. (1976) uvádějí, že streptokoky kolonizují zejména sliznici předsíně a kaudálního úseku pochvy. Ze 156 vyšetřených klisen zjistili u 47,4 % beta hemolytické streptokoky v předsíni poševní, u 20,4 % v pochvě, u 17,4 % na krčku děložním a u 14,9 % v děloze. Jejich výskyt na krčku a v děloze byl v 62 % případů doprovázen zánětlivými změnami.

Při vyšetřování klisen izolovali Blobel aj. (1980) tyto mikroorganismy mnohem častěji z klitoris (47,4 %) než z krčku děložního (3,5 %). Obdobné výsledky publikovali také Merkt aj. (1980).

Z pohlavního ústrojí klisen s poruchami reprodukce vykultivoval Bain (1966) beta hemolytické streptokoky z 52 % vzorků s pozitivním bakteriologickým nálezem. Dolan aj. (1984) prokázali tyto mikroorganismy v 51,5 % vzorků odebraných z klisen s klinickými příznaky zánětu. Threlfall (1980) uvádí, že beta hemolytické streptokoky mohou působit i dlouhodobé problémy v zabřezávání klisen následkem perzistujících endometritid, při nichž může v důsledku zánětlivých změn docházet až k ireverzibilnímu poškození endometria.

Na možnost infikování klisen v době připouštění hřebci, jejichž pohlavní orgány rovněž bývají osídleny různými druhy bakterií (včetně beta hemolytických streptokoků, které kontaminují i ejakuláty), upozorňují Bonnengel aj. (1974). Tento názor potvrzuje i Röstel (1975), který během pěti let vyšetřil 205 vzorků spermatu a 357 vzorků sekretu přídatných pohlavních žláz z hřebců zařazených do plemenního. V průběhu připouštěcí sezóny prokázal beta hemolytické streptokoky v 11 % vzorků spermatu a 22 % sekretu přídatných pohlavních žláz, mimo sezónu obsahovalo tyto mikroorganismy sotva 2 % vyšetřených vzorků. Grabner (1976) izoloval beta hemolytické streptokoky z 66 % vyšetřených vzorků ejakulátů a sekretů přídatných žláz odebraných od 39 hřebců. Obdobné poznatky publikovali i Leidl aj. (1976), Blobel aj. (1980), Ricketts (1981) a Krabisch (1982), kteří zahrnují beta hemolytické streptokoky mezi podmíněně patogenní mikroorganismy přenášené hřebci na klisny.

O příčinách abortů klisen referují Benten aj. (1976) a Lang (1977). Podle publikovaných zpráv bylo 30,5 až 37,5 % abortů vyvolaných bakteriemi podmíněno beta hemolytickými streptokoky.

U většiny kmenů beta hemolytických streptokoků izolovaných z pohlavních orgánů koní prokázali Hensel (1962), Hughes (1975), Grabner (1976), Hawari a Sonnenschein (1981) i další autoři skupinový antigen C. Na základě biochemické diferenciace identifikovali 56,3 až 88,0 % kmenů jako *Streptococcus* (dále S.) *equi* sub. *zooepidemicus*, 4,9 až 10,1 % jako *S. equisimilis* a 1,9 až 36,4 % jako *S. equi*. Největší význam pro onemocnění pohlavního ústrojí přikládají *S. equi* sub. *zooepidemicus*, jehož přítomnost na sliznici těchto orgánů považují za potenciálně nebezpečnou.

Účinnost antibiotik na beta hemolytické streptokoky testoval Röstel (1975). U 70,3 % kmenů zjistil dobrou citlivost na chloramfenicol, u 45,2 % na penicilin a u 3,7 % na streptomycin. Rezistenci pozoroval

u 13,5 % kmenů na chloramfenicol, u 31,6 % na penicilin a 85,0 % na streptomycin. Č o v i č a j. (1980) zaznamenali rezistenci na streptomycin u 6 ze 17 testovaných kmenů *S. equi* sub. *zooeidemicus*.

MATERIÁL A METODY

VYŠETŘOVANÝ MATERIÁL

Z klisen jsme vyšetřovali tamponové stěry ze zevního ústí krčku děložního, výtěry z klitoris a sediment z děložních laváží získaných výplachem dělohy 0,85% roztokem chloridu sodného.

Hřebcům jsme odebírali stěry ze sliznice penisu a z jamky žaludu. Dále jsme vyšetřovali nativní ejakuláty bezprostředně po jejich odběru a ejakuláty konzervované, uchovávané ve formě insemináčnických dávek při teplotě -196°C v tekutém dusíku.

Z abortovaných plodů jsme získávali excize z plic, jater, sleziny a obsah žaludku.

ŽIVNÉ PŮDY

Vzorky jsme kultivovali na krevní agar (KA) připravený ze základu pro KA č. 4, výrobce Imuna, n. p., Šarišské Michaľany, s 5 až 7 % defibrinované ovčí krve a na Edwardsovu půdu připravenou ze základu pro KA č. 4, který jsme doplnili 1 g eskulinu, 2 ml 0,1% vodného roztoku krystalové violeti, 3,3 ml 10% roztoku siranu thalného a 5 až 7 % ovčí krve (na 1000 ml).

Pro biochemickou diferenciaci kmenů jsme použili glycidové půdy s trehalózou, sorbitem a laktózou, připravené podle Laboratorních vyšetřovacích metod ÚSVÚ (Anonym, 1975).

TYPIZACE KMENŮ

Skupinový antigen jsme u části kmenů určovali postupem, který uvedl Fuller (1938). Většinu kmenů jsme testovali metodou koaglutinace se specifickým koaglutinačním reagens připraveným postupem podle Christensena aj. (1973) a Sevatem Strepto pro koaglutinaci, získaném z ÚSOL, n. p., Praha. Všechny kmeny jsme před koaglutinací trypsinovali.

Kmeny, které obsahovaly skupinový antigen C, jsme dále diferencovali na základě štěpení uhlohydrátů trehalózy, sorbitu a laktózy.

CITLIVOST NA ANTIBIOTIKA

Účinnost antibiotik na izolované kmeny jsme zjišťovali diskovým difúzním testem na krevním agaru. K testaci jsme použili disky s antibiotiky, které dodává Lachema, n. p., Neratovice.

VÝSLEDKY

Přehled o výskytu beta hemolytických streptokoků ve vzorcích odebraných z různých částí pohlavních orgánů klisen a hřebců, v ejakulátech hřebců a v abortovaných plodech uvádíme v tab. I. Jak vyplývá z uvedených údajů, u klisen jsme beta hemolytické streptokoky zjišťovali nejčastěji ve výtěrech z klitoris (24,1 %), u hřebců ve stěrech z jamky žaludu (14,1 %). Při vyšetření 2939 stěrů z krčků děložního jsme tyto mikroorganismy prokázali v 345 vzorcích (11,73 %).

Závažné jsou nálezy beta hemolytických streptokoků ve spermatu hřebců. V průběhu šetření jsme prokázali jejich přítomnost v 82 (8,81 %)

I. Výskyt beta hemolytických streptokoků ve vzorcích odebraných z různých částí pohlavních orgánů klisen a hřebců, ze spermatu hřebců a z abortovaných plodů — The occurrence of beta haemolytic streptococci in samples collected from various parts of the sexual organs of mares and stallions, from the sperm of stallions, and from aborted fetuses

Vyšetřovaný materiál	Počet vzorků	Z toho	
		beta-hemolytické streptokoky	%,
Stěry z krčku děložního	2939	345	11,73
Výtěry z klitorisu	2618	606	24,13
Děložní laváže	283	65	22,96
Stěry ze sliznice penisu	466	36	7,72
Stěry z jamky žaludu	446	63	14,12
Ejakuláty nativní	930	82	8,81
Ejakuláty konzervované (inseminační dávky)	441	3	0,68
Abortované plody	60	7	11,65

vzorcích nativních ejakulátů a ve třech (0,68 %) inseminačních dávkách.

V tab. II jsou zaznamenány výsledky vyšetření vzorků z klisen a hřebců s klinickými příznaky onemocnění pohlavních orgánů různého stupně a abortovaných plodů s pozitivními bakteriologickými nálezy. Z 529 stěrů z krčku děložního klisen jsme beta hemolytické streptokoky prokázali ve 268 (50,7 %), z toho ve 179 (33,8 %) v čisté kultuře. Obdobných výsledků jsme dosáhli při vyšetření děložních laváží s tím rozdílem, že se častěji vyskytovaly ve smíšené kultuře, zejména s *E. coli*. U hřebců byly klinické změny pozorovány v pěti případech. Beta hemolytické streptokoky jsme vykultivovali ze stěrů sliznice penisu i jamky žaludu tří (60 %) hřebců, z toho ze dvou v čisté kultuře. Pozitivní bakte-

II. Výskyt beta hemolytických streptokoků ve vzorcích odebraných z pohlavních orgánů klisen a hřebců s klinickými příznaky onemocnění a z abortovaných plodů s pozitivním bakteriologickým nálezem — The occurrence of beta haemolytic streptococci in samples collected from the sexual organs of mares and stallions with clinical signs of a disease and from aborted fetuses with a positive bacteriological finding

Vyšetřovaný materiál	Počet vzorků	Z toho			
		hemolytické streptokoky	%,	v čisté kultuře	%,
Stěry z krčku děložního	529	268	50,7	179	33,8
Děložní laváže	129	65	50,4	65	24,0
Stěry ze sliznice penisu	5	3	60,0	2	40,0
Stěry z jamky žaludu	5	3	60,0	2	40,0
Abortované plody	30	7	23,3	5	16,7

III. Výsledky biochemické diferenciacie kmenů se skupinovým antigenem C — The results of the biochemical differentiation of strains by group antigen C

Kmeny izolovány	Počet kmenů	Z toho					
		<i>Streptococcus equi</i> sub. <i>zooepidemicus</i>	°/°	<i>Streptococcus equisimilis</i>	°/°	<i>Streptococcus equi</i>	°/°
ze stěrů z krčku děložního	189	174	92,1	11	5,8	4	2,1
z výtěrů z klitorisu	51	45	88,2	6	11,8	—	—
z děložních laváží	34	27	79,4	6	17,6	1	2,9
ze stěrů z pohlavních orgánů hřebců	32	26	81,3	5	15,6	1	3,1
z ejakulátů hřebců	22	14	63,6	8	36,4	—	—
z abortovaných plodů	6	6	100,0	—	—	—	—
Celkem	334	292	87,4	36	10,8	6	1,8

riologické nálezy jsme zaznamenali u 30 z 60 vyšetřených abortovaných plodů, přičemž podíl beta hemolytických streptokoků činil 23,3 % nálezů. Ve většině případů vyrůstaly streptokoky ze všech vzorků odebraných ze zmetka.

V průběhu dlouhodobého sledování klisen s recidivujícími endometritidami různého stupně jsme izolovali beta hemolytické streptokoky, většinou v čisté kultuře, opakovaně po dobu tří až pěti let. Sledované mikroorganismy jsme v některých případech izolovali i po terapii antibiotiky. Incidence onemocnění pohlavních orgánů způsobených těmito mikroorganismy dosahovala v jedné lokalitě 25 %, ve druhé až 31,4 % chovaných klisen.

Z 368 typizovaných kmenů obsahovalo 334 (90,7 %) skupinový antigen C. Výsledky biochemické diferenciacie jsme uvedli v tab. III. Všechny

IV. Výsledky testace citlivosti kmenů beta hemolytických streptokoků izolovaných z pohlavních orgánů a abortovaných plodů koní na antibiotika — The results of testing the strains of beta haemolytic streptococci isolated from the sexual organs and aborted foetuses of horses for sensitivity to antibiotics

Antibiotikum	Počet kmenů	Z toho					
		3	°/°	2	°/°	0	°/°
Penicilin 10 IE	432	180	41,7	87	20,1		
Streptomycin 30 µg	432	12	2,8	26	6,1	261	60,4
Chloramphenicol 10 µg	432	391	90,5	33	7,6	1	0,2
Tetracyklin 30 µg	432	172	39,8	194	44,9	12	2,9
Erythromycin 10 µg	432	381	88,2	41	9,5	1	0,2
Neomycin 30 µg	432	—	—	—	—	432	100,0

Vysvětlení: 3 — velmi dobře citlivý; 2 — citlivý; 0 — necitlivý

kmeny *S. equi* sub. *zooeptidemicus* fermentovaly sorbit a laktózu, kmeny *S. equisimilis* trehalózu. Ani jeden z uvedených uhlohydrátů neutilizovaly kmeny *S. equi*. Biochemickými vlastnostmi odpovídalo 87,4 % kmenů *S. equi* sub. *zooeptidemicus*, 10,8 % *S. equisimilis* a 1,8 % *S. equi*.

O citlivosti beta hemolytických streptokoků izolovaných z pohlavních orgánů koní informuje tab. IV. *In vitro* byl nejúčinnější chloramfenikol, který inhiboval růst 98,1 %, a erytromycin, inhibující 97,7 % ze 432 testovaných kmenů. Na penicilin bylo dobře citlivých 61,8 % kmenů. Všechny kmeny byly rezistentní na neomycin. Rezistenci jsme dále zaznamenali u 60,4 % kmenů na streptomycin, 2,8 % na tetracyklin, 0,23 % na chloramfenikol a erytromycin.

DISKUSE

Obdobně jako Röstel (1975), Leidl aj. (1976), Krabisch (1982) a další autoři, také na našem pracovišti jsme izolovali beta hemolytické streptokoky ze vzorků odebraných z pohlavních orgánů klisen a hřebců bez klinických příznaků infekce. Při vyšetřování klisen jsme sledované mikroorganismy vykultivovali častěji z výtěrů klitorisu (24,1 %) než z krčku děložního (11,7 %), stejně jako Blobel aj. (1980) a Merkt aj. (1980).

Frekvence výskytu beta hemolytických streptokoků ve vzorcích z pohlavních orgánů hřebců zařazených do plemenitby byla 7,7 % ve stěrech ze sliznice penisu, 14,1 % z jamky žaludu, 8,8 % v nativních ejakulátech a 0,7 % v inseminačních dávkách. I když naše výsledky nedosahují hodnot, které uvádějí Röstel (1975), Grabner (1976) a Krabisch (1982), jsou z hlediska možnosti infikování klisen významné. Velmi závažné jsou nálezy těchto mikroorganismů v inseminačních dávkách. Tím jsme také prokázali jejich životnost ve spermatu i po uchování při teplotě -196°C .

Význam beta hemolytických streptokoků v etiologii bakteriálních infekcí dokumentují výsledky dosažené při vyšetření klisen a hřebců s klinickými příznaky onemocnění pohlavních orgánů a abortovaných plodů. Z původců prokazovaných ve stěrech z krčku děložního i laváží dělohy byl podíl streptokoků 50,4 % a 50,7 %. Tyto výsledky korespondují s údaji, které uveřejnili Bain (1966) a Dolan aj. (1984). Ve většině případů se jednalo o zánětlivé změny doprovázené mukopurulentní až purulentní exsudací. Obdobné změny jsme zaznamenali i u hřebců, které byly způsobeny beta hemolytickými streptokoky ve dvou z pěti případů, přičemž z třetího hřebce jsme vykultivovali tyto mikroorganismy ve směsi se *Staphylococcus aureus*.

Nálezy z vyšetřených abortovaných plodů se neshodují s výsledky, které publikovali Benten aj. (1976) a Lang (1977). Tito autoři zaznamenali vyšší podíl beta hemolytických streptokoků. Rovněž období abortů neodpovídá poznatkům, ke kterým došel Grabner (1976), jenž uvádí, že aborty způsobené těmito mikroorganismy byly vesměs ve třetím až čtvrtém měsíci březosti. Většina plodů, z nichž jsme beta hemolytické streptokoky izolovali, byla abortována ve druhé polovině březosti.

Důkazem, že beta hemolytické streptokoky způsobují opakované závažné pohlavních orgánů a dlouhodobé problémy v reprodukci, jsou vý-

sledky, které jsme zaznamenali u klisen sledovaných tři až pět let. Naše zjištění potvrzují poznatky, k nimž dospěl Threlfall (1980).

Výsledky sérologické typizace izolovaných kmenů i jejich biochemické diference se shodovaly s výsledky, které publikovali Hawari a Sonnenschein (1981). *S. equi* sub. *zooeconomicus* byl dominantním druhem ve vzorcích odebraných z pohlavních orgánů klisen, hřebců i abortovaných plodů. Uvedený druh nejčastěji izolovali rovněž Hensel (1962), Hughes (1975), Grabner (1976) a další autoři.

Skutečnost, že jsme shodně jako citovaní autoři izolovali beta hemolytické streptokoky z pohlavních orgánů zdravých koní i z klinických změn, potvrzuje předpoklad, že zaznamenaný stav je výsledkem součinnosti mezi patogenitou kmenů a vnímavostí klisny či hřebce, na němž se podílejí různé faktory, z nichž mnohé je nutné objasnit.

Růst beta hemolytických streptokoků, izolovaných z různých vzorků získaných z pohlavních orgánů koní, nejlépe inhibovala antibiotika chloramfenikol a erytromycin (98,1 a 97,7 % testovaných kmenů). Všechny kmeny byly rezistentní na neomycin. Námi dosažené výsledky se neshodují s údaji, které publikovali Röstel (1975) a Čović aj. (1980). Z toho vyplývá zejména pro praxi důležitý poznatek, že úspěch terapie je podmíněn stanovením citlivosti izolovaných kmenů, které onemocnění vyvolaly.

Z výsledků našich šetření i z publikovaných zpráv je zřejmý význam beta hemolytických streptokoků v etiologii bakteriálních infekcí pohlavních orgánů koní. Jejich výskyt u klinicky zdravých klisen a hřebců je jednotlivými autory různě hodnocen (Hughes, 1975; Leidl aj., 1976; Naglič aj., 1980; Ricketts, 1981). Z hlediska potenciální patogenity a možnosti přenosu však — podle našeho názoru — nelze lokalizaci těchto mikroorganismů v pohlavních cestách a zejména ve spermatu podceňovat.

Literatura

- ANONYM: Veterinární laboratorní vyšetřovací metody. Praha, ÚSVÚ 1975.
BAIN, A. M.: The role of infection in infertility in the thoroughbred mare. *Veter. Rec.*, 78, 1966, s. 168-173.
BENTEN, C. — PETZOLDT, S. K. — SONNENSCHN, B. — BENTEN, K.: Mehrjährige Untersuchungen über Abortursachen in der Warmblutzucht. *Dtsch. tierärztl. Wschr.*, 84, 1976, s. 453-459.
BLOBEL, H. — WLEKLINSKI, J. G. — BLOBEL, K.: Zum Nachweis beta-hämolysierender Streptokokken in Zervix und Klitoristupferproben von Stuten. *Tierärztl. Umsch.*, 35, 1980, s. 826-830.
BONENGEL, H. — SCHELS, H. — REISINGER, H.: Beta-hämolysierende Streptokokken im Puerperalgeschehen bei der Stute. *Berl. Münch. tierärztl. Wschr.*, 87, 1974, s. 445-447.
ČOVIČ, A. — NAGLIČ, T. — HAJSIG, D. — TOPOLNIK, E. — SUKALIČ, M.: Bakterijske infekcije genitalnih organa neplodnych kobila. *Veter. Arh.*, 50, 1980, s. 187-194.
DOLAN, M. — CARGILL, C. — MARTIN, F. — DAVENPORT, P. — KRANKS, D. — LIGHTFOOT, J.: Serological and bacteriological survey of three horse studs for contagious equine metritis. *Austral. veter. J.*, 61, 1984, s. 17-19.
FULLER: *Brit. J. Exp. Path.*, 19, 130, 1938. In: RAŠKA, K.: Skupinové určení streptokoků. Mikrobiologické vyšetřovací metody, 1958, s. 252-253.
GRABNER, A.: Epidemiologische und bakteriologische Untersuchungen zur Streptokokken-Genitalinfektion des Pferdes in Süd-Bayern. [Veter. Med. Diss.] München 1976.

- HAWARI, A. D. — SONNENSCHNEIDER, B.: Untersuchungen zur Differenzierung von aus Geschlechtsorganen sowie Feten von Pferden isolierten beta-hämolysierenden Streptokokken. Berl. Münch. tierärztl. Wschr., 94, 1981, s. 101-103.
- HENSEL, L.: Differenzierung der von den Genitalschleimhäuten des Pferdes isolierten beta-hämolysierenden Streptokokken. Zuchthyg., 6, 1962, s. 285-293.
- HUGHES, K. L.: *Streptococcus zooepidemicus* and infertility in horses. Austral. veter. J., 51, 1975, s. 281-282.
- CHRISTENSEN, P. — KAHLMEIER, G. — JONSSON, S. — KRONVALL, G.: New method for the serological grouping of streptococci with specific antibodies adsorbed to protein A-containing staphylococci. Infect. and Immunity, 7, 1973, s. 881-885.
- KRABISCH, P.: Bakteriologische Ergebnisse bei der Kontrolle bayerischer Stuten und Hengste auf Geschlechtsesundheit in den Jahren 1974 bis 1981. Dtsch. tierärztl. Wschr., 89, 1982, s. 184-189.
- LANG, V.: Untersuchungen über bakterielle Genitalinfektionen und deren Auswirkung auf die Fruchtbarkeit von Stuten in Norbaden. [Veter. Med. Diss.] München 1977. 55 s.
- LEIDL, W. — STOLLA, R. — SCHELS, H. — WOLPERT, E.: Keimbeseidlung des Genitals beim Pferd aus klinischer Sicht. Prakt. Tierarzt, 57, 1976, s. 214-220.
- MERKT, H. — BISPING, W. — GÜNZEL, A. — KIRPAL, G.: Die Tupferprobe in der gynäkologischen Untersuchung der Stute. Prakt. Tierarzt, 61, 1980, s. 301-308.
- RICKETTS, S. W.: Bacteriological examinations of the mares cervix: Techniques and interpretation of results. Veter. Rec., 108, 1981, s. 46-51.
- RÖSTEL, W.: Vorkommen und Antibiotikaresistenz hämolysierender Sterilitätskeime bei Zuchtstuten und Deckhengsten in Schleswig-Holstein. Tierärztl. Umsch., 30, 1975, s. 66-68.
- SCOTT, P. — DALEY, P. — BAIRD, G. — STRUGESS, S. — FROST, A. J.: The aerobic bacterial flora of the reproductive tract of the mare. Veter. Rec., 88, 1971, s. 58-61.
- THRELFALL, R.: Infertility in the mare. Veter. Med., 1980, s. 483-486.

Došlo dne 20. 3. 1987

МАЗУРОВА, Я. — МАЗУРА, Ф. (Государственный ветеринарный институт, Пардубице): **Бета-гемолитические стрептококки в половом аппарате лошадей.** Veter. Med. (Praha), 33, 1988 (8) : 475-483.

В 1981—85 гг. эти стрептококки изолировали у 11,7% обследованных мазков из маточной шейки, 24,1% из клитора и 22,9% из маточных смывов кобыл, включенных в племенное разведение. Частота этих диагнозов у жеребцов составила 7,7% в мазках из слизистой пениса, 14,1% из ямки головки, 8,8% в нативных эякулятах и 0,7% в осеменительных дозах, хранимых при —196 °С. В мазках из мат. шейки кобыл, показывающих признаки заболевания половых органов, мы культивировали эти стрептококки из 50,7% исследованных образцов. Подобные результаты дали и маточные смывы. У жеребцов клинические изменения обнаружены в 5 случаях, причем в 3 из них (60%) — бета-гемолитические стрептококки. Их доля в аборттированных плодах 23,3% из 30 позитивных бактериологических диагнозов. Именно эти стрептококки — самая частая причина воспалительных изменений половых органов и у кобыл, и у жеребцов. Из 368 типизированных штаммов 90,7% содержали групповой антиген С. При дальнейшей дифференциации по биохимическим свойствам 87,4% отвечали штаммам *Streptococcus equi* sub. *zooepidemicus*, 10,8% *Streptococcus equisimilis* и 1,8% *Streptococcus equi*, *Streptococcus zooepidemicus* доминирует в образцах и животных, и плодов. Изолированные штаммы весьма чувствительны к хлорамфениколу (98,1%) и эритромицину (97,7%), но устойчивы к неомицину.

лошадь; половой орган; инфекция, бета-гемолитические стрептококки

MAZUROVÁ, J. — MAZURA, F. (State Veterinary Institute, Pardubice): **Beta Haemolytic Streptococci in the Sexual Organs of Horses.** Veter. Med. (Praha), 33, 1988 (8) : 475-483.

During 1981 to 1985, beta haemolytic streptococci were isolated from 11.7% of the smears from uterine cervix, 24.1% of the smears from clitoris, and 22.9% of the uterine rinses in mares included in the breeding programme. As for the stallions,

haemolytic streptococci occurred in 7.7 % of the smears from the mucous membrane of penis, in 14.1 % of the smears from glans penis foveola, in 8.8 % of the native ejaculates, and 0.7 % of the semen doses stored at -196°C . The beta haemolytic streptococci of the smears from the uterine cervixes of mares with clinical signs of a disease of the sexual organs were cultivated from 50.7 % of the samples. Similar results were recorded in the case of the uterine rinses. In stallions, clinical changes were recorded in five cases and the presence of haemolytic streptococci was confirmed in three of them (60 %). The proportion of haemolytic streptococci isolated from aborted foetuses was 23.3 % of the 30 positive bacteriological findings. Beta haemolytic streptococci were most frequently the cause of inflammatory changes in the sexual organs ascribed to bacteria in both the mares and stallions. Of the 368 typified strains, 90.7 % contained group antigen C. In further differentiation, 87.4 % of the strains corresponded by their biochemical properties to *Streptococcus equi* sub. *zooepidemicus*, 10.8 % to *Streptococcus equisimilis*, and 1.8 % to *Streptococcus equi*. *Streptococcus zooepidemicus* was the dominant species in samples collected from the sexual organs of mares, stallions, and aborted foetuses. The isolated strains were well sensitive to chloramphenicol (98.1 %) and erythromycin (97.7 %), and resistant to neomycin.

horse; sexual organs; infection; beta haemolytic streptococci

MAZUROVÁ, J. — MAZURA, F. (Staatliches Veterinärinstitut, Pardubice): *Beta-hämolytische Streptokokken in den Geschlechtsorganen von Pferden*. Veter. Med. (Praha), 33, 1988 (8) : 475-483.

In den Jahren 1981 bis 1985 isolierten wir Beta-hämolytische Streptokokken aus 11,7 % der untersuchten Gebärmutterhalsabstriche, aus 24,1 % der Klitorisabstriche und aus 22,9 % der Gebärmutterausspülungen von in die Zucht eingereichten Stuten. Die Inzidenzfrequenz in Proben aus den Geschlechtsorganen von Hengsten war 7,7 % in Schleimhautabstrichen vom Penis, 14,1 % in Abstrichen aus der Eichelhöhle, 8,8 % in nativen Ejakulaten und 0,7 % in bei einer Temperatur von -196°C aufbewahrten Inseminationsportionen. Aus den Gebärmutterhalsabstrichen von Stuten mit klinischen Symptomen von Erkrankungen der Geschlechtsorgane wurden Beta-hämolytische Streptokokken aus 50,7 % der untersuchten Proben kultiviert. Ähnliche Ergebnisse wurden auch aus Gebärmutterausspülungen verzeichnet. Bei Hengsten stellten wir klinische Veränderungen in fünf Fällen fest, in drei Fällen davon (60 %) konnten wir Beta-hämolytische Streptokokken nachweisen. Der Anteil dieser Mikroorganismen, die aus abortierten Feten isoliert wurden, betrug 23,3 % aus 30 positiven bakteriologischen Funden. Die Beta-hämolytischen Streptokokken waren die häufigste Ursache der durch Bakterien hervorgerufenen entzündlichen Veränderungen der Geschlechtsorgane sowohl bei den Stuten als auch bei den Hengsten. Aus 368 typisierten Stämmen enthielten 90,7 % das Gruppenantigen C. Bei der weiteren Differenzierung entsprachen aufgrund ihrer biochemischen Eigenschaften 87,4 % der Stämme dem *Streptococcus equi* sub. *zooepidemicus*, 10,8 % dem *Streptococcus equisimilis* und 1,8 % dem *Streptococcus equi*. *Streptococcus equi* sub. *zooepidemicus* war die in den aus den Geschlechtsorganen von Stuten, Hengsten sowie abortierten Feten entnommenen Proben dominierende Art. Die isolierten Stämme wiesen eine gute Sensibilität zu Chloramphenicol (98,1 %) und Erythromycin (97,7 %) auf, zu Neomycin dagegen waren sie resistent.

Pferd; Geschlechtsorgane; Infektion; Beta-hämolytische Streptokokken

Adresa autorů:

MVDr. Jaroslava Mazurová, MVDr. František Mazura, Státní veterinární ústav, Štrossova 57, 530 03 Pardubice

Prof. MVDr. Ludovít Slanina, DrSc., šesťdesiatročný

Šieste desaťročie svojho života uzatvára v tomto roku prof. MVDr. Ludovít Slanina, DrSc., významný pedagóg, vedec a predstaviteľ odboru vnútorných chorôb hospodárskych zvierat, vedúci Oddelenia hygieny a technológie chovu Katedry vnútorných chorôb prežúvavcov a ošipáných Vysokej školy veterinárskej v Košiciach a vedúci Laboratória pre chov a choroby teliat Ústavu experimentálnej veterinárnej medicíny v Košiciach, laureát Štátnej ceny Klementa Gottwalda, zaslúžilý vynálezca s právom nosiť zlatý odznak a držiteľ čestných a pochvalných uznání.

Narodil sa 17. augusta 1928 v Hrnčiarskych Zalužanoch, okres Rimavská Sobota, v rodine malorolníka. Stredoškolské vzdelanie získal na gymnáziu v Rimavskej Sobotě a v rokoch 1948 až 1953 úspešne študoval na Vysoké škole veterinárnej v Brne. Po ukončení štúdia začal pracovať ako odborný asistent na Internej klinike vtedajšej Veterinárskej fakulty VŠP v Košiciach. Aktivne sa zapojil do budovania školy, cielené sa orientoval na diagnostiku nenákazlivých ochorení hospodárskych zvierat. Po obhájení kandidátskej dizertačnej práce v roku 1961 sa habilitoval. V roku 1974 obhájil doktorskú dizertačnú prácu a dva roky na to bol vymenovaný za riadneho profesora. Dve funkčné obdobia zastával funkciu prodekana, neskôr prorektora pre výchovno-vzdelávaciu činnosť.

Za doterajšie 35ročné obdobie aktívnej práce prof. Slanina významne prispel k rozvoju veterinárskeho lekárstva. Uznávaním osobnosti jubilanta v medzinárodnom meradle bolo menovanie za zástupcu ČSSR v riadiacom komitáte Svetovej bujatrickej spoločnosti. Svojim záujmom o riešenie naliehavých problémov agrokompexu a šírkou vedeckého bádania sa natrvalo dostal do povedomia viacerých partnerských inštitúcií a výrobných podnikov doma i v zahraničí.

Svoje bohaté odborné skúsenosti využíva pri spracovávaní štúdijskej a odbornej literatúry (Klinická diagnostika vnútorných chorôb hospodárskych zvierat, Zdravie a chorobnosť teliat v priemyselnej produkcii, Hydina a technológia chovu hovädzieho dobytku atď.). Z doterajších 30 knižných publikácií spracovaných autor-skými kolektívami pod vedením prof. Slaninu šesť vyšlo v zahraničí a pripravujú sa ďalšie. Vedeckovýskumnú a pedagogickú aktivitu dokumentuje vyše 350 pôvodných, experimentálnych, vedeckých a odborných prác, monografií, učebníc a učebných textov publikovaných aj v zahraničí.

Komplexné štúdiá s realizačnými výstupmi riešia problémy zdravia a produkcie dojníc a teliat prostredníctvom vyšetrenia regulácie bachorovej fermentácie, životaschopnosti teliat, biologických fáz imunologickej dispozície, metabolických porúch atď. Sú zamerané na intenzifikáciu chovu hovädzieho dobytku a na zabezpečenie obyvateľstva biologicky plnohodnotnými potravinami živočíšneho pôvodu. Celá táto činnosť vyústila do 14 zlepšovacích návrhov a 5 patentov využitých MPVŽ SSR a predstavuje len vo výrobe prínos vyše 30 miliónov korún. Spoločenský dosah je však oveľa vyšší.

Prof. L. Slanina venuje veľkú pozornosť aj výchove nových, mladých vedeckých pracovníkov.

Svojimi pobytmi a publikačnou činnosťou v zahraničí prispel k rozšíreniu spolupráce VŠV v Košiciach s Moskovskou veterinárnou akadémiou, Univerzitou Karla Marxa v Lipsku, Humboldtovou univerzitou v Berlíne a Vysokou školou veterinárskou v Helsinkách.

Celý doterajší život venoval prof. Slanina tvorivej aktívnej práci v prospech výstavby socializmu a Komunistickej strany Československa. Prešiel viacerými straníckymi funkciami. Vysoká náročnosť voči sebe a ostatným, súdržská otvorenosť, odborná vyspelosť a podiel na koncepčnom dopracovávaní otázok rozvoja veterinárneho školstva a nášho agrokompexu dotvárajú profil jubilanta.

Činorodá práca prof. Slaninu zďaleka nekončí. Preto nemožno v konečnom dôsledku hodnotiť celkovo jeho prínosy pre vedu a spoločnosť. Doterajší mimoriadne výsledky jeho aktívnej práce, životné skúsenosti, vedomosti a životný elán sú predpokladom pre jeho ďalšiu činnosť v prospech našej socialistickej spoločnosti.

K významnému životnému jubileu prajem menom spolupracovníkov, priateľov i členov redakčnej rady časopisu Veterinární medicína do ďalších rokov pevné zdravie, neubúdajúcu tvorčiu aktivitu, radosť z dosiahnutých výsledkov práce a osobnú pohodu.

Doc. MVDr. G. Kováč, CSc.

PROTILÁTKOVÁ ODPOVĚĎ PSŮ NA APLIKACI VAKCÍNY PROTI VZTEKLINĚ TKÁŇOVĚ INAKTIVOVANÉ A ŽIVÉ

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

VRZAL, V. — ČUPERA, Z. — CHUMELA, J. — ZATLOUKAL, L. (Bioveta, n. p., Ivanovice na Hané; Ústav pro státní kontrolu veterinárních biopreparátů a léčiv, Brno): *Protilátková odpověď psů na aplikaci vakcíny proti vzteklině tkáňově inaktivované a živé*. Veter. Med. (Praha), 33, 1988 (8) : 485-494.

Sledovali jsme hladinu virusneutralizačních protilátek v sérech psů po aplikaci vakcíny proti vzteklině tkáňově inaktivované a vakcíny proti vzteklině tkáňově živé. Bylo použito operačních čísel vakcín vyrobených v n. p. Bioveta Ivanovice na Hané, které byly v stanovených vakcinačních dávkách aplikovány i. m. způsobem. Vyhodnocovali jsme virusneutralizačním testem na myších při sériovém ředění sér proti konstantní dávce fixního viru vztekliny kmene CVS. Nástup tvorby virusneutralizačních protilátek, výše jejich hladiny a trvání bylo u obou typů biopreparátů odlišné. Aplikace vakcíny proti vzteklině tkáňově živé vyvolala časnější tvorbu virusneutralizačních protilátek a jejich hladina po dosažení vrcholu postupně klesala. Jednorázová aplikace vakcíny proti vzteklině tkáňově inaktivované vyvolala pozdější a nižší tvorbu virusneutralizačních protilátek, ale revakcinace za tři týdny po primovakcinaci vedla k dalšímu vzestupu titru virusneutralizačních protilátek, jejichž hladina po revakcinaci dosáhla vyšší hodnoty a klesala pozvolněji v porovnání s hladinou virusneutralizačních protilátek po aplikaci živé antirabické vakcíny. Výsledky získané při ověřování tkáňově inaktivované vakcíny byly použity pro vypracování účinného imunizačního postupu.

antirabická vakcína tkáňově inaktivovaná a živá; virusneutralizační protilátky; dynamika protilátek; imunizační postup

Vývoj epizootologické situace ve výskytu vztekliny v ČSSR i v celé Evropě není v posledním desetiletí příznivý. Proto je této nákaze věnována značná pozornost jak ze strany humánního lékařství, tak i ze strany veterinární služby. Jedním z účinných prostředků v boji s touto nákazou je soustavná a cílevědomá vakcinace všech domácích a hospodářských zvířat, která přicházejí do styku se zvířaty volně žijícími. Na našem území se právě volně žijící zvířata převážnou měrou podílejí na pozitivních nálezech výskytu vztekliny. Aby výsledky imunizace domácích zvířat byly příznivé, je třeba mít k dispozici dostatek kvalitní vakcíny. Dříve vyráběné vakcíny z nervové tkáně a později užívané vakcíny avianizované, připravované pomnožením viru vztekliny v kuřecích embryích, měly nízkou, často variabilní imunogenitu a nebyl vyloučen výskyt alergických komplikací. Proto byla snaha nahradit je vakcínami připravovanými na tkáňových kulturách. Zásadní význam při vývoji nového typu antirabického přípravku měla práce, která prokázala možnost adaptace a množení viru vztekliny na extraneurálních buňkách (Kis-

sling, 1958). Toto poznání vedlo k přípravě různých tkáňových anti-rabických vakcín (Fenje, 1960; Abelseth, 1964; Cabasso aj., 1965; Brown aj., 1968; Crick a Brown, 1971; Strating aj., 1975 a další).

Velmi významný pokrok v imunoprofylaxi vztekliny u hospodářských a domácích zvířat v ČSSR znamenalo zavedení do výroby vakcíny proti vzteklině tkáňové, obsahující živý oslabený kmen viru vztekliny VNUKOVO-32 (Selimov aj., 1974). Uvedená vakcína se používá k preexpozici profylaxi vztekliny u zvířat na našem území od roku 1979 (Vrtiak aj., 1972; Švrček aj., 1975).

Na základě doporučení Světové zdravotnické organizace (WHO Expert Committee on Rabies, 1973, 1984) je v současné době ve veterinární medicíně snaha nahradit živé antirabické vakcíny vakcínami inaktivovanými. Při vhodném způsobu inaktivace a použití imunitního adjuvans je možno připravit vysoce účinné a neškodné antirabické vakcíny pro imunizaci domácích zvířat. Vliv lipidních adjuvancií u živé antirabické vakcíny popisují Slonim aj. (1971). Vliv hydroxidu hlinitého na imunogenní a antigenní aktivitu inaktivované antirabické vakcíny uvádějí Švrček aj. (1973) a Vrtiak aj. (1973). Švrček aj. (1980) referují o významné účinnosti imunogenní aktivity inaktivované vakcíny z kmene Vnukovo-32 po přidání olejového adjuvans a aktivity živé vakcíny po přidání modifikovaného adjuvans podle Bučněva.

Technologii výroby inaktivované antirabické vakcíny řešili pracovníci Ústavu experimentální veterinární medicíny v Košicích (Švrček, 1984; Závadová aj., 1984).

V návaznosti na uvedená doporučení Světové zdravotnické organizace a poznatky jiných autorů je v n. p. Bioveta, Ivanovice na Hané, vyvíjena a zaváděna výroba vakcíny proti vzteklině tkáňové inaktivované.

Cílem naší práce bylo ověřit:

- imunogenní schopnost vyvíjené inaktivované antirabické vakcíny aplikované psům detekcí humorálních protilátek pomocí virusneutralizačního testu na myších;

- účinný imunizační postup zaručující udržení dostatečně vysoké hladiny virusneutralizačních protilátek.

Aby bylo možné ověřit kvalitativní parametry testované vakcíny, byla pro srovnání zařazena do pokusů komerčně vyráběná živá antirabická vakcína.

MATERIÁL A METODY

POKUSNÁ ZVÍŘATA

V pokuse bylo použito 45 psů plemene německý ovčák ve věku tři až šest měsíců. Psi nebyli před zahájením pokusu vakcinováni proti vzteklině. Pro stanovení titru protilátek a titrace viru bylo použito laboratorních myší, kmen Swiss albino z produkce Velaz Praha, o hmotnosti 10 až 12 g, obojího pohlaví.

POUŽITÉ VAKCÍNY

a) Vakcína proti vzteklině tkáňová — komerčně vyráběná v n. p. Bioveta, Ivanovice na Hané, op. č. 66 05 84. Tato vakcína se vyrábí pomnožením vakcinačního kmene vztekliny Vnukovo-32 na tkáňových kulturách buněčné linie BHK-21 a expeduje se v lyofilizovaném stavu.

b) Vakcína proti vzteklině tkáňová inaktivovaná je vyvíjena v n. p. Bioveta, Ivanovice na Hané, op. č. V 01 05 84. Byla připravena z vakcinačního kmene viru vztekliny Vnukovo-32, pomnoženého na tkáňových kulturách buněčné linie BHK-21. Sklizený virus byl inaktivován betapropiolaktonem (v koncentraci 0,025 až 0,050 % po dobu 24 hodin při teplotě 4 °C. K ředění této lyofilizované vakcíny bylo použito olejové solvens, které zároveň slouží jako imunitní adjuvans vakcíny.

IMUNIZACE

a) Vakcína proti vzteklině tkáňová byla ověřována na 15 psech, kterým byla aplikována rozpuštěná, i. m., v dávce 3 cm³. V souladu s návodem k použití této vakcíny byla další imunizace uskutečněna v jednom roce věku psa.

b) Vakcína proti vzteklině tkáňová inaktivovaná byla ověřována na 30 psech při použití dvou imunizačních schémat.

První vakcinační schéma mělo tytéž podmínky jako při aplikaci vakcíny proti vzteklině tkáňové a bylo ověřováno na deseti psech.

Druhé vakcinační schéma: vakcína byla psům aplikována rozpuštěná, i. m., v dávce 3 cm³. Za tři týdny po této vakcinaci byli psi stejným způsobem revakcinováni. Další imunizace se uskutečnila v jednom roce věku psů. Toto imunizační schéma bylo ověřováno na 20 psech.

ODBĚRY KRVE

Krev byla ode všech psů zařazených do ověřování odebírána ve stejných časových intervalech. Odběry byly provedeny před vakcinací (0 — iniciální odběr), za 12 a 21 dní, za 1,5, 4 a 6 měsíců po vakcinaci. Konečný odběr krve byl uskutečněn za 21 dnů po imunizaci v jednom roce věku psů.

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

SÉROLOGICKÉ VYŠETŘENÍ

Titř protilátek v sérech byl stanoven virusneutralizačním testem shodným s metodou, kterou popsal Atanasiu (1973). Séra byla ředěna v poměru 1 : 5, 25, 125, 625 a do reakce bylo použito 20 až 50 MLD₅₀ viru vztekliny kmene CVS. Titř protilátek byl vypočten metodou podle Reeda a Muencha (1938). Sérologickému vyšetření byly podrobeny vzorky sér šesti namátkově vybraných psů z každé skupiny.

VÝSLEDKY

Titry antirabických protilátek u psů po aplikaci vakcíny proti vzteklině tkáňové živé jsou uvedeny v tab. I. Z přehledu výsledků je patrné, že již za 12 dní po vakcinaci byly (kromě jednoho psa) detekovány virusneutralizační protilátky s průměrnou hodnotou PD₅₀ 1 : 5,8. Za 21 dní po vakcinaci byla u psů prokázána 100% sérokonverze s průměrem PD₅₀ 1 : 29,1. Nejvyšší titry antirabických protilátek byly prokázány za jeden a půl měsíce po vakcinaci, kdy průměr PD₅₀ činil 1 : 40,8. Sérologickým vyšetřováním dalších odběrů bylo zjištěno snižování titru antirabických protilátek, za čtyři měsíce po vakcinaci byl průměr PD₅₀ 1 : 19,1, za šest měsíců po vakcinaci byl průměr PD₅₀ 1 : 8,3. Po imunizaci uskutečněné v jednom roce věku psů se titř protilátek podstatně zvýšil a za 21 dní po této vakcinaci byl průměrný titř antirabických protilátek 1 : 42,6.

Titry antirabických protilátek u psů po aplikaci vakcíny proti vzteklině tkáňové inaktivované (první schéma) jsou uvedeny v tab. II. Za 12 dní po vakcinaci byla prokázána u pokusných psů pouze 50% sérokonverze, průměr PD₅₀ činil 1 : 1,6. Za 21 dní byla u vakcinovaných psů zjiš-

I. Titry antirabických protilátek u psů po vakcinaci vakcínou proti vzteklině tkáňovou živou — Titres of antirabies antibodies in dogs vaccinated with the live tissue rabies vaccine

Zvíře číslo	Titr PD ₅₀						
	iniciální	12 dní	21 dní	1,5 měsíce	4 měsíce	6 měsíců	21 dní po revakcinaci v jednom roce
1	neg.	1 : 5	1 : 52	1 : 125	1 : 49	1 : 23	1 : 101
2	neg.	1 : 11	1 : 35	1 : 27	1 : 11	1 : 6	1 : 37
3	neg.	1 : 7	1 : 15	1 : 14	1 : 16	1 : 4	1 : 15
4	neg.	1 : 7	1 : 21	1 : 36	1 : 13	1 : 6	1 : 29
5	neg.	neg.	1 : 19	1 : 22	1 : 5	1 : 3	1 : 31
6	neg.	1 : 5	1 : 33	1 : 41	1 : 21	1 : 8	1 : 43
Průměrná hodnota	neg.	1 : 5,8	1 : 29,1	1 : 40,3	1 : 19,1	1 : 8,3	1 : 42,6

těna 100% sérokonverze s průměrným titrem protilátek PD₅₀ 1 : 19. Sérologická vyšetřování dalších odběrů detekovala snižování titru antirabických protilátek. Za jeden a půl měsíce po vakcinaci byl průměr PD₅₀ 1 : 11,5, za čtyři měsíce 1 : 6,3, za šest měsíců byla prokázána již jen 66% sérokonverze s průměrným titrem PD₅₀ 1 : 2,8. Po imunizaci v jednom roce věku psů se titr protilátek zvýšil, za 21 dní po této vakcinaci byla prokázána 100% sérokonverze a průměrný titr tohoto odběru činil 1 : 21,5.

Titry antirabických protilátek u psů po aplikaci vakcíny proti vzteklině tkáňové inaktivované (druhé vakcinační schéma — vakcinace a za 21 dní revakcinace) jsou uvedeny v tab. III. Za 12 dní po vakcinaci

II. Titry antirabických protilátek po vakcinaci vakcínou proti vzteklině tkáňovou inaktivovanou (první vakcinační schéma) — Titres of antirabies antibodies in dogs vaccinated with the inactivated tissue rabies vaccine (first vaccination scheme)

Zvíře číslo	Titr PD ₅₀						
	iniciální	12 dní	21 dní	1,5 měsíce	4 měsíce	6 měsíců	21 dní po revakcinaci v jednom roce
1	neg.	1 : 4	1 : 29	1 : 18	1 : 7	1 : 3	1 : 32
2	neg.	neg.	1 : 14	1 : 8	1 : 5	neg.	1 : 13
3	neg.	1 : 3	1 : 19	1 : 11	1 : 4	neg.	1 : 15
4	neg.	neg.	1 : 11	1 : 14	1 : 7	1 : 5	1 : 27
5	neg.	neg.	1 : 16	1 : 8	1 : 12	1 : 3	1 : 19
6	neg.	1 : 3	1 : 25	1 : 10	1 : 3	1 : 6	1 : 23
Průměrná hodnota	neg.	1 : 1,6	1 : 19	1 : 11,5	1 : 6,3	1 : 2,8	1 : 21,5

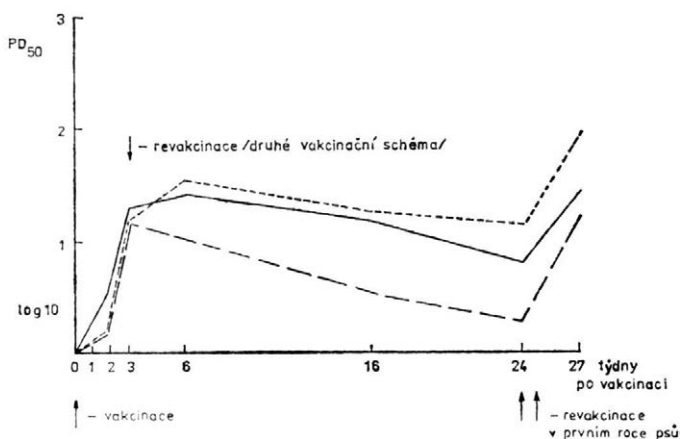
III. Titry antirabických protilátek po vakcinaci a revakcinaci vakcínou proti vzteklině tkáňovou inaktivovanou (druhé vakcinační schéma) — Titres of antirabies antibodies after vaccination and re-vaccination with the inactivated tissue rabies vaccine (second vaccination scheme)

Zvíře číslo	Titř PD ₅₀						
	iniciální	12 dní	21 dní	1,5 měsíce	4 měsíce	6 měsíců	21 dní po revakcinaci v jednom roce
1	neg.	1 : 5	1 : 51	1 : 129	1 : 77	1 : 38	1 : 121
2	neg.	1 : 3	1 : 32	1 : 48	1 : 11	1 : 10	1 : 119
3	neg.	neg.	1 : 3	1 : 33	1 : 13	1 : 9	1 : 39
4	neg.	1 : 2	1 : 4	1 : 39	1 : 16	1 : 12	1 : 44
5	neg.	neg.	1 : 16	1 : 44	1 : 8	1 : 7	1 : 124
6	neg.	neg.	1 : 12	1 : 37	1 : 11	1 : 17	1 : 98
Průměrná hodnota	neg.	1 : 1,6	1 : 19,6	1 : 55	1 : 22,6	1 : 15,5	1 : 91,5

byla prokázána shodně s výsledky prvního vakcinačního schématu pouze 50% sérokonverze a průměr PD₅₀ odběru činil 1 : 1,6. Za 21 dní byla u vakcinovaných psů zjištěna 100% sérokonverze s průměrem PD₅₀ 1 : 19,6. V tomto období byla provedena revakcinace. Za jeden a půl měsíce po vakcinaci (tři týdny po revakcinaci) byl prokázán vzestup titru protilátek, průměrný titr PD₅₀ byl 1 : 55. Sérologická vyšetření sér z dalších odběrů detekovala snižování titru antirabických protilátek. Za čtyři měsíce po vakcinaci byl průměr PD₅₀ 1 : 22,6, za šest měsíců po vakcinaci 1 : 15,5. Po imunizaci v jednom roce věku psů se titr antirabických protilátek významně zvýšil a za 21 dní po této vakcinaci byla průměrná hodnota PD₅₀ 1 : 91,5.

Průměrné hodnoty PD₅₀ z jednotlivých odběrů všech tří skupin psů jsou znázorněny na obr. 1.

1. Průměrná hodnota PD₅₀ antirabických protilátek u vakcinovaných psů antirabickou vakcínou živou (nepřerušovaná čára), antirabickou vakcínou inaktivovanou — první vakcinační schéma (přerušovaná čára) a antirabickou vakcínou inaktivovanou — druhé vakcinační schéma (tečkovaná čára) — The average value of the PD₅₀ of the antirabies antibodies of the dogs treated with the live rabies vaccine (solid line), inactivated rabies vaccine — the first vaccination scheme (broken line), and inactivated rabies vaccine — the second vaccination scheme (dotted line)



Vakcíny proti vzteklině pro veterinární použití musí vyhovovat základním požadavkům vzhledem k jejich bezpečnosti, účinnosti, snadnosti použití a ekonomice výroby (Soulebot aj., 1982). Používání některých živých vakcinačních kmenů vztekliny bylo v mnoha zemích zakázáno, protože u nich může docházet k nežádoucím změnám (Abelseth aj., 1980). Toto riziko vedlo Světovou zdravotnickou organizaci k tomu, aby doporučila nahrazovat živé vakcíny vakcínami inaktivovanými.

Precausta aj. (1983) uvádějí ve své práci tato hodnotící kontrolní kritéria pro inaktivovanou antirabickou vakcínu: stanovení antigenní hodnoty vakcíny podle metody NIH (Seligman, 1973), ověření imunogenní schopnosti vakcíny stanovením antirabických protilátek u pokusných zvířat a stanovení protekční schopnosti vakcíny po umělé infekci vakcinovaných zvířat virem vztekliny.

Podle těchto kritérií byla testována kvalita vakcíny proti vzteklině tkáňové inaktivované, vyvíjené v n. p. Bioveta, Ivanovice na Hané. Výsledky účinnosti tohoto přípravku dosažené metodou NIH testu byly vyhovující (Vrzal aj., 1986).

Naše práce referuje o výsledcích získaných při stanovení imunogenní schopnosti vakcíny detekcí specifických antirabických protilátek po vakcinaci psů.

Imunitní odpověď zvířete na vakcinaci proti vzteklině je možno registrovat jako humorální, buněčnou nebo kombinovanou. Od dob Pasteurových byla pozornost zaměřena zejména na virusneutralizační protilátky a na jejich roli v postexpoziční protekci i profylaxi. U některých zvířat byl prokázán přímý vztah mezi virusneutralizačními protilátkami a protekcí proti vzteklině (Baer, 1977). Antirabické virusneutralizační protilátky představují významnou bariéru v preexpoziční imunitě vyvolané očkováním. Sledování hladiny (titru) specifických antirabických protilátek po vakcinaci zvířat může sloužit ke stanovení imunogenní schopnosti vakcíny. U vztekliny se k průkazu protilátek používá více testů, nejčastěji to je virusneutralizační test (Atanasiu, 1973).

Do ověřování vakcíny proti vzteklině tkáňové inaktivované byla jako kontrolní skupina zařazena skupina psů vakcinovaných komerční vakcínou proti vzteklině tkáňovou živou. Imunitní odpověď psů na její aplikaci byla již dříve ověřena (Procházka aj., 1984).

Výsledky ověřování byly podkladem pro zpracování návodu k použití vakcíny proti vzteklině tkáňové inaktivované.

Imunizaci touto vakcínou lze zahájit od tří měsíců věku zvířat. Za tři týdny po vakcinaci je nutná revakcinace stejnou dávkou a stejným způsobem. K další imunizaci dochází v jednom roku věku zvířat. Po této základní imunizaci se zvířata udržují v imunitě proti vzteklině pravidelnými ročními vakcinacemi.

Zjištěné hodnoty titrů protilátek (dosažené při použití vakcíny proti vzteklině tkáňové inaktivované podle druhého schématu) jsou v korelaci s výsledky získanými při testaci vakcín obdobného typu u psů (Derbyshire a Matthews, 1984 a další).

Protekční schopnost vakcín proti vzteklině lze prokazatelně zhodnotit čelenžním testem, při němž jsou vakcinovaná i nevakcinovaná

zvířata infikována virem vztekliny v takové dávce, která zabíjí všechna kontrolní nevakcinovaná zvířata.

Přestože v popsaném ověřování jsme tyto zátěžové testy nedělali, je možné na základě prací jiných autorů zabývajících se touto problematikou hodnotit dosaženou hladinu protilátek u psů jako dostatečnou k ochraně zvířat proti onemocnění vzteklinou (Merry aj., 1969; Strating aj., 1975 a další).

V návaznosti na získané výsledky byly zahájeny pokusy s čeleními testy u vakcinovaných psů. Dosažené výsledky (dosud nepublikované) svědčí i o vysoké protekční hodnotě nově vyvíjené vakcíny proti vzteklině tkáňové inaktivované.

Literatura

- ABELSETH, M. K.: An attenuated rabies vaccine for domestic animals produced in tissue culture. *Can. veter. J.*, 5, 1964, č. 11, s. 279-286.
- ABELSETH, M. K. — CRAWFORD, K. L. — FREEMAN, J. I. — MILLER, G. B. — SHULER, J. M. — SIKES, R. K.: Compendium of animal rabies vaccines. *J. Amer. veter. med. Ass.*, 176, 1980, s. 398-399.
- ATANASIU, P.: Quantitative assay and potency test of antirabies serum and immunoglobulin. In: *Lab. Techn. Rabies*, Geneva, WHO 1973, s. 314-318.
- BAER, G. M.: Antiviral interferon in animal systems: Effect of interferon on rabies infections of animals. *Tex. Rep. Biol. Med.*, 35, 1977, s. 461-471.
- BROWN, A. L. — MERRY, D. L. — BECKENHAUER, W. H.: One-year immunity in dogs vaccinated with high egg-passage rabies virus grown on established dog kidney cell line. *J. Amer. veter. med. Assoc.*, 153, 1968, č. 2, s. 174-179.
- CABASSO, V. J. — STEBBINS, M. R. — DOUGLAS, A. — SHARPLESS, G. R.: Tissue culture rabies vaccine (Flury LEP) in dogs. *Amer. J. veter. Res.*, 26, 1965, s. 24-32.
- CRICK, J. — BROWN, F.: An inactivated baby hamster kidney cell rabies vaccine for use in dogs and cattle. *Res. veter. Sci.*, 12, 1971, č. 2, s. 156-161.
- DERBYSHIRE, J. B. — MATHEWS, K. A.: Rabies antibody titres in vaccinated dogs. *Can. veter. J.*, 25, 1984, s. 383-385.
- FENJE, P.: A rabies vaccine from hamster kidney tissue cultures — preparation and evaluation in animals. *Can. J. Microbiol.*, 6, 1960, s. 605-610.
- KISSLING, R. E.: Growth of rabies virus in non-nervous tissue culture. *Proc. Soc. exp. Biol. Med.*, 98, 1958, s. 223-225.
- MERRY, D. L. — BROWN, A. L. — BECKENHAUER, W. H.: Subcutaneous vs. intramuscular inoculation of dogs. *Veter. Med. small anim. Clin.*, 1969, s. 675-679.
- PRECAUSTA, P. — SOULEBOT, J. P. — CHAPPUIS, G. — BRUN, A. — BUGAND, M. — PETERMANN, H. G.: Vaccin inactif de la rage préparé à partir de virus multiplié sur culture cellulaire. Immunisation des Carnivores. Joint WHO/IMV/ESSEN Institut Pasteur TUNIS Meeting, Tunis 1983.
- PROCHÁZKA, R. — CHUMELA, J. — VRZAL, V.: Protilátková odpověď psů na aplikaci vakcíny proti vzteklině tkáňové živé z kmene Vnukovo-32. In: *Zbor. ved. Konf. Veterinárne vedy a prax, 5. sympóziu o besnote*, Košice 1984.
- REED, L. J. — MUENCH, H.: A simple method estimating fifty per cent endpoints. *Amer. J. Hyg.*, 27, 1938, s. 493-497.
- SELIGMANN, E. B. J.: The NIH test for potency. *Labour. Tech. in Rabies*, WHO, Geneva 1973, s. 279-286.
- SELIMOV, M. A. — AKSENOVA, T. A. — GRIBENČA, L. F. — KLJUEVA, E. V.: Živaja i inaktivirovannaja kulturnaja antirabičeskaja vakcina iz štamma Vnukovo-32. *Virus.*, XII, 1974, č. 2, s. 230-243.
- SLONIM, D. — BRÁZDOVÁ, R. — ŠTASTNÝ, F.: Primary stimulation of specific neutralizing antibodies in sheep by active fixed rabies virus in lipid adjuvant. *J. Hyg. Epidemiol. Microbiol. Immunol.*, 15, 1971, s. 137-147.

SOULEBOT, J. P. — BRUN, A. — CHAPPUIS, G. — GUILLEMIN, F. — PETERMANN, H. G. — PRECAUSTA, P. — TERRÉ, J.: Medical prophylaxis of animal rabies: choice of an inactivated vaccine. *Ann. Virol. (Inst. Pasteur)*, 133E, 1982, s. 163-169.

STRATING, A. — BUNN, T. O. — GOFF, M. T. — PHILLIPS, C. E.: Efficacy of inactivated tissue culture rabies vaccine in dogs. *J. Amer. veter. med. Assoc.*, 167, 1975, č. 9, s. 809-812.

ŠVRČEK, Š.: Technologický postup výroby inaktivovanej bunkovej adjuvantnej antirabickej vakcíny z kmeňa Vnukovo-32 pre profylaktickú imunizáciu domácich zvierat. [Dielčí realizačný výstup.] Košice, Ústav experimentálnej veterinárnej medicíny MPVŽ SSR 1984.

ŠVRČEK, Š. — VRTIAK, O. J. — GERLACHOV, D. — ĐURAN, A.: Izučenie vlijanja sposobu vedenija, dobavlenija adsorbenta i dozirovki na antigennu aktivnosť živoj kulturnoĭ antirabičeskoj vakcíny SAD-Vnukovo v opyte na krupnom rogaťom skote. *Folia veter.*, 17, 1973, č. 3-4, s. 513-520.

ŠVRČEK, Š. — VRTIAK, O. J. — BENÍŠEK, Z. — ZÁVADOVÁ, J. — SELIMOV, M. A. — ONDREJKA, R. — ALEXANDER, R. — BAJOVÁ, V. — AUGUSTINSKÝ, V.: Aktuálne problémy zdokonalenia imunoprofylaxie lyssy. [Záverečná správa.] Košice, Ústav experimentálnej veterinárnej medicíny MPVŽ SSR 1980. 93 s.

ŠVRČEK, Š. — VRTIAK, O. J. — ZÁVADOVÁ, J. — ALEXANDER, R. — MITTERMAYER, T. — SELIMOV, M. A. — AKSENOVA, T. A. — ŽUFFOVÁ, K. — ONDREJKA, R. — BENÍŠEK, Z. — AUGUSTINSKÝ, V. — KUŠNÍR, J. — ĐURAN, G. — MLYNÁRČIKOVÁ, K. — PETRUŠOVÁ, J. — MISKOLCZYOVÁ, Z. — EPERJEŠIOVÁ, A. — LEŠKOVÁ, M. — MESÁROŠOVÁ, A.: Štúdium imunogénnej a antigénnej aktivity bunkovej antirabickej vakcíny z kmeňa Vnukovo-32. [Záverečná správa o riešení etapy dielčej výskumnej úlohy II.] Košice 1975. 94 s.

VRZAL, V. — ČUPERA, Z. — CHUMELA, J. — ZATLOUKAL, L.: Porovnání účinnosti vyvíjené vakcíny proti vzteklině tkáňové inaktivované s obdobným přípravkem zahraniční výroby metodou NIH testu. *Imunoprofylaxia*, 2, 1986, s. 90-97.

VRTIAK, O. J. — ŠVRČEK, Š. — GERLACHOV, D.: Štúdium imunoprofylaxie besnoty. II. Štúdium vplyvu spôsobu aplikácie a pridania adsorbentu na imunogénnu a antigénnu aktivitu vývoju bunkovej antirabickej vakcíny z kmeňa SAD-Vnukovo v pokuse na laboratórnych zvieratách. *Folia veter.*, 17, 1973, č. 1-2, s. 199-206.

VRTIAK, O. J. — ŠVRČEK, Š. — GERLACHOV, D. — BIELIK, J. — ĐURAN, A.: Štúdium imunogénnej a antigénnej aktivity bunkovej antirabickej vakcíny z kmeňa SAD-Vnukovo. [Čiastková záverečná správa.] Košice 1972. 163 s.

WHO Expert Committee on Rabies. Sixth Report. Geneva 1973.

WHO Expert Committee on Rabies. Seventh Report. Geneva 1984.

ZÁVADOVÁ, J. — ŠVRČEK, Š. — VRTIAK, O. J. — BENÍŠEK, Z. — SELIMOV, M. A. — ONDREJKA, R.: Příprava inaktivovanej bunkovej adjuvantnej antirabickej vakcíny z kmeňa Vnukovo-32. In: Zbor. ved. Konf. Veterinárne vedy a prax. 5. sympóziu o besnote, Košice 1984.

Došlo dne 28. 7. 1987

ВРЗАЛ, В. — ЧУПЕРА, З. — ХУМЕЛА, Й. — ЗАТЛОУКАЛ, Л. (Биовета, н. п., Ивановице на Гане; Институт государственного контроля ветеринарных биопрепаратов и лекарственных препаратов, Брно): Реакция антител у собак вакцинированных против бешенства тканевой инактивационной и живой вакцинами. *Veter. Med. (Praha)*, 33, 1988 (8) : 485-494.

Изучали уровень вируснейтрализующих антител в сыворотках собак после применения вакцины против бешенства тканевого живого. Использовали операционные номера вакцин произведенных в н. п. Биовета Ивановице на Гане, которые были в определенных дозах вакцинации применены внутримышечно. Оценивали вирус тестом нейтрализации на мышцах при разведении серии сывороток в противоположность константной дозе постоянного вируса бешенства штамма CVS. Начало синтеза вируснейтрализующих антител, высота из уровня и их существование было у обоих типов биопрепаратов различным. Применение вакцины против бешенства тканевого

и живого вызвало более ранний синтез вируснейтрализующих антител, но ревакцинация через три недели после первичной вакцинации способствовала дальнейшему росту титра вируснейтрализующих антител, уровень которых после ревакцинации достигал более высокого значения и более плавно понижался в сравнении с уровнем вируснейтрализующих антител после применения живой антирабической прививки. Результаты полученные при проверке тканевой инактивационной вакцины были использованы для разработки более эффективного способа иммунизации.

антирабические прививки тканевые инактивационные и живые; вируснейтрализующие антитела; динамика антител; способ иммунизации

VRZAL, V. — ČUPERA, Z. — CHUMELA, J. — ZATLOUKAL, L. (Bioveta, National Corporation, Ivanovice na Hané; Institute for State Control of Veterinary Biological Preparations and Drugs, Brno): *The Antibody Response of Dogs to the Administration of Rabies Vaccine in Inactivated and Live Tissue Forms*. Veter. Med. (Praha), 33, 1988 (8) : 485-494.

The contents of virus neutralizing antibodies were studied in the serums of dogs after the administration of the inactivated tissue rabies vaccine and the live tissue rabies vaccine. The operation numbers of vaccines produced by the Bioveta National Corporation at Ivanovice na Hané were used in the trials and were administered intramuscularly at the given vaccination doses. The evaluation was based on the virus neutralizing test with mice at serial serum dilution ratios, as compared with the constant dose of fixed rabies virus of the CVS strain. The two types of biological preparations differed from each other in the onset of the formation of virus neutralizing antibodies, in the contents of these antibodies, and the time of their formation. The administration of the live tissue rabies vaccine induced the earlier formation of virus neutralizing antibodies and the content of these antibodies declined step by step, having reached a peak. Single administration of the inactivated tissue rabies vaccine induced the later and weaker formation of virus neutralizing antibodies, but re-vaccination three weeks after the first administration resulted in further growth of the titre of virus neutralizing antibodies: after re-vaccination the titre of the virus neutralizing antibodies increased again and their level decreased more slowly, compared with the decrease in the level of virus neutralizing antibodies after the administration of the live rabies vaccine. The results obtained during the testing of the inactivated tissue vaccine were used for working out an effective immunization technique.

inactivated and live tissue rabies vaccine; virus neutralizing antibodies; dynamics of antibodies; immunization technique

VRZAL, V. — ČUPERA, Z. — CHUMELA, J. — ZATLOUKAL, L. (Bioveta, VEB Ivanovice na Hané; Institut für staatliche Kontrolle der veterinärmedizinischen Biopräparate und Arzneimittel, Brno): *Antikörperreaktion der Hunde auf die Applikation von lebendigen und inaktivierten Gewebvakzinen gegen Tollwut*. Veter. Med. (Praha), 33, 1988 (8) : 485-494.

Wir untersuchten den Spiegel von virusneutralisierenden Antikörpern in Seren der Hunde nach der Applikation von inaktivierten und der lebendigen Gewebvakzinen gegen Tollwut. Es wurden Operationszahlen der im VEB Bioveta Ivanovice na Hané hergestellten Vakzine angewendet, die in den festgelegten Vakzinationsgaben intramuskular appliziert wurden. Wir werteten mit Hilfe des virusneutralisierenden Tests an Mäusen bei einer Serienverdünnung der Seren gegen die konstante Gabe von fixem Tollwutvirus von Stamm CVS aus. Der Beginn der Bildung der virusneutralisierenden Antikörper, die Höhe ihres Spiegels und ihre Dauer waren bei den beiden Typen der Biopräparate unterschiedlich. Die Applikation der lebendigen Gewebvakzine gegen Tollwut rief eine frühere Bildung von virusneutralisierenden Antikörpern hervor. Ihr Spiegel fiel nach dem Erreichen des Gipfels allmählich ab. Die einmalige Applikation der inaktivierten Gewebvakzine gegen Tollwut rief eine verspätete und niedrigere Bildung von virusneutralisierenden Antikörpern hervor, aber die Revakzination drei Wochen nach der Primovakzination führte zu einem Anstieg des Titters der virusneutralisierenden

Antikörper, deren Spiegel nach der Revakzination höhere Werte erzielte und im Vergleich zum Spiegel der virusneutralisierenden Antikörper nach der Applikation der lebendigen antirabischen Vakzine langsamer abfiel. Die bei der Überprüfung der inaktivierten Gewebvakzine ermittelten Ergebnisse wurden für die Ausarbeitung eines wirksamen Immunisierungsverfahrens herangezogen.

antirabische inaktivierte und lebendige Gewebvakzine; virusneutralisierende Antikörper; Antikörperdynamik; Immunisierungsverfahren

Adresy autorů:

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

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

HISTOPATOLOGICKÉ NÁLEZY A ZMĚNY KONCENTRACE AFLATOXINŮ A LIPIDŮ V JÁTRECH NOSNIC PŘI EXPERIMENTÁLNÍ AKUTNÍ AFLATOXIKÓZE

L. Fukal, K. Haisl, Z. Sova, H. Reisnerová

FUKAL, L. — HAISL, K. — SOVA, Z. — REISNEROVÁ, H. (Vysoká škola zemědělská, Praha; Ústřední státní veterinární ústav, Praha): *Histopatologické nálezy a změny koncentrace aflatoxinů a lipidů v játrech nosnic při experimentální akutní aflatoxikóze*. Veter. Med. (Praha), 33, 1988 (8) : 495-502.

Nosnicím bylo jednorázově perorálně podáno 5 mg aflatoxinu B₁ a 5 mg aflatoxinu G₁. Histologické vyšetření jater prokázalo reverzibilní i ireverzibilní změny jaterního parenchymu a žlučovýchodů. Mezi závažné nálezy patřily těžká centroacinózní steatóza a metaplazie epitelu žlučovýchodů se současným poškozením jader buněk pokračující nahrazováním poškozeného epitelu vazivem. Aktivita sérových enzymů (aspartátaminotransferáza AST, alaninaminotransferáza ALT, gama-glutamyltransferáza GMT) zůstala nezměněna i sedm dnů po intoxikaci. To potvrzuje méně závažné změny v jaterním parenchymu. Koncentrace volných aflatoxinů v játrech byla nejvyšší čtyři hodiny po intoxikaci a postupně klesala až k nulové hodnotě. Obsah lipidů v játrech se zvýšil až čtyřnásobně.

nosnice; aflatoxiny; aflatoxikóza; játra; histopatologické nálezy; lipidy

Aflatoxiny — mykotoxiny produkované některými kmeny plísní *Aspergillus flavus* a *Aspergillus parasiticus* — se poměrně často vyskytují v jaderných krmivech. Vyšší koncentrace těchto mykotoxinů mohou významně snižovat užitkovost hospodářských zvířat. U drůbeže, která dostávala krmivo kontaminované aflatoxinem, bylo pozorováno zpomalení růstu, zhoršení konverze krmiva, poškození jater a imunodeprese (Pier, 1981; Edds a Bortell, 1983). Při studiu detailních účinků aflatoxinů na játra drůbeže byla největší pozornost věnována kuřatům brojlerového typu (Smith a Hamilton, 1970; Bryden aj., 1979; Lanza aj., 1980a; Chen aj., 1985; Giambone aj., 1985a, b; Moorthy aj., 1985; Dafalla aj., 1987b i další). U nosnic byl sledován především účinek na reprodukční orgány, oplozenost a líhnivost vajec, konzumní hodnotu vajec a přestup aflatoxinu do vajec (Howarth a Wyatt, 1976; Hafez aj., 1979; Exarchos a Gentry, 1982; Clarke aj., 1986) i další. Histopatologické nálezy na játrech jsou popsány jen u provozních případů s podezřením na aflatoxikózu (Hofacre aj., 1985; Dafalla aj., 1987a). Hamilton a Garlich (1971) popisují tukový syndrom jater u nosnic, kterým byla do krmiva přidávána vysoká dávka aflatoxinu.

MATERIÁL A METODY

Deseti nosnicím (Hissex, bílá) v plné snášce bylo jednorázově podáno *per os* 5 mg aflatoxinu B₁ a 5 mg aflatoxinu G₁ v šišťce z mouky. Kontrolní nosnice dostaly placebo. Během experimentu i v navykací fázi byla slepicím podávána

voda a krmná směs NP *ad libitum*. V krmné směsi nebyl prokázán aflatoxin. V intervalech 4 hodiny — 8 hodin — 3 dny — 4 dny — 7 dnů po intoxikaci byly vždy dvě pokusné nosnice utráceny. Jedna část jater byla uložena při teplotě -20°C až do analýzy (stanovení aflatoxinů a lipidů). Druhá část jater byla uložena při teplotě 4°C v 10% formaldehydu až do histologického vyšetření. Vzorky byly zpracovány běžnou parafinovou metodou a přehledně barveny hematoxylin-eozinem.

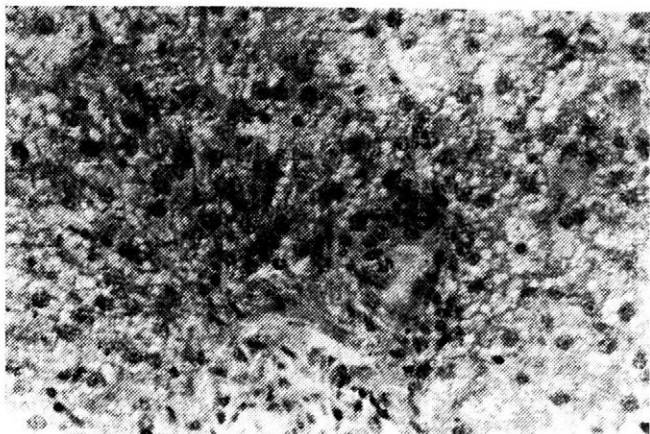
Aflatoxin byl stanoven po extrakci chloroformem (Píčov^a aj., 1981) radioimunochemickou metodou (RIA) s radioligandem 3-(^{125}I) tyramid aflatoxin B₁-1-(0-karboxymethyl) oximu (Píčov^a aj., 1981; Fukal aj., 1986). Použité králičí antisérum (Fukal aj., 1987a) dávalo křížové reakce s aflatoxinem B₁ 100%, s aflatoxinem B₂ 20,8%, s aflatoxinem G₁ 47,6%, s aflatoxinem G₂ 15,9% a s aflatoxinem M₁ 1,6%. Jelikož antisérum výrazně interaguje s oběma podávanými aflatoxiny (B₁, G₁) a s jedním z metabolitů (aflatoxin M₁) mnohem méně, interpretujeme stanovenou koncentraci metodou RIA jako koncentraci aflatoxinu (B₁ + G₁). Charakteristika RIA: specifická vazba 34–43%; nespecifická vazba 8–11%; formální práh detekce 7–22 pg aflatoxinu B₁ v 0,1 ml; intercept I₅₀ 56–160 pg aflatoxinu B₁ v 0,1 ml. Je známo, že se v biologickém materiálu mohou vyskytovat látky, které nemají strukturu aflatoxinů, ale interferují při RIA stanovení aflatoxinu B₁ a mohou způsobovat falešné zvýšení stanovených koncentrací aflatoxinu (Fukal aj., 1987b). Proto jsme od stanovené koncentrace aflatoxinu v konkrétním vzorku jater pokusné skupiny odečítali stanovenou hodnotu v játrech kontrolních jedinců.

Koncentrace lipidů v játrech byla stanovena po extrakci gravimetricky podle Smithe a Hamiltona (1970). Celková lipémie a aktivita aspartátaminotransferázy (AST), alaninaminotransferázy (ALT) a gama-glutamyltransferázy (GMT) v séru byly stanoveny za použití analytických souprav — Bio-La testů z Lachemy, n. p., Brno.

VÝSLEDKY

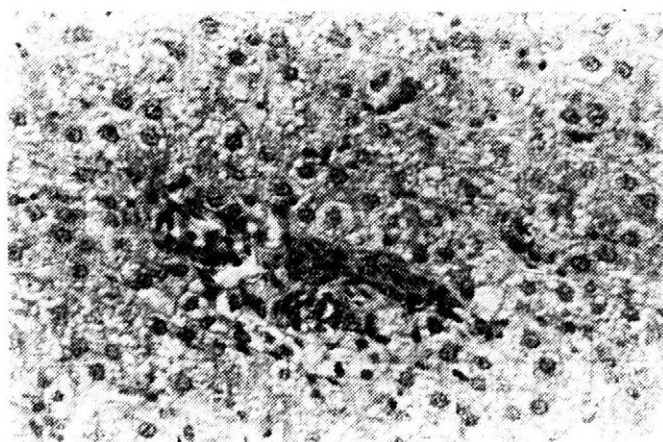
U pokusných nosnic byla od 30. hodiny po intoxikaci pozorována apatie a částečná ataxie. Postupně se jejich stav zlepšoval, ale ani po sedmi dnech nebyly reakce nosnic v mezích normálu.

Histologický nález na játrech kontrolních slepic (č. 1 a 2) a slepic utrácených čtyři hodiny po podání aflatoxinů (tab. I) lze označit za nespecifický pro daný druh noxy. Osm hodin po intoxikaci se začínají na játrech rozvíjet patologické změny svědčící pro alteraci parenchymu alimentární cestou. U jedné nosnice je patrná alterace karyoplazmy epitelální výstelky žlučových. Vysoký stupeň patologických změn v jaterním parenchymu byl zaznamenán tři dny po podání aflatoxinů. Plně jsou také rozvinuty alternativní změny akutního charakteru v epitelu žlučových (obr. 1). Dochází k metaplazii epitelu při současném poškození ja-



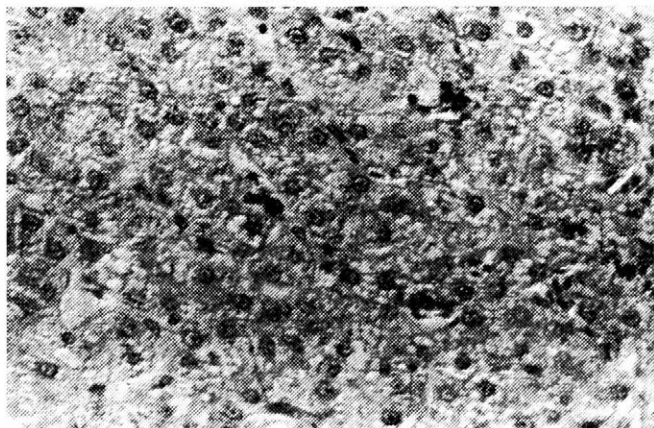
1. Proliferace epitelu žlučového, epitel z části dvouvrstevný; tři dny po podání aflatoxinů (barveno HE, obj. 40, proj. 3,2) — Proliferation of bile duct epithelium, part of epithelium is two-layered; three days after aflatoxin administration (HE stained, lens 40, proj. 3,2)

2. Degenerace epitelu žlučového a částečná náhrada epitelu vazivem, aktivace Kupferových buněk; sedm dnů po podání aflatoxinů (barveno HE, obj. 40, proj. 3.2) — Degeneration of bile duct epithelium and partial replacement of epithelium by connective tissue, activation of the Kupfer cells: seven days after aflatoxin administration (HE stained, lens 40, proj. 3.2)



I. Dynamika histologických nálezů v játrech slepic po jednorázové perorální intoxikaci aflatoxiny — Dynamics of histological findings in the liver of hens after single oral intoxication with aflatoxins

Čas po podání aflatoxinů	Číslo slepice	Histologický nález na játrech
0 hodin	1	eozinofilie, hyalinní zkapénkovatění cytoplazmy hepatocytů, žlučové cesty bez nálezů
	2	dtto č. 1
4 hodiny	3	difúzní hyalinní zkapénkovatění cytoplazmy hepatocytů, mírná eozinofilie
	4	akutní intersticiální hepatitida
8 hodin	5	centroacinózní tuková dystrofie, aktivace Kupferových buněk, v epitelu žlučových výrazná bazofilní jádérka, karyoplazma prosvětlená
	6	eozinofilie, centroacinózní hyalinní zkapénkovatění cytoplazmy hepatocytů, aktivace Kupferových buněk, vakuolizace karyoplazmy epitelálních buněk žlučových
3 dny	7	těžká centroacinózní steatóza, nodulární hyperplazie lymfoidní tkáně, proliferace epitelu žlučových, epitel zčásti dvouvrstevný, jádra epitelálních buněk hyperchromatická
	8	dtto č. 7
4 dny	9	dtto č. 7 + pyknóza a karyorexe jader hepatocytů centroacinózně překrvení, hyalinní zkapénkovatění cytoplazmy hepatocytů, aktivace Kupferových buněk, zvýšená fibroprodukce ve žlučových, vlastní epitel žlučových bez nálezů
	10	
7 dnů	11	aktivace Kupferových buněk, difúzní tuková infiltrace až dystrofie (obr. 3), degenerace epitelu žlučových, částečná náhrada epitelu vazivem, ostatní epitelální buňky s výrazně hypochromatickými jádry
	12	dtto č. 11 + nodulární hyperplazie lymfoidní tkáně (obr. 4)



3. Difúzní tuková infiltrace až dystrofie jaterního parenchymu; sedm dnů po podání aflatoxinů (barveno HE, obj. 40, proj. 3,2) — Diffuse fatty infiltration to dystrophy of hepatal parenchyma; seven days after aflatoxin administration (HE stained, lens 40, proj. 3,2)

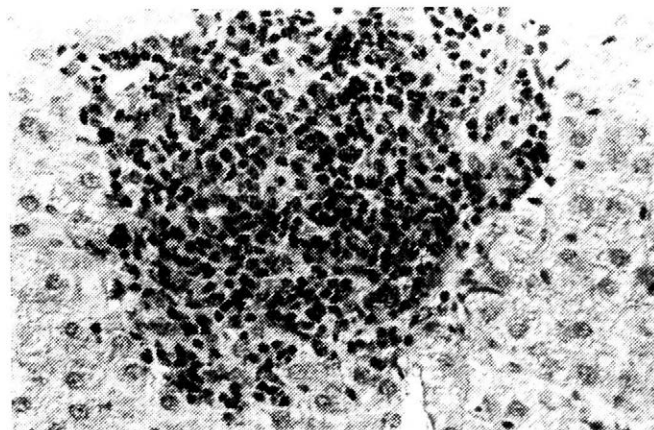
der těchto buněk. Po čtyřech dnech začínají nad alternativními změnami epitelu žlučových převládat změny reparativní povahy (zvýšená fibroprodukce). Tyto změny jsou velmi dobře patrné sedmý den po intoxikaci, kdy je poškozený epitel stále ve větší míře nahrazován vazivem (obr. 2). Zaznamenané reverzibilní i ireverzibilní změny parenchymu doplňují histologický obraz poškození jater.

Nejvyšší obsah volného aflatoxinu ($B_1 + G_1$) v játrech byl zaznamenán již čtyři hodiny po podání slepicím (tab. II). Tři dny a později po intoxikaci nebyl aflatoxin ve většině případů v játrech zjištěn, popř. byla stanovená koncentrace nižší než $1 \mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$.

Koncentrace lipidů v játrech slepic utracených čtyři a osm hodin po intoxikaci se příliš nelišila od hodnoty zjištěné u kontrolních slepic. V dalších intervalech koncentrace lipidů výrazně vzrostly (až čtyřnásobně).

Zvýšení hodnoty celkové lipémie bylo zjištěno u jedné slepice za osm hodin po podání aflatoxinů a u všech slepic v delších časových intervalech.

U aktivit enzymů AST, ALT a GMT v séru slepic nebyly ani v jednom intervalu po intoxikaci zaznamenány výrazné změny.



4. Nodulární hyperplazie lymfatické tkáně; sedm dnů po podání aflatoxinů (barveno HE, obj. 40, proj. 3,2) — Nodular hyperplasia of lymphatic tissue; seven days after aflatoxin administration (HE stained, lens 40, proj. 3,2)

II. Dynamika koncentrace aflatoxinů ($B_1 + G_1$) a koncentrace lipidů v játrech, celkové lipémie a aktivit enzymů v séru nosnic po intoxikaci aflatoxiny — Dynamics of aflatoxin concentrations ($B_1 + G_1$) and lipid concentrations in the liver of laying hens after aflatoxin intoxication

Čas po podání aflatoxinů	Číslo slepice	Koncentrace		Celková lipémie (g.l ⁻¹)	Aktivita		
		aflatoxinů (μg.kg ⁻¹)	lipidů (g.kg ⁻¹)		AST	ALT	GMT
		v játrech			(μkat.l ⁻¹) v séru		
0 hodin	1	0,0	29,1	3,4	1,23	0,11	0,31
	2	0,0	26,5	9,9	1,18	0,14	0,62
4 hodiny	3	21,0	27,7	6,1	1,09	0,17	0,33
	4	39,0	25,8	9,6	1,21	0,13	0,56
8 hodin	5	3,0	27,4	4,2	1,17	0,10	0,35
	6	19,0	41,3	34,9	1,29	0,15	0,76
3 dny	7	0,0	112,6	16,4	1,06	0,14	0,66
	8	0,6	108,4	16,4	1,23	0,16	0,39
4 dny	9	0,0	119,2	22,5	1,12	0,13	0,48
	10	0,0	103,2	16,8	1,16	0,16	0,65
7 dnů	11	0,5	112,0	41,4	1,18	0,13	0,48
	12	0,0	98,7	29,4	1,06	0,10	0,53

DISKUSE

Histopatologické nálezy na játrech nosnic v našem experimentu se významněji neliší od nálezů popsanych dalšími autory na játrech kuřat, kterým bylo od prvních dnů do sedmi týdnů věku podáváno krmivo s obsahem 0,5 až 6 mg aflatoxinu B_1 v jednom kilogramu (Carnaghan aj., 1966; Giambone aj., 1985a, b; Chen aj., 1985; Moorthy aj., 1985; Dafalla aj., 1987b). Podstatné je, že jsme na rozdíl od některých autorů nezaznamenali nekrózy ani nekrobiózy buněk jaterního parenchymu. Odpovídá tomu i zjištění, že aktivity jaterních enzymů v séru se nezvýšily.

Aflatoxiny se v organismu nekumulují, ale jsou v hepatocytech transformovány oxidativními enzymy mikrosomální frakce. Nejvíce je mechanismus prostudován u nejtoxičtějšího a nejčastěji se vyskytujícího aflatoxinu — aflatoxinu B_1 (AFB $_1$). AFB $_1$ může být alternativně hydroxylován na AFM $_1$, AFQ $_1$, AFP $_1$, aflatoxikol, aflatoxikol M $_1$ a H $_1$ a AFB $_{2a}$, které jsou vylučovány z organismu po konjugaci na glukuronát či sulfát žluči a moči, popř. moči a mlékem v nekonjugovaném stavu. AFB $_{2a}$ se snadno váže na bílkoviny a je považován za původce akutního toxického efektu AFB $_1$. AFB $_1$ může být také transformován na nestabilní AFB $_1$ -8,9-oxid, který je schopen se rychle vázat na nukleofilní akceptory, jako jsou nukleové kyseliny a bílkoviny, popř. vytvářet konjugát s glutathionem, který je pak vylučován žluči (Busby a Wogan,

1979). Přestože jsme za určitou dobu po intoxikaci neprokázali významné koncentrace volného aflatoxinu ($B_1 + G_1$) v játrech nosnic, deriváty aflatoxinů vázané na vysokomolekulární látky perzistují v organismu delší dobu. Z výsledků naší práce je zřejmé, že stanovení volného aflatoxinu v játrech nemusí být spolehlivým ukazatelem diagnózy aflatoxikózy.

Zjištěné zvýšené koncentrace lipidů v játrech nosnic po intoxikaci aflatoxiny jsou ve shodě s údaji některých autorů, kteří dlouhodobě podávali drůbeži krmivo s vysokým obsahem AFB₁. Dafalla aj. (1987a) uvádějí u slepic zvýšení koncentrace tuků v játrech na 275 % hodnoty u kontrolní skupiny; Huff aj. (1975) zaznamenali u nosnic zvýšení na 219 %; Smith a Hamilton (1970), Bryden aj. (1979) a Chen aj. (1985) uvádějí u kuřat brojlerového typu zvýšení na hodnotu 200 %, 456 % a 548 %. U japonských křepelk nedochází při aflatoxikóze k výraznému zvýšení obsahu lipidů v játrech. Pegram aj. (1985) zaznamenali zvýšení u pokusné skupiny pouze o 16 % proti křepelkám, které nedostávaly do krmiva aflatoxin. Chang a Hamilton (1982) neprokázali u japonských křepelk s experimentální aflatoxikózou signifikantní změnu obsahu lipidů v játrech ani v krevní plazmě.

Zvýšená celková lipémie u nosnic v našem experimentu koresponduje pouze se zjištěním autorů Dafalla aj. (1987a), že u slepic s aflatoxikózou byla celková cholesterolémie zvýšená. U kuřat s experimentální aflatoxikózou zaznamenali Donaldson aj. (1972) a Tung aj. (1972) snížení koncentrace celkových lipidů v séru; Lanza aj. (1980b, 1982) zase ukazují snížení koncentrace cholesterolu. Podobně u japonských křepelk se po přidání AFB₁ do krmiva snížila celková lipémie (Pegram aj., 1985). Rozdíl v účinku aflatoxinu na koncentraci tuků v séru slepic a v séru kuřat lze vysvětlit skutečností, že účinek aflatoxinu se výrazně mění se stářím organismu (Lanza aj., 1980a).

Literatura

- BRYDEN, W. L. — CUMMING, R. B. — BALNAVE, D.: The influence of vitamin A status on the response of chickens to aflatoxin B₁ and changes in liver lipid metabolism associated with aflatoxicosis. *Brit. J. Nutr.*, **41**, 1979, s. 529-540.
- BUSBY, W. R. — WOGAN, G. N.: Mycotoxins and alimentary mycotoxicosis. In: *Foodborne Infections and Intoxications*. Eds.: RIEMANN, H. — BRYAN, F. L. New York, Academic Press 1979, s. 519-610.
- CARNAGHAN, R. B. A. — LEWIS, G. — PATTERSON, D. S. P. — ALLCROFT, R.: Biochemical and pathological aspects of groundnut poisoning in chickens. *Path. veter.*, **3**, 1966, s. 601-615.
- CLARKE, R. N. — DOERR, J. A. — OTTINGER, M. A.: Relative importance of dietary aflatoxin and feed restriction on reproductive changes associated with aflatoxicosis in the maturing white leghorn male. *Poult. Sci.*, **65**, 1986, s. 2239-2245.
- DAFALLA, R. — HASSAN, Y. M. — ADAM, S. E. I.: Fatty and hemorrhagic liver and kidney syndrome in breeding hens caused by aflatoxin B₁ and heat stress in the Sudan. *Veter. hum. Toxicol.*, **29**, 1987a, s. 252-254.
- DAFALLA, R. — YAGI, A. I. — ADAM, S. E. I.: Experimental aflatoxicosis in hybro-type chicks: sequential changes in growth and serum constituents and histopathological changes. *Veter. hum. Toxicol.*, **29**, 1987b, s. 222-226.
- DONALDSON, W. E. — TUNG, H. T. — HAMILTON, P. B.: Depression of fatty acid synthesis in chick liver (*Gallus domesticus*) by aflatoxin. *Comp. Biochem. Physiol.*, **41**, 1972, s. 843-847.
- EDDS, G. T. — BORTELL, R. R.: Biological effects of aflatoxin in poultry. In: *Aflatoxin and Aspergillus flavus in corn*. Eds.: DIENER, U. L. — ASQUITH, R. L. — DICKENS, J. W., So. Coop. Ser. Bull., **279**, Alabama University, 1983, s. 56-61.

- EXARCHOS, C. C. — GENTRY, R. F.: Effect of aflatoxin B₁ on egg production. *Avian Diseases*, 26, 1982, s. 191-195.
- FUKAL, L. — PROŠEK, J. — RAUCH, P. — SOVA, Z. — KÁŠ, J.: Choice of procedure conditions for radioimmunoassay of aflatoxin B₁ using ¹²⁵I as a marker and dextran-coated charcoal as a separation matrix. *J. radioanalyt. nucl. Chem.*, 108, 1986, s. 259-268.
- FUKAL, L. — PROŠEK, J. — RAUCH, P. — SOVA, Z. — KÁŠ, J.: Selection of the separation step in the radioimmunoassay for aflatoxin B₁ using ¹²⁵I as a marker. *J. radioanalyt. nucl. Chem.*, 109, 1987a, s. 383-391.
- FUKAL, L. — SOVA, Z. — REISNEROVÁ, H. — RAUCH, P.: Problematika interferencí při radioimunochemickém stanovení aflatoxinu B₁ v biologickém materiálu. *Biol. Chem. Veter.*, 23, 1987b, s. 557-564.
- GIAMBRONE, J. J. — DIENER, U. L. — DAVIS, N. D. — PANANGALA, V. S. — HOERR, F. J.: Effects of purified aflatoxin on broiler chickens. *Poult. Sci.*, 64, 1985a, s. 852-858.
- GIAMBRONE, J. J. — DIENER, U. L. — DAVIS, N. D. — PANANGALA, V. S. — HOERR, F. J.: Effects of aflatoxin on young turkeys and broiler chickens. *Poult. Sci.*, 64, 1985b, s. 1678-1684.
- HAFEZ, A. H. — MEGALLA, S. E. — ABDEL-FATTAH, H. M. — KAMEL, Y. Y.: Effects of aflatoxin on ovaries and testicles in mature domestic fowls. *Assiut veter. Med. J.*, 6, 1979, s. 183-188.
- HAMILTON, P. B. — GARLICH, J. D.: Aflatoxin as a possible cause of fatty liver syndrome. *Poult. Sci.*, 50, 1971, s. 800-804.
- HOFACRE, C. L. — PAGE, R. K. — FLETCHER, O. J.: Suspected mycotoxicosis in laying hens. *Avian Diseases*, 29, 1985, s. 846-849.
- HOWARTH, B. Jr. — WYATT, R. D.: Effect of dietary aflatoxin on fertility, hatchability, and progeny performance of broiler breeder hens. *Appl. envir. Microbiol.*, 31, 1976, s. 680-684.
- HUFF, W. E. — WYATT, R. D. — HAMILTON, P. B.: Effects of dietary aflatoxin on certain egg yolk parameters. *Poult. Sci.*, 54, 1975, s. 2014-2018.
- CHANG, C. F. — HAMILTON, P. B.: Experimental aflatoxicosis in young Japanese quail. *Poult. Sci.*, 61, 1982, s. 869-874.
- CHEN, C. — PEARSON, A. M. — COLEMAN, T. H. — GRAY, J. I. — WOLZAK, A. M.: Broiler aflatoxicosis with recovery after replacement of the contaminated diet. *Brit. poult. Sci.*, 26, 1985, s. 65-71.
- LANZA, G. M. — WASHBURN, K. W. — WYATT, R. D.: Variation with age in response of broilers to aflatoxins. *Poult. Sci.*, 59, 1980a, s. 282-288.
- LANZA, G. M. — WASHBURN, K. W. — WYATT, R. D.: Strain variation in hematological response of broilers to dietary aflatoxin. *Poult. Sci.*, 59, 1980b, s. 2686-2691.
- LANZA, G. M. — WASHBURN, K. W. — WYATT, R. D. — MARKS, H. L.: Genetic variation of physiological response to aflatoxin in *Gallus domesticus*. *Theor. appl. Genet.*, 63, 1982, s. 207-212.
- MOORTHY, A. S. — MAHENDAR, M. — RAO, P. R.: Hepathology in experimental aflatoxicosis in chickens. *Indian J. anim. Sci.*, 55, 1985, s. 629-632.
- PEGRAM, R. A. — WYATT, R. D. — MARKS, H. L.: Comparative responses of genetically resistant and nonselected Japanese quail to dietary aflatoxin. *Poult. Sci.*, 64, 1985, s. 266-272.
- PIER, A. C.: Mycotoxins and animal health. *Adv. veter. Sci. comp. Med.*, 42, 1981, s. 185-243.
- PÍCHOVÁ, D. — PÍCHA, J. — VEREŠ, K. — DOLEŽALOVÁ, V.: Stanovení aflatoxinu B₁ v krmivech a biologickém materiálu RIA postupem pomocí vlastních specifických protilátek a ligandu ¹²⁵I pro potřeby živočišné výroby. [Realizační výstup dílčího úkolu.] Praha-Uhřetěves, VÚŽV 1981, s. 1-26.
- SMITH, J. W. — HAMILTON, P. B.: Aflatoxicosis in the broiler chicken. *Poult. Sci.*, 49, 1970, s. 207-215.
- TUNG, H. T. — DONALDSON, W. E. — HAMILTON, P. B.: Altered lipid transport during aflatoxicosis. *Toxicol. appl. Pharmacol.*, 22, 1972, s. 97-104.

Došlo dne 15. 10. 1987

ФУКАЛ, Л. — ХАИСЛ, К. — СОВА З. — РАЙСНЕРОВА, Г. (Сельскохозяйственный институт Прага; Центральный государственный институт ветеринарии, Прага): Гистопатологические диагнозы и изменения концентраций альфатоксинов и липидов в печени несушек при экспериментальном остром афлатоксикозе. *Veter. Med. (Praha)*, 33, 1988 (8) : 495-502.

Несушкам разово перорально вводили 5 мг В₁ и 5 мг афлатоксина G₁. Гистологическое исследование печени показало возрастные и незрелые изменения паренхимы печени и желчевыводящих путей. К серьезным диагнозам относятся тяжелый центроацинозный стеатоз и метаплазия эпителия желчевыводящих путей с одновременным повреждением клеточных ядер, развивающихся в виде замещения поврежденного эпителия соединительной тканью. Активность сывороточных ферментов (аспартатаминотрансфераза AST, аланинаминотрансфераза ALT, гаммаглутамилтрансфераза GMT) не менялась еще 7 дней после интоксикации, что свидетельствует о несерьезных изменениях паренхимы печени. Концентрация свободных афлатоксинов в печени наибольшая спустя 4 ч после интоксикации и постепенно понижается к нулевому значению. Липиды в печени увеличивают свое содержание четырехкратно.

несушки; афлатоксины; печень; гистопатологические изменения; липиды

FUKAL, L. — HAIŠL, K. — SOVA, Z. — REISNEROVÁ, H. (University of Agriculture, Praha; Central State Veterinary Institute, Praha): *Histopathological Findings and Changes in the Concentrations of Aflatoxins and Lipids in the Liver of Laying Hens during Experimental Acute Aflatoxicosis*. Veter. Med. (Praha), 33, 1988 (8) : 495-502.

Laying hens were treated with a single oral administration of 5 mg aflatoxin B₁ and 5 mg of aflatoxin G₁. Reversible and irreversible changes in the hepatic parenchyma and bile ducts were demonstrated by histological examination of liver. The serious findings included severe centroacinar steatosis and metaplasia of the epithelium of the bile ducts, accompanied by damage to the liver, the damaged epithelium being replaced by connective tissue. The activities of serum enzymes (aspartate aminotransferase AST, alanine aminotransferase ALT, gammaglutamyl transferase GMT) remained unchanged for as long as seven days after intoxication. This confirms less serious changes in the hepatic parenchyma. The highest concentration of free aflatoxins in liver was recorded four hours after intoxication and declined step by step towards zero. The content of lipids in liver grew up to fourfold.

laying hens; aflatoxins; aflatoxicosis; liver; histopathological findings; lipids

FUKAL, L. — HAIŠL, K. — SOVA, Z. — REISNEROVÁ, H. (Landwirtschaftliche Hochschule, Praha; Zentrales staatliches Veterinärinstitut, Praha): *Histopathologische Befunde und Veränderungen der Aflatoxine- und Lipidekonzentrationen in Lebern von Legehennen bei experimenteller akuter Aflatozikose*. Veter. Med. (Praha), 33, 1988 (8) : 495-502.

An Legehennen wurden einmalig peroral 5 mg Aflatoxin B₁ und 5 mg Aflatoxin G₁ verabreicht. Die histologische Untersuchung der Leber wies sowohl reversible als auch irreversible Veränderungen des Leberparenchyms und der Gallengänge auf. Zu den schwerwiegenden Befunden zählten eine centroazinöse Steatose und eine Metaplasie des Gallengangsepithels mit gleichzeitiger Beschädigung der Zellkerne, mit fortschreitender Ersetzung des geschädigten Epithels durch Bindegewebe. Die Aktivität der Serumenzyme (Aspartataminotransferase AST, Alaninaminotransferase ALT, Gamma-Glutamyltransferase GMT) blieb unverändert selbst sieben Tage nach der Intoxikation. Dies bestätigt weniger bedeutsame Veränderungen im Leberparenchym. Die Konzentration freier Aflatoxine in der Leber war in vier Stunden nach der Intoxikation am höchsten, um dann allmählich bis auf den Nullwert herabzusinken. Der Gehalt der Lipide in der Leber erhöhte sich bis auf das Vierfache.

Legehennen; Aflatoxine; Aflatozikose; Leber; histopathologische Befunde; Lipide

Adresy autorů:

Ing. Ladislav Fukal, CSc., prof. MVDr. Dr. h. c. Zdeněk Sova, DrSc., ing. Hana Reisnerová, Vysoká škola zemědělská, 165 21 Praha 6 - Suchbátarův
MVDr. Karel Haišl, Ústřední státní veterinární ústav, Sidlištní 136, 165 03 Praha 6 - Lysolaje

INTERAKCIA IMUNOMODULÁTORA CHLORIDU LEVAMIZÓLIA S KRÁLIČÍMI ERYTHROCYTMI, HEMOPROTEÍNAMI A S OVČÍM HEMOGLOBÍNOM

V. Šutiak, I. Šutiaková

ŠUTIAK, V. — ŠUTIAKOVÁ, I. (Vysoká škola veterinárska, Košice): *Interakcia imunomodulátora chloridu levamizólia s králičími erythrocytmi, hemoproteínami a s ovčím hemoglobínom*. Veter. Med. (Praha), 33, 1988 (8) : 503-512.

Spektrofotometricky sme zistili, že chlorid levamizólia (LMZ) sa viaže na králičie erythrocyty, hemoglobín, hemoproteíny pečene a sleziny ako aj na ovčí hemoglobín. Po interakcii s uvedenými zložkami LMZ indukoval tri absorpčné vrcholce v oblasti vlnôčov 23,8, 18,2 a 17,2 $\times 1000 \text{ cm}^{-1}$, ktorých výška je závislá od kvantity LMZ. Predbežné nasýtenie erythrocytov oxidom uholnatým indukovalo navyše i postranné rameno vrcholca v oblasti okolo vlnôčtu 25 $\times 1000 \text{ cm}^{-1}$. Pridavok LMZ ku králičiemu hemoglobínu indukoval okrem troch uvedených vrcholcov i štvrtý vrcholce v oblasti okolo vlnôčtu 24,6 $\times 1000 \text{ cm}^{-1}$. LMZ naviazaný na hemoglobíny nezabraňoval následnej väzbe oxidu uholnatého a opačne. Diskutuje sa o výsledkoch pokusov a poukazuje sa na ich význam v súvislosti s deponovaním LMZ v organizme a jeho biotransformáciou. Predložená práca môže byť metodickým návodom pre sledovanie interakcie i ďalších imunomodulujúcich a iných liečiv s uvedenými komponentami.

králiky; ovce; imunomodulácia; väzba liečiv; spektrofotometria

Vďaka väzbovej schopnosti sa erythrocyty používajú už desaťročia v sérových a imunologických reakciách a testoch. Z viacerých možno spomenúť hemaglutinačné, Coombsov antiglobulínový, EA_C a E rozetový, imunitnej hemolýzy a pod. (Bier a i., 1984). Popri erythrocytoch je reaktívny aj hemoglobín. Vďaka hemovému železu sa s ním môžu pomocou piateho a šiesteho ligandu tvoriť hexakomplexy a pentakomplexy zlúčenín s charakteristickými spektrami (Jindra a i., 1985). Podľa Hamsíka a Šantavého (1962) je dvojmocné železo hemu schopné reagovať nielen s O₂, CO, CO₂, NO, CN⁻ a H₂S, ale aj s takými zlúčeninami, ako sú pyridín, nikotín, imidazol, amoniak a globíny. Naproti tomu trojmocné železo hemu je schopné reagovať s OH⁻, Cl⁻, CNS⁻, H₂PO⁻, RCOO⁻, ale aj s pyridínom, imidazolom, kolidínom, lipidmi a bielkovinami. Z uvedených údajov vidieť, že samotné erythrocyty (alebo aj vďaka hemoglobínu) majú široký reaktívny rádius. Neprekvapuje preto, že sa erythrocyty tak často používajú v rôznych štúdiách.

Od roku 1971 je známy imunomodulačný účinok antihelmintickej látky chloridu levamizólia (ďalej len LMZ) a novšie i ďalších látok (Renoux a Renoux, 1971; Blanke a i., 1977; Nigam a i., 1978; Valcurone a i., 1980; Zerial a Werner, 1981; Guerrero a Gotas, 1982; Kaeberle a Roth, 1984; Rojo a i., 1985; Crowley a i., 1986). Hoci k súčasnosti je o LMZ zverejnené značné

množstvo publikácií, distribúcia, deponovanie, mechanizmus účinku a biotransformácia ešte stále nie sú dostatočne preštudované. Cieľom tejto práce bolo sledovať interakciu LMZ s konjugovanými proteínami zo skupiny hemoproteínov.

MATERIÁL A METÓDY

V pokusoch sme použili LMZ, ktorý nám poskytla Galena, n. p., Komárov u Opavy. Roztoky sme pripravovali postupom, ktorý bol publikovaný už skoršie (Šutiak, 1980). Použili sme tieto koncentrácie látky vo vodnom roztoku: 0,125; 0,25; 0,5; 0,625; 1,25; 2,5; 3,75 a 5,0 mg v 100 ml destilovanej vody. Merali sme v kremenných kyvetách o hrúbke vrstvy 4,97 mm. V prvej časti pokusov sme sledovali absorpčné spektrum LMZ na prístroji Specord UV-VIS fy Carl Zeiss, Jena, a to v rozpätí vlnôv 14—50 $\times 1000$ cm⁻¹.

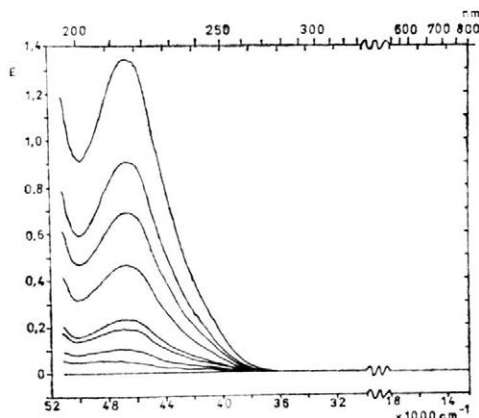
V druhej časti pokusov sme sledovali interakciu LMZ s erytrocytami králikov. Krv sme získavali od králikov o hmotnosti 2,7 až 3,0 kg pomocou dekapitátora postupom, ktorý bol publikovaný už skôr (Šutiak a i., 1981). Ako antikoagulans sme použili Heparin Spofa pulvis v množstve 0,3 ml 0,3% roztoku na konečný objem 10 ml krvi. Pomocou centrifugácie sa erytrocyty dvakrát premyli a priebežne zriedili s fyziologickým roztokom chloridu sodného (F-NaCl). Kvantita sa zabezpečila šetrným miešaním na rotátore, ktorý je popísaný na inom mieste (Šutiak a Bakssy, 1987).

Počítanie erytrocytov sa robilo melanžerovou metódou a pomocou Bürkerovej komôrky tak, ako to uvádzajú Slanina a i. (1965). Pri pokusoch sme použili 205 000 buniek na mm³, kremennú kyvetu o hrúbke vrstvy 1 mm a 300 μ l objem erytrocytov. Do kyvety sa pridávalo po 400 μ g LMZ v 10 μ l F-NaCl, a to až do 6000 μ g. Po každom pridaní LMZ sa robil spektrofotometrický záznam. Nakoniec sa obsah analytickej kyvety ešte prebublal oxidom uholnatým a opäť sa urobil záznam. V paralelnom pokuse sa králičie erytrocyty oboch kyvet najskôr nasýtili oxidom uholnatým. Potom sa do analytickej kyvety postupne pridával LMZ v rovnakých dávkach a postupom, ako je uvedené vyššie.

V tretej časti pokusov sme králičie erytrocyty po druhom premytí zriedili destilovanou vodou, premiešali na rotátore a centrifugáciou oddelili membrány erytrocytov od hemolýzáta. V supernatante sa stanovil obsah bielkovín metódou podľa Bensadouna a Weinsteina (1976) Spekolom fy Carl Zeiss, Jena. V prvej sérii tohto pokusu sa do kremenných kyvet o hrúbke vrstvy 5,0 mm použilo po 1 mg bielkovín na mililiter. Do analytickej kyvety sa pridávalo po 100 μ g LMZ v 10 μ l, a to až do 1600 μ g, a sledovala sa jeho interakcia s hemoglobínom. Nakoniec sa obsah analytickej kyvety ešte dosýtil oxidom uholnatým a postupovalo sa podobne ako pri erytrocytoch. Aj v tomto prípade sa urobili paralelné pokusy, v ktorých sa najskôr vzorky v oboch kyvetách nasýtili oxidom uholnatým. Potom sa do analytickej kyvety pridával LMZ a robili sa spektrofotometrické merania. Vo štvrtej časti pokusov sme sledovali interakciu LMZ s 13 500 g supernatantovou frakciou pečene a sleziny králikov. 5 až 8 g vzorky pečene a sleziny sa premyli a mixovali v 1,15% roztoku chloridu draselného vychladeného na teplotu 4 °C. Na mixovanie sa použil prístroj Eta Kombi 041, výrobca Elektropraga Hlinsko, s rýchlosťou 12 000 otáčok za minútu. Vzorky sa mixovali osemkrát po 40 sekúnd a homogenáty sa potom centrifugovali 30 minút pri 13 500 g na ultracentrifúge VAC 601, výrobcu H. Janetzki, KG Engelsdorf, NDR. Bielkoviny supernatantu sa sledovali podobne ako už bolo uvedené. Pre pokusy sa použilo 420 μ g bielkovín supernatantu sleziny a 1000 μ g bielkovín pečene v 1 ml vzorky. K bielkovinám supernatantov sa pridávalo 10 μ l po 20 μ g LMZ až do 240 μ g a k vzorkám sleziny 10 μ l po 10 μ g LMZ až do 140 μ g. Merania sa v tomto prípade robili po každom prídavku látky.

V piatej časti sa sledovala interakcia LMZ s hemoglobínom oviec (*v. jugularis*), podobne ako v tretej časti. Použili sme jednak 0,2 mg, jednak 3,0 mg bielkovín ovčieho hemoglobínu na 1 ml objemu. Pri nižšom obsahu bielkovín hemoglobínu sme pridávali po 40 μ g LMZ v 10 μ l rozpúšťadla až do 1000 μ g. Pri vyššom obsahu bielkovín sme pridávali rovnaké množstvá a objemy, ale len do 400 μ g LMZ. V prvých sériách sme ešte nakoniec vzorky v analytickej kyvete dosýtili oxidom uholnatým. V druhých sériách sme vzorky hemoglobínu v oboch kyvetách najskôr nasýtili oxidom uholnatým a potom sme pridávali LMZ. Ostatné podmienky a postupy boli rovnaké ako už bolo uvedené.

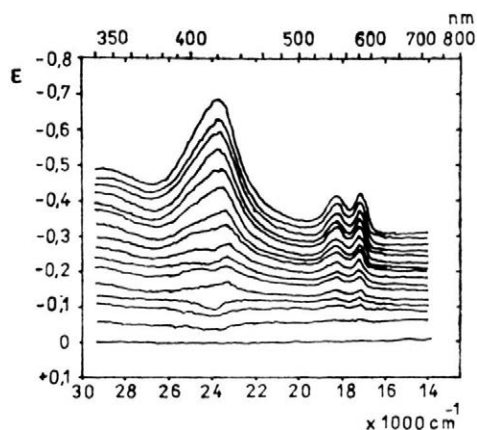
1. Absorpčné spektrum chloridu levamizólia (0,125; 0,25; 0,5; 0,625; 1,25; 2,5; 3,75 a 5,0 mg látky v 100 ml destilovanej vody) — Absorption spectrum of levamisolum chloride (0.125, 0.25, 0.5, 0.625, 1.25, 2.5, 3.75 and 5.0 mg of substance in 100 ml of distilled water)



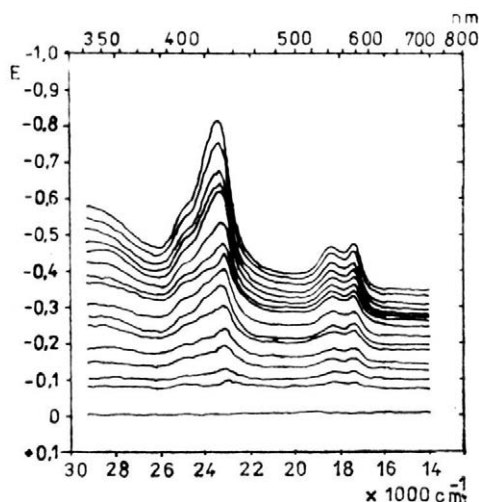
VÝSLEDKY

Meraním absorpčného spektra sme zistili, že LMZ je absorpčne zreteľne aktívny iba v oblasti vlnočtov 37 až $50 \times 1000 \text{ cm}^{-1}$, s maximom poblíž vlnočtu $46 \times 1000 \text{ cm}^{-1}$. V oblasti od 14 do $37 \times 1000 \text{ cm}^{-1}$ LMZ absorpčne aktívny nie je (obr. 1).

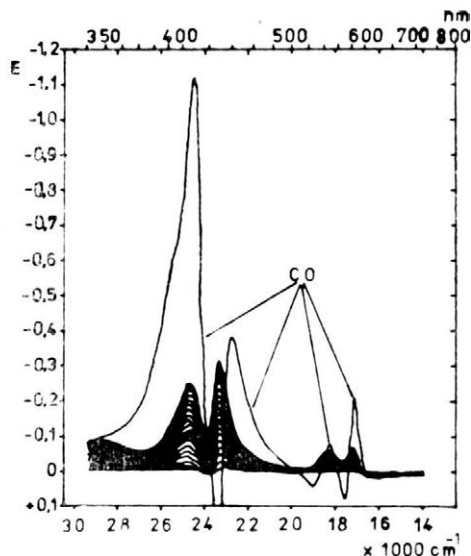
Prídavok LMZ ku králičím erytrocytom navodil zmenu absorpcie svetla erytrocytami, čo sa prejavilo tromi vrcholcami v oblastiach vlnočtov 23,8, 18,2, $17,2 \times 1000 \text{ cm}^{-1}$. Ich výška bola odvislá od kvantity prídavku LMZ (obr. 2). Podobné výsledky sa dosiahli i vtedy, ak boli králičie erytrocyty predbežne nasýtené oxidom uhľnatým. Rozdiel bol iba v tom, že po nasýtení oxidom uhľnatým sa vytvorilo navyše i postranné



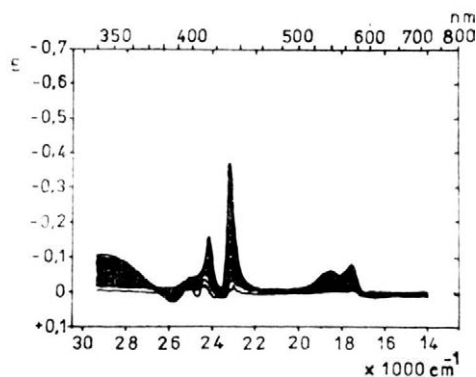
2. Spektrofotometrický záznam interakcie králičích erytrocytov s chloridom levamizólia (205 000 erytrocytov na mm^3 , celkom 300 μl objemových; okrem toho po 400 μg chloridu levamizólia v 10 μl rozpúšťadla až do kvantity 6000 μg) — Spectrophotometric record of the interaction of rabbit erythrocytes with levamisolum chloride (205 000 erythrocytes per mm^3 , 300 μl by volume on the whole; in addition, 400 μg batches of levamisolum chloride in 10 μl of diluent up to the quantity of 6000 μg)



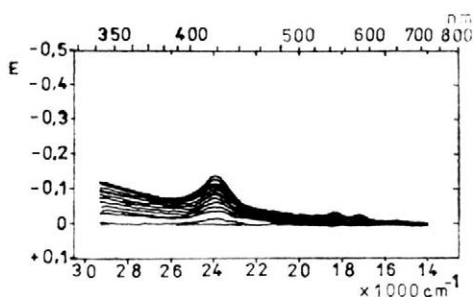
3. Spektrofotometrický záznam interakcie králičích CO-erytrocytov s chloridom levamizólia (205 000 erytrocytov na mm^3 , celkom 300 μl objemových; okrem toho po 400 μg chloridu levamizólia v 10 μl rozpúšťadla až do kvantity 6000 μg) — Spectrophotometric record of the interaction of rabbit CO-erythrocytes with levamisolum chloride (205 000 erythrocytes per mm^3 , 300 μl by volume on the whole; in addition, 400 μg batches of levamisolum chloride in 10 μl of diluent up to the quantity of 6000 μg)



4. Spektrofotometrický záznam interakcie králičieho hemoglobínu s chloridom levamizólia a následne s oxidom uhľoňatým (1 mg bielkovín na 1 ml objemu a po 100 μ g chloridu levamizólia v 10 μ l rozpúšťadla až do 1600 μ g; nakoniec sa vzorka analytickej kvety dosýtila i oxidom uhľoňatým) — Spectrophotometric record of the interaction of rabbit haemoglobin with levamisolium chloride and, subsequently, with carbon monoxide (1 mg of protein per 1 ml of volume and then 100 μ g batches of levamisolium chloride in 10 μ l of diluent up to the quantity of 1600 μ g; finally the sample in an analytical cell was saturated with carbon monoxide)



5. Spektrofotometrický záznam interakcie králičieho CO-hemoglobínu s chloridom levamizólia (1 mg bielkovín na 1 ml objemu, po nasýtení vzoriek oxidom uhľoňatým sa potom pridávalo po 100 μ g levamizólia v 10 μ l rozpúšťadla až do 1600 μ g) — Spectrophotometric record of the interaction of rabbit CO-haemoglobin with levamisolium chloride (1 mg of protein per 1 ml of volume; after saturation of the samples with carbon monoxide 100 μ g batches of levamisolium chloride in 10 μ l of diluent were added up to the quantity of 1600 μ g)

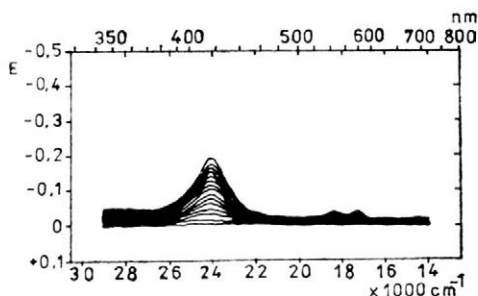


6. Spektrofotometrický záznam interakcie 13 500 g králičieho supernatantu pečene a chloridu levamizólia (1 mg bielkovín na 1 ml objemu a po 10 μ g chloridu levamizólia v 10 μ l rozpúšťadla až do 140 μ g) — Spectrophotometric record of the interaction of 13 500 g of rabbit liver supernatant and levamisolium chloride (1 mg of protein per 1 ml of volume and then 100 μ g batches of levamisolium chloride in 10 μ l of diluent added up to the quantity of 140 μ g)

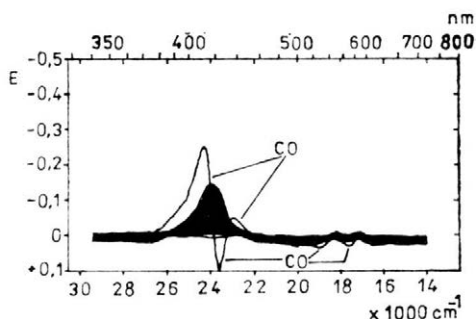
rameno v oblasti okolo vlnočtu $25 \times 1000 \text{ cm}^{-1}$. Výsledky ukázali, že LMZ vstupuje do reakcie s erytrocytmi a táto interakcia nie je inhibovaná oxidom uhľoňatým (obr. 3).

Prídavok LMZ ku králičiemu hemoglobínu indukoval štyri vrcholce, a to okolo vlnočtov 17,2, 18,2, 23,3 a $24,6 \times 1000 \text{ cm}^{-1}$. Ich výška bola tiež odvislá od množstva prídavku LMZ (obr. 4). Podobné výsledky sa dosiahli aj po predbežnom nasýtení vzoriek oxidom uhľoňatým (obr. 5). Výsledky ukázali, že prídavok LMZ ku hemoglobínu nebránil väzbe oxi-

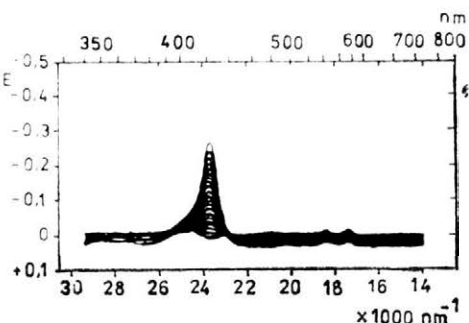
7. Spektrofotometrický záznam interakcie 13 500 g králičieho supernatantu sleziny a chloridu levamizólia (420 μg bielkovín na 1 ml objemu a po 10 μg chloridu levamizólia v 10 μl rozpúšťadla až do 140 μg) — Spectrophotometric record of the interaction of 13 500 g of rabbit spleen supernatant and levamisolium chloride (420 μg of protein per 1 ml of volume and then 10 μg batches of levamisolium chloride in 10 μl of diluent up to the quantity of 140 μg)



8. Spektrofotometrický záznam interakcie ovčieho hemoglobínu s chloridom levamizólia a s oxidom uhľnatým pri nižšom obsahu proteínov (0,2 mg bielkovín na 1 ml objemu a po 40 μg chloridu levamizólia v 10 μl rozpúšťadla až do 1000 μg ; nakoniec sa vzorka analytickej kvety dosýtila oxidom uhľnatým) — Spectrophotometric record of the interaction of ovine haemoglobin with levamisolium chloride and with carbon monoxide at a lower protein content (0.2 mg of protein per 1 ml of volume and then 40 μg batches of levamisolium chloride in 10 μl of diluent up to the quantity of 1000 μg ; finally the sample in an analytic cell was saturated with carbon monoxide)

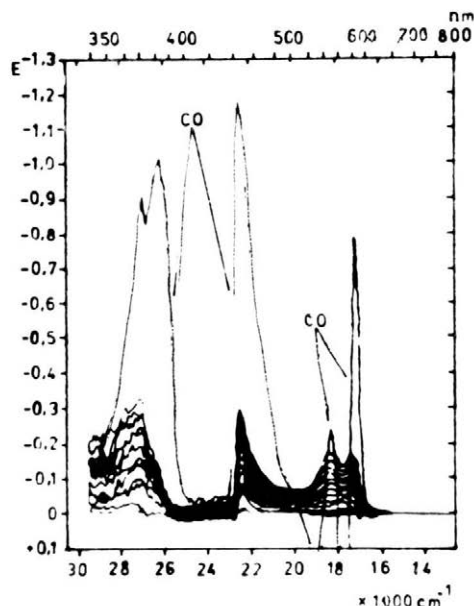


9. Spektrofotometrický záznam interakcie ovčieho CO-hemoglobínu s chloridom levamizólia pri nižšom obsahu proteínov (0,2 mg bielkovín na 1 ml objemu; po nasýtení vzoriek oxidom uhľnatým sa pridávalo po 10 μg chloridu levamizólia v 10 μl rozpúšťadla až do 1000 μg) — Spectrophotometric record of the interaction of ovine CO-haemoglobin with levamisolium chloride at a lower protein content (0.2 mg of protein per 1 ml of volume; after saturation of samples with carbon monoxide, 10 μg batches of levamisolium chloride in 10 μl of diluent were added up to the quantity of 1000 μg)

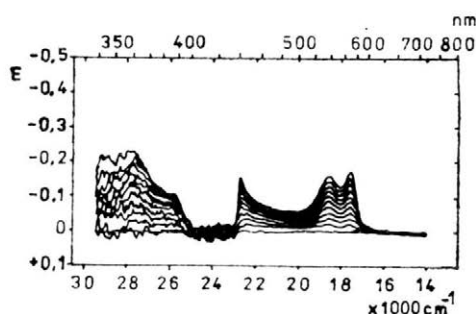


du uhľnatého na hemoglobín a rovnako ani predbežné nasýtenie hemoglobínu nebránilo reakcii LMZ s hemoglobínom. LMZ po pridaní k 13 500 g frakcie supernatantu kráľickej pečene vyvolal najväčšiu výchylku extinkcie v oblasti okolo vlnočtu $23,9 \times 1000 \text{ cm}^{-1}$ a ďalšie pri vlnočtoch $18,2$ a $17,2 \times 1000 \text{ cm}^{-1}$ (obr. 6). Podobné výsledky sme zistili i so supernatantom sleziny (obr. 7).

Pokusy piatej časti ukázali, že LMZ vstupoval do reakcie s ovčím hemoglobínom zreteľne aj pri obsahu 0,2 mg bielkovín na mililiter (obr. 8). Rovnako ako v predošlých pokusoch nezabránil predbežný prídavok LMZ k hemoglobínu dodatočnej väzbe oxidu uhľnatého a podobný jav bol i pri opačných vzťahoch (obr. 9). V oboch prípadoch sme postrehli iba tri vrcholce, ktoré indukoval LMZ, zatiaľ čo oxid uhľnatý v tomto



10. Spektrofotometrický záznam interakcie ovčieho hemoglobínu s chloridom levamizólia a následne s oxidom uhľnatým pri vyššom obsahu proteínov (3 mg bielkovín v 1 ml objemu a po 40 μ g chloridu levamizólia v 10 μ l rozpúšťadla až do 400 μ g; nakoniec sa vzorka analytickej kvety dosýtila i oxidom uhľnatým) — Spectrophotometric record of the interaction of ovine haemoglobin with levamisole chloride and then with carbon monoxide at a higher content of protein (3 mg of protein per 1 ml of volume, followed by 40 μ g batches of levamisole chloride in 10 μ l of diluent, added up to the quantity of 400 μ g; finally the sample in an analytical cell was saturated with carbon monoxide)



11. Spektrofotometrický záznam interakcie ovčieho CO-hemoglobínu s chloridom levamizólia pri vyššom obsahu proteínov (3 mg bielkovín na 1 ml objemu, po nasýtení vzoriek oxidom uhľnatým sa pridávalo po 40 μ g chloridu levamizólia v 10 μ l rozpúšťadla až do 400 μ g) — Spectrophotometric record of the interaction of ovine CO-haemoglobin with levamisole chloride at a higher content of protein (3 mg of protein per 1 ml of volume; after CO saturation of the samples, 40 μ g batches of levamisole chloride in 10 μ l of diluent were added up to the quantity of 400 μ g)

prípade indukoval vrcholce štyri (obr. 8). Pri vyššom obsahu bielkovín hemoglobínu sa po pridaní LMZ objavili na rozdiel od predchádzajúceho prípadu štyri vrcholce (obr. 10). Aj v tomto prípade nezabránil predbežný prídavok LMZ ku vzorkám s vyšším obsahom bielkovín hemoglobínu jeho reakcii s oxidom uhľnatým. Aj pri opačných kombináciách látok s vyšším obsahom hemoglobínu nezabránil oxid uhľnatý reakcii LMZ s hemoglobínom (obr. 11). Pri vyšších koncentráciách ovčieho hemoglobínu však boli vrcholce zvýraznené v oblasti nižších vlnočtov (obr. 10 a 11).

DISKUSIA

Poznatky o väzbe liečiv v organizme sú z farmakologického hľadiska zaujímavé a veľmi dôležité. Intenzita účinku, rýchlosť metabolizácie, exkrécie a toxicita liečiv sú totiž v nemalej miere ovplyvňované i tým, ako sa distribuuju a viažu v organizme. Už dávnejšie je známe, že liečivá sa môžu v organizme viazať na inertné väzbové miesta a okrem nich i na receptorové väzbové miesta (Danielli a i., 1970). Z biochemického hľadiska pri väzbe liečiv v organizme hrajú náležitú úlohu lipidy a okrem nich i bielkoviny. Z proteínov sú to najmä albumíny, pre-

albumíny, globulíny a nukleoproteíny (Hamsík a Šantavý, 1962; Gale a Westphal, 1965; Rašková a i., 1970; Tschudi, 1972; Vodrážka a i., 1972, 1982, 1986; Brander a Pugh, 1977; Garbuliński, 1980; Booth a i., 1982; Katzung a i., 1987). Štúdiom literatúry sme prišli k náznamom, že vymenované bielkoviny nevyčerpávajú všetky možnosti pre vznik interakcie a väzby bielkovín s liečivami. Už od roku 1955 sa v literatúre totiž traduje, že niektoré liečivá (sulfonamidy) sa môžu v krvinkách vyskytovať vo vyšších koncentráciách než v krvnej plazme (Šarapov, 1955), ale nevedelo sa, ako sa v nich vyskytujú. Interakcii liečiv s erytrocytmi sa totiž nevenovala väčšia pozornosť (Brander a Pugh, 1977; Katzung a i., 1987).

O väzbe chloridu levamizólia na krvné elementy sa nám doposiaľ nepodarilo získať ani jedno zdelenie z časopiseckej literatúry, hoci sme preštudovali viaceré články. Podobná situácia je i s knižnou literatúrou (Rašková a i., 1970; Vodrážka a i., 1974, 1982, 1986; Brander a Pugh, 1977; Jones a i., 1977; Booth a i., 1982; Wenke a i., 1984; Katzung a i., 1987).

Doposiaľ sme získali iba jediný literárny prameň, ktorý však iba naznačuje možnosť väzby levamizólia na erytrocyty, resp. na hemoglobín. Totiž Hamsík a Šantavý (1962) uvádzajú, že aj imidazol (ktorého štruktúra tvorí jeden z troch cyklov v levamizóliu popri fenylovom a tiazolovom) sa môže viazať na hemoglobín. To však neznamená, že práve len vďaka tejto štruktúre sa levamizólium viaže na erytrocyty, resp. na hemoglobín. Vzájomnej interakcie sa môžu zúčastňovať i funkčné skupiny ostatnej časti molekuly. Chlorid levamizólia (chemický názov *5-(6-fenyl-2,3,5,6-tetrahydroimidazol-2-yl)-1,2,4-triazolium chlorid*) má totiž pre vodíkové väzby prístupné i funkčné skupiny tiazolového a fenylového cyklu.

Výsledky našich pokusov ukázali, že naša domnienka o možnosti interakcie chloridu levamizólia s erytrocytmi a s konjugovaným proteínom hemoglobínom bola správna. Okrem toho sme tiež zistili, že chlorid levamizólia reagoval i s ďalšími hemoproteínami pečene a sleziny. Vzniká sa otázka, aký je význam väzby chloridu levamizólia na uvedené hemoproteíny. Domnievame sa, že neznamená iba tvorbu depa liečiva v organizme a umožnenie distribúcie liečiva v organizme. Je totiž napríklad známe, že hemoglobín môže nielen viazať rôzne látky, ale zároveň ich môže aj meniť (Eyer a i., 1983; Winter a Yodh, 1983; Cambou a i., 1984; Winter a i., 1984; Albrecht a Neumann, 1985; Bennet a i., 1985; Friedman, 1985). Podobne je to i s tkanivovými hemoproteínami (Omura a Sato, 1964). Navyše keďže hemoglobín a erytrocyty môžu ovplyvňovať imunitné procesy (Tengerdy a Krammer, 1968; Bornside a i., 1968; Bullen a Rogers, 1968; Tengerdy a i., 1972; Chengapa a i., 1983), nie je vylúčené, že aj po naviazaní chloridu levamizólia, resp. jeho metabolických produktov, ktorých môže byť päť (McIntosh, 1976), môžu zasahovať do týchto procesov. Nazdávame sa, že naša práca o väzbe chloridu levamizólia s rôznymi hemoproteínami prináša poznatky, ktoré prispievajú k poznaniu zákonitosti jeho distribúcie, deponovania a biotransformácie a zrejme i procesov imunity. Okrem toho môže naša práca prispieť i ako metodický návod pre štúdium interakcie i ďalších imunomodulujúcich a iných látok s týmito komponentami za definovaných podmienok. V tomto smere štúdia pokračujeme.

Ďakujeme prof. dr. A. E. Beerovi, PhD., z University of Michigan Center, Ann Arbor, USA, za cenné informácie o lymfocytoch a erythrocytoch a za študijný materiál. Ďalej ďakujeme dr. G. H. Frankovi, PhD., dr. K. Kopeckému, PhD., z National Animal Disease Center v Ames, USA, za cenné informácie o problematike pľúcnych a črevných infekcií zvierat a ich ovplyvňovaní.

Literatúra

- ALBRECHT, W. — NEUMANN, H. G.: Biomonitoring of aniline and nitrobenzene hemoglobin binding in rats and analysis of adducts. *Arch. Toxicol.*, 57, 1985, s. 1-5.
- BENNETT, B. M. — BRIEN, J. F. — NAKATSU, K. — MARKS, G. S.: Role of hemoglobin in the differential biotransformation of glyceryl trinitrate and isosorbite dinitrate by human erythrocytes. *J. Pharmacol. exp. Therap.*, 234, 1985, č. 1, s. 228-232.
- BENSADOUN, A. — WEINSTEIN, D.: Assay of proteins in the presence of interfering materials. *Analyt. Biochem.*, 70, 1976, s. 241-250.
- BIER, O. G. — DIAS da SILVA, W. — GÖTZE, D. — MOTA, I.: Základy imunologie. Praha, Avicenum 1984, s. 175-300.
- BLANKE, T. J. — LITTLE, J. R. — SHIRLEY, S. F. — LYNCH, R. G.: Augmentation of murine responses by amphotericin B. *Cell Immunol.*, 33, 1977, s. 180-190.
- BOOTH, N. H. — McDONALD, L. F. — ADAMS, H. R. — BAGGOT, J. D. a kol.: Veterinary pharmacology and therapeutics. 5. ed. Ames, The Iowa State University Press 1982, s. 52-726.
- BORNSIDE, G. H. — BOUIS, P. J. jr. — COHN, I. jr.: Hemoglobin and *E. coli* — a lethal intraperitoneal combination. *J. Bact.*, 95, 1968, s. 1567-1571.
- BRANDER, G. C. — PUGH, D. M.: Veterinary applied pharmacology and therapeutics. London, ELBS and Bailliere Tindall 1977, s. 23-28.
- BULLEN, J. J. — ROGERS, H. J.: Effect of hemoglobin on experimental infections with *P. septica* and *E. coli*. *Nature*, 217, 1968, s. 86-87.
- CAMBOU, B. — GUILLOCHON, D. — THOMAS, D.: Aniline hydroxylase activities of hemoglobin. *Enzyme Microb. Technol.*, 6, 1984, s. 11-17.
- CROWLEY, J. J. — LYG, R. E. — CREMER, K. J. a kol.: Research for tomorrow. Ames, USDA 1986, s. 103-107.
- DANIELLI, J. F. — MORAN, J. F. — TRIGGLE, D. J.: Fundamental concept in drug receptor interactions. London — New York, Academic Press 1970, s. 5-25.
- EYER, P. — LIERHEIMER, E. — STROSAR, M.: Site and mechanism of covalent binding of 4-dimethylaminophenol to human hemoglobin, and its implication to the functional properties. *Molec. Pharmacol.*, 24, 1983, s. 282-290.
- FRIEDMAN, J. M.: Structure, dynamics, and reactivity in hemoglobin. *Science*, 228, 1985, s. 1273-1280.
- GALA, R. R. — WESTPHAL, U.: Corticosteroid-binding globulin in the rat. *Endocrinology*, 77, 1965, s. 841-843.
- GARBULIŃSKI, T.: Farmakologia weterynaryjna. Warszawa, Państwowe Wydawnictwo Rolnicze i Leśne 1980, s. 73-233.
- GUERRERO, J. — GOTTAS, C. R.: Immunomodulating substances. *Rev. Microbiol.*, Sao Paulo, 13, 1983, s. 110-115.
- HAMSIK, A. — ŠANTAVÝ, F.: Biochemie. Praha, Státní zdravotnické nakladatelství 1962, s. 115-135.
- CHENGAPPA, M. M. — CARTER, G. R. — CHANG, T. S.: Hemoglobin enhancement of experimental infection of mice with *P. haemolytica*. *Am. J. veter. Res.*, 44, 1983, s. 1545-1546.
- JINDRA, A. — KOVÁCS, P. — PŠENÁK, M. — ŠÍPAL, Z.: Biochémiá. Martin, Osveta 1985, s. 59-583.
- JONES, L. M. — BOOTH, N. H. — McDONALD, L. E.: Veterinary pharmacology and therapeutics. 4. ed. Ames, The Iowa State University Press 1977, s. 52-100.
- KAEBERLE, M. L. — ROTH, J. A.: Effects of thiabendazole on dexamethasone induced suppression of lymphocyte and neutrophil function in cattle. *Immunopharmacol.*, 8, 1984, s. 129-136.
- KATZUNG, B. C.: Basic and clinical pharmacology. Norwalk — Los Altos, Appleton-Lange 1987, s. 1-104.
- NIGAM, V. N. — BRAILOVSKY, C. A. — CHOPRA, C.: Maltose tetrapalmitate,

a nontoxic immunopotentiator with antitumor activity. *Canc. Res.*, 38, 1978, s. 3315-3321.

OMURA, T. — SATO, R.: The carbon monoxide-binding pigment of liver microsomes. *J. biol. Chem.*, 239, 1964, s. 2370-2378.

RAŠKOVÁ, H. — VANĚČEK, J. — VOTAVA, Z. — WENKE, M.: *Farmakologie*. Praha, Avicenum 1970, s. 31-120.

RENOUX, G. — RENOUX, M.: Effect immunostimulant d'un imidothiazole dans l'immunisation des souris contre l'infection par *Brucella abortus*. *C. R. Acad. Sci.*, 272, 1971, s. 349-350.

ROJO, J. M. — PORTOLÉS, M. P. — OJEDA, G. — PORTOLÉS, A.: Immunomodulatory activity of antitherogetic drugs. *Immunopharmacol.*, 9, 1985, s. 109-116.

SLANINA, L. — BARTKO, P. — ČANECKÝ, P.: *Klinická propedeutika a diagnostika vnútorných chorôb hospodárskych zvierat*. Bratislava, SNPL 1965, s. 45-60.

ŠARAPOV, N. I.: *Farmakológia*. Moskva, Selchozgiz 1955, s. 402-409.

ŠUTIAK, V.: Použitie magnetického vytahováku v laboratóriu a pri pedagogii. *Služba Zdrav.*, 1, 1980, s. 54-56.

ŠUTIAK, V. — BAKSSY, A.: Rotátor pre laboratórne účely. *Služba Zdrav.*, 1987, s. 28-32.

ŠUTIAK, V. — ŠUTIAKOVÁ, I. — ŠUTIAK, D. — ROSTOCKÝ, P. — ŠUTIAK, A.: Vyhodenie a použitie dekapitátora malých zvierat pre laboratórne výskumné účely. *Služba Zdrav.*, 4, 1981, s. 245-248.

TENDERDY, R. P. — KRAMER, T.: Immune response of rabbits during short term exposure to high altitude. *Nature*, 217, 1968, s. 367-369.

TENDERDY, R. P. — HEINZERLING, R. H. — NOCKELS, CH. F.: Effect of vitamin E on the immune response of hypoxic and normal chickens. *Infest. Immun.*, 5, 1972, s. 987-989.

TSCHUDI, P.: Eliminierung, Plasmaproteinbindung und Dosierung einiger Sulfonamide. *Zentbl. Veter.-Med.*, 19, 1972, s. 851-854.

VALCURONE, G. — BRUGO, M. A. — TASSI, G. C.: Immunomodulatori. *Boll. Ist. Sieroter. Milanese*, 59, 1980, s. 173-197.

WENKE, M. — MRÁZ, M. — HYNIE, S.: *Farmakologie pro lékaře*. Praha, Avicenum 1984, s. 40-200.

WINTER, W. P. — YODH, J.: Interaction of human hemoglobin and its variants with agar. *Science*, 221, 1983, s. 175-178.

WINTER, W. P. — SEALE, W. R. — YODH, J.: Interaction of hemoglobin S with anionic polysaccharides. *Amer. J. Pediat. Hematol. Oncol.*, 6, 1984, s. 77-81.

VODRÁŽKA, J. — ARENDARČIK, J. — BARTKO, P. — BREZA, M.: *Veterinárska medicína a farmakológia*. Martin, Osveta 1986, s. 430-508.

VODRÁŽKA, J. — ARENDARČIK, J. — BARTKO, P. — BREZA, M. a kol.: *Veterinárska medicína a farmakológia*. Martin, Osveta 1982, s. 443-490.

VODRÁŽKA, J. — POPESKO, P. — ARENDARČIK, J. — HOVORKA, J. a kol.: *Veterinárska medicína pre farmaceutov*. Martin, Osveta 1972, s. 448-510.

ZERIAL, A. — WERNER, G. H.: Effect of immunostimulating agents on viral infections. *Acta microbiol. Acad. Sci. hung.*, 28, 1981, s. 325-337.

Došlo dňa 11. 9. 1987

ШУТИАК, В. — ШУТИАКОВА, И. (Институт ветеринарии, Кошице): **Взаимодействие иммуномодулятора хлорида левамизолия с кроличьими эритроцитами, гемопротейнами и с овечьим гемоглобином**. *Veter. Med. (Praha)*, 33, 1988 (8) : 503-512.

Как мы установили спектрометрическим путем, хлорид левамизолия (LMZ) связывается с кроличьими эритроцитами, гемоглобином, гемопротейнами печени и селезенки, как и с овечьим гемоглобином. После взаимодействия с приведенными компонентами LMZ индуцировал три абсорбц. пика в области волновых частот 23,8, 18,2 и 17,2 X 1000 см⁻¹, высота которых зависит от количества LMZ. Предварительное насыщение эритроцитов углеродным скислом индуцирует вдобавок и боковую сторону пика в области частоты волн 25 X 1000 см⁻¹. Добавка LMZ в кроличий гемоглобин помимо трех упомянутых пиков индуцирует и 4-й пик в области около 24,6 X X 1000 см⁻¹. Связанный с гемоглобинами LMZ не препятствовал последующей связи углер. окисла и наоборот. Обсуждаются результаты опытов в аспекте депонирования LMZ в организме и его биотрансформаций. Работа может служить методическим пособием в изучении взаимодействий также иных иммуномодулирующих лекарств с упомянутыми компонентами.

кролики; овцы; иммуномодулирование; связи лекарств; спектрофотометрия

ŠUTIAK, V. — ŠUTIAKOVÁ, I. (University of Veterinary Medicine, Košice): *Interaction of the Immunomodulator, Levamisolum Chloride, with Rabbit Erythrocytes and Haemoproteins and with Ovine Haemoglobin*. Veter. Med. (Praha), 33, 1988 (8) : 503-512.

As found spectrophotometrically, levamisolum chloride (LMC) binds with rabbit erythrocytes, haemoglobin, liver and spleen haemoproteins, and ovine haemoglobin. After interaction with the above-mentioned blood components, LMC induced three absorption peaks in the zones of wave numbers of 23.8, 18.2 and 17.2 per 1000 cm; the heights of these peaks depend on the quantity of the LMC. A preliminary saturation of erythrocytes with carbon monoxide induced an additional side arm of the peak in the region around the wave number of 25 per 1000 cm. The addition of LMC to rabbit haemoglobin induced a fourth peak (besides the above-mentioned three) in the region around the wave number of 24.6 per 1000 cm. LMC not bound to haemoglobin failed to prevent subsequent bonds of carbon monoxide and vice versa. There is a discussion concerning the results of the trials and attention is paid to their importance associated with the deposition of LMC in the body and with LMC biotransformation. The study can also serve as a methodical instruction for the monitoring of the interactions of other immunomodulators and other drugs with the above-mentioned blood components.

rabbits; sheep; immunomodulation; binding of drugs; spectrophotometry

ŠUTIAK, V. — ŠUTIAKOVÁ, I. (Veterinärmedizinische Hochschule, Košice): *Wechselwirkung des Immunomodulators Levamisolumchlorid mit Kaninchenerythrozyten und -hämoproteinen und dem Schafhämoglobin*. Veter. Med. (Praha), 33, 1988 (8) : 503-512.

Auf spektrophotometrischem Wege stellten wir fest, daß sich Levamisolumchlorid (LMZ) auf Erythrozyten, Hämoglobin und auf Hämoproteine der Leber und Milz von Kaninchen sowie auf Schafhämoglobin bindet. Nach Interaktion mit den angeführten Komponenten induzierte das LMZ drei Absorptionshöhepunkte im Bereich der Wellenzahlen 23,8, 18,2 und 17,2 $\times 1000\text{ cm}^{-1}$, deren Höhe von der Quantität des LMZ abhängt. Eine vorhergehende Sättigung der Erythrozyten mit Kohlenmonoxid induzierte darüber hinaus auch einen Nebenarm des Höhepunkts im Bereich um die Wellenzahl 25 $\times 1000\text{ cm}^{-1}$. Eine LMZ-Beigabe zum Kaninchenhämoglobin induzierte neben den drei angeführten Höhepunkten noch einen vierten im Bereich um die Wellenzahl 24,6 $\times 1000\text{ cm}^{-1}$. Das auf die Hämoglobine gebundene LMZ verhinderte nicht eine nachfolgende Bindung von Kohlenmonoxid und umgekehrt. Es werden Ergebnisse der Versuche diskutiert und es wird auf deren Bedeutung im Zusammenhang mit der Deponierung von LMZ im Organismus und seiner Biotransformation hingewiesen. Die vorliegende Arbeit kann als methodische Anleitung für Untersuchungen der Wechselwirkung auch weiterer immunomodulierender und anderer Medikamente mit den angeführten Komponenten dienen.

Kaninchen; Schafe; Immunomodulation; Arzneimittelbindung; Spektrophotometrie

Adresa autorov:

MVDr. Václav Šutia k, CSc., RNDr. Irena Šutia ková, Vysoká škola veterinárská, Komenského 73, 041 81 Košice

CONTENTS

Dvořák R., Jagoš P., Přikrylová J., Hradilová M., Zendulka I.: Metabolic Processes in the Rumens of Dairy Cows after Ingestion of the Lious Asetona Antiketogenic Preparation Based on Polyols	449
Jagoš P., Dvořák R., Zendulka I., Přikrylová J., Vospěl B.: Mineral Metabolism of Dairy Cows with the Use of the Lious Asetona Antiketogenic Preparation Based on Polyols	459
Gabriš J., Ďuran A.: Circadian Changes in ALT, AST and Alkaline Phosphatase Activities in the Blood Serum of Dairy Cows	469
Mazurová J., Mazura F.: Beta Haemolytic Streptococci in the Sexual Organs of Horses	475
Vrzal V., Čupera Z., Chumela J., Zatloukal L.: The Antibody Response of Dogs to the Administration of Rabies Vaccine in Inactivated and Live Tissue Forms	485
Fukal L., Haisl K., Sova Z., Reisnerová H.: Histopathological Findings and Changes in the Concentrations of Aflatoxins and Lipids in the Liver of Laying Hens during Experimental Acute Aflatoxicosis	495
Šutiak V., Šutiaková I.: Interaction of the Immunomodulator, Levamisolum Chloride, with Rabbit Erythrocytes and Haemoproteins and with Ovine Haemoglobin	503

INHALT

Dvořák R., Jagoš P., Přikrylová J., Hradilová M., Zendulka I.: Stoffwechselprozesse im Pansen von Kühen bei Anwendung eines antiketogenen Präparats auf der Basis von Polyolen Lious Asetona	449
Jagoš P., Dvořák R., Zendulka I., Přikrylová J., Vospěl B.: Mineralischer Stoffwechsel von Kühen unter Anwendung eines antiketogenen Präparats auf der Basis von Polyolen Lious Asetona	459
Gabriš J., Ďuran A.: Veränderungen der ALT-, AST- und Alkaliphosphatase-Aktivität im Blutserum von Kühen im Verlauf von 24 Stunden	469
Mazurová J., Mazura F.: Beta-hämolytische Streptokokken in den Geschlechtsorganen von Pferden	475
Vrzal V., Čupera Z., Chumela J., Zatloukal L.: Antikörperreaktion der Hunde auf die Applikation von lebendigen und inaktivierten Gewebevakzinen gegen Tollwut	485
Fukal L., Haisl K., Sova Z., Reisnerová H.: Histopathologische Befunde und Veränderungen der Aflatoxine- und Lipidekonzentrationen in Lebern von Legehennen bei experimenteller akuter Aflatoxikose	495
Šutiak V., Šutiaková I.: Wechselwirkung des Immunomodulators Levamisolumchlorid mit Kaninchenerythrozyten und -hämoproteinen und dem Schaf-hämoglobin	503

Rukopisy odevzdány k tisku 5. 5. 1988 — Podepsáno k tisku 12. 7. 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.