

VĚDECKÝ ČASOPIS



VETERINÁRNÍ MEDICÍNA

2

ROČNÍK 34 (LXII)
PRAHA
ÚNOR 1989
CENA 10 Kčs
CS ISSN 0375-8427

ČESKOSLOVENSKÁ AKADEMIE ZEMĚDĚLSKÁ
ÚSTAV VĚDECKOTECHNICKÝCH INFORMACÍ
PRO ZEMĚDĚLSTVÍ

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

Za vedení časopisu odpovídá akademik Jaroslav Otto Vrtiak

Redaktorka ing. Jovanka Václavíková

OBSAH

Bouška J., Klimeš J., Jagoš P., Minksová E.: Dynamika klinicko-biochemických ukazatelů u krav s ketonurií v období zaprahnutí a po porodu	65
Rajtová V., Odehnal F.: Ependýmová výstelka infundibulárneho recesu samcov a hermafrodita malých prežúvavcov v riadkovacom elektrónovom mikroskope	79
Kriváňová M., Zelenák I.: RUSITEC — fermentačné zariadenie pre štúdium tráviacich procesov u prežúvavcov	89
Rybníkář A., Chumela J., Vrzal V.: Vznik imunity po vakcinaci skotu proti trichofytóze	97
Mádr P., Tlaskalová-Hogenová H., Dvořák P.: Semikvantitativní stanovení hladiny IgM v séru prasat kapkovým imunoenzymatickým testem na nitrocelulóze	101
Tokošová M.: Vplyv stimulatorov rastu na obsah niektorých mikroprvkov v organizme kurčiat	107
Gliński Z., Chmielewski M.: <i>Ascosphaera apis</i> , virulence, biochemické a sérologické typy	113
Treml F., Hejlíček K., Svoboda M., Mahelková K.: Výskyt leptospirových protilátek u psů brněnské a mimobrněnské aglomerace	121

СОДЕРЖАНИЕ

Боушка Й., Клиmesh Й., Ягош П., Минксова Э.: Динамика клинко-биохимических показателей у коров с кетонурией в период стельности и после родов	65
Райтова В., Одегнал Ф.: Выстилающая оболочка воронкообразной впадины самцов и гермафродитизм мелких жвачных животных в растрирующем электронном микроскопе	79
Криванова М., Зеленьак И.: RUSITEC — ферментационное устройство для изучения процессов пищеварения у жвачных животных	89
Рыбникář А., Хумела Й., Врзал В.: Возникновение иммунитета после вакцинации к. р. с. против трихофитоза	97
Мáдр П., Тласкалова-Гогенова Г., Дворжак П.: Полукачественное определение уровня иммуноглобулинов М в сыворотке крови свиней капельным иммуноферментативным тестом, проводимое на нитроцеллюлозе	101
Токошова М.: Влияние стимуляторов роста на содержание некоторых микроэлементов в организме цыплят	107
Глиньски З., Хмиелевски М.: <i>Ascosphaera apis</i> , вирулентность, биохимические и серологические типы	113
Тремл Ф., Гейличек К., Свобода М., Магелкова К.: Появление лептоспировых антител у собак брненской и небрненской агломерации	121

DYNAMIKA KLINICKO-BIOCHEMICKÝCH UKAZATELŮ U KRAV S KETONURIÍ V OBDOBÍ ZAPRAHNUTÍ A PO PORODU

J. Bouška, J. Klimeš, P. Jagoš, E. Minksová

BOUŠKA, J. — KLIMÉŠ, J. — JAGOŠ, P. — MINKSOVÁ, E. (Vysoká škola veterinární, Brno): *Dynamika klinicko-biochemických ukazatelů u krav s ketonurií v období zaprahnutí a po porodu*. Veter. Med. (Praha), 34, 1989 (2) : 65-78.

Sledovali jsme osm vysokobřezích krav, u nichž byla opakovaně prokázána ketonurie středního až vysokého stupně. Kontrolní skupinu tvořilo šest krav, u nichž ketonurie před porodem nebyla zjištěna. Od krav byly odebírány vzorky krve a moči dva až osm týdnů před porodem, v den porodu, za 24 hodiny, tři až pět dnů a dva až šest týdnů po porodu. V krvi krav byly koncentrace oxidovaných ketolátek a betahydroxybutyrátu stanoveny destilační metodou. Dále byly v krvi a moči stanoveny hodnoty klinicko-biochemických ukazatelů v rozsahu systému preventivní diagnostiky. Průběžným klinickým vyšetřením krav nebyly zjištěny výrazné změny zdravotního stavu. Průměrná koncentrace celkových ketolátek v krvi krav dva až osm týdnů před porodem činila 29,2 mg. l⁻¹, hodnoty u kontrolních krav byly přibližně poloviční. V den porodu poklesla hladina ketolátek v krvi krav pokusné skupiny. Pokles byl vystrídán postupným vzestupem hladiny celkových ketolátek v krvi na 50,6 mg. l⁻¹ dva až šest týdnů po porodu. Po celou dobu šetření byly u krav obou skupin prokazovány změny svědčící pro poruchu funkce jater. Příčinou této poruchy bylo překrmování vysokobřezích krav stravitelnými dusíkatými látkami a krmení nekvalitními silážemi. Po porodu nebyla krmná dávka diferencovaná podle užitkovosti, byla deficitní v obsahu základních živin a vitamínů. Ketonurie byla zřejmě způsobena současně vystupňovanou hepatální a alimentární ketogenezí, jejíž příčinou byly hepatopatie v kombinaci s příjmem velkých dávek nekvalitních siláží s obsahem kyseliný maselné.

skot; subklinická ketóza; hepatopatie; ketolátky; aceton; kyselina acetocetová; kyselina beta-hydroxymáselná

Ketonurie je jedním z nejcharakterističtějších nálezů při ketóze dojníc. Ketóza představuje v zemích s rozvinutou živočišnou výrobou ekonomicky nejzávažnější metabolické onemocnění vysokoprodukčních krav. Vyznačuje se vzestupem koncentrace ketolátek v krvi, moči a mléce, zvýšením hladin neesterifikovaných mastných kyselin (NEMK) v krevním séru a poklesem glykémie.

Ketóza se nejčastěji vyskytuje u vysokoprodukčních dojníc v období maximální mléčné produkce. Za její hlavní příčinu je pokládán nepoměr mezi příjmem glukogenních látek a potřebou glukózy pro zajištění produkce mléka. Příjem glukogenních substrátů je limitován omezenou schopností dojnice přijímat krmivo; priorita produkce mléka je dána přeladěním hormonálních regulací na začátku laktace (Baird aj., 1974). Za základní biochemický mechanismus vyvolávající zvýšení ketogeneze v játrech je obvykle považován nedostatek oxalacetátu. Při nedostatku oxalacetátu vzniká v játrech z acetyl-CoA acetoacetát a z něj

se pak tvoří další ketolátky (Jagoš a Hradecký, 1981). Není však vyloučeno, že vztah deficitu glycidů a zvýšené hepatální ketogeneze má poněkud odlišný biochemický podklad (Baird, 1982). Z hormonálních změn je v etiopatogenezi ketózy nejvýznamnější snížení hladiny inzulínu, umožňující intenzivní mobilizaci NEMK z periferní tukové tkáně. Poměrně ojedinělý názor má Kronfeld (1982), který připisuje vznik ketózy relativnímu přebytku glukogenních látek v krmivu nad látkami lipogenními.

V etiologii ketózy se může uplatnit i přebytek dusíkatých látek v krmné dávce, a to zřejmě odčerpáváním energie při jejich metabolizaci (Baird aj., 1974). Ketogenní efekt některých aminokyselin patrně nehraje významnou úlohu (Schultz, 1968). Podle Schultze (1968, 1971) nemá přebytek bílkovin ani deficit minerálních látek a vitamínů přímý vliv v patogenezi ketózy.

Velký význam v rozvoji ketózy může mít alimentární ketogeneze při příjmu velkých dávek nekvalitní siláže s vysokým obsahem kyseliny máselné, jež je ve stěně bachu metabolizována na kyselinu beta-hydroxymáselnou (Andersson a Lundström, 1985).

Třebaže většina autorů klade výskyt ketózy téměř výhradně do období začátku laktace, existují v literatuře i sdělení o výskytu ketózy u vysokobřezích krav (Žarov a Kondrachin, 1983). V našich podmínkách uvádějí Vrzgula aj. (1982) a Lebeda aj. (1982) u vysokobřezích krav poměrně častý výskyt subklinické ketózy a ketonurie značného stupně. Caple aj. (1977) informují o případech ketózy z podvýživy u březích krav masných plemen při pastevním odchovu v Austrálii. Onemocnění se vyznačovalo až 15% mortalitou, neboť březí krávy na rozdíl od krav laktujících neměly možnost snížit odčerpávání živin fětem.

Je tedy patrné, že přes intenzivní výzkum ketózy existuje u tohoto onemocnění mnoho nejasností i rozdílných názorů na některé zásadní problémy. Proto jsme přistoupili k podrobnějšímu klinicko-biochemickému sledování případu hromadného výskytu ketonurie u vysokobřezích dojnic v jednom zemědělském závodě na jižní Moravě.

MATERIÁL A METODA

Sledování probíhalo z převážné části v zimním krmném období (říjen—leden) v zemědělském závodě s užitkovostí 4800 kg mléka na dojnici u kříženek plemene české strakaté a černostrakaté nížinné ve druhé až třetí laktaci. Dojnice byly ustájeny ve vazné stelivové stáji o kapacitě 120 kusů. Krmnou dávku v říjnu tvořila zelená vojtěška (16 kg), řepné skrojky (25 kg), sláma (1 kg) a směs DOB. V listopadu byla vojtěška nahrazena skrojkovou (13 kg) a kukuřičnou (2 kg) siláží. V prosinci byly z krmné dávky vyřazeny řepné skrojky a řízky a byla zvýšena dávka skrojkové siláže na 29 kg a kukuřičné siláže na 21 kg.

Krávy byly zaprahnuty šest až osm týdnů před porodem.

V říjnu byla u reprezentativního souboru dojnic předběžně biochemicky a hematologicky vyšetřena krev a moč (Jagoš aj., 1975, 1981). V listopadu bylo ze stáda dojnic vybráno osm vysokobřezích krav (pokusná skupina), u nichž jsme opakovaně v období dvou až osmi týdnů před porodem reagenčními papírky a Lestradetovou zkouškou prokázali střední až těžkou ketonurii. Jako kontrola sloužilo šest vysokobřezích krav z téže stáje, u nichž byla Lestradetova zkouška negativní. Krávy byly pravidelně klinicky vyšetřovány. Dva až osm týdnů před porodem (listopad) a dva až šest týdnů po porodu (leden) byly vyšetřeny vzorky krve a moči od celého sledovaného souboru krav najednou. Dále byla odebírána krev a moč individuálně v den porodu (do 2 h p. p.), 24 h a tři až pět dnů po porodu.

V krvi krav jsme po deproteinaci Somogyiho činidlem stanovili koncentraci oxidovaných ketolátek (aceton, kyselina acetoctová) a kyseliny beta-hydroxymásečné destilační metodou podle Reida (1960). Výpočtem byla určena hladina celkových ketolátek a poměr oxidovaných a celkových ketolátek (O/T). Dále byly stanoveny ukazatele acidobazické rovnováhy ve venózní krvi, koncentrace hemoglobinu, methemoglobinu, hematokrit, počet erytrocytů a leukocytů v krvi, plazmatické hladiny vitamínů A, E, beta-karotenu, celkového bilirubinu, glukózy, močoviny, vápníku, anorganického fosforu, hořčíku, sodíku, draslíku, železa, mědi a zinku, plazmatické aktivity aspartátaminotransferázy (AST), sorbitdehydrogenázy (SDH), gama-glutamyltransferázy (GMT) a alkalické fosfatázy (ALP), koncentrace celkové bílkoviny, albuminů, alfa, beta, gama-globulinů, NEMK, celkových lipidů a cholesterolu v krvením séru. V moči byly kromě běžných orientačních vyšetření (pH, hustota, proteinurie, ketonurie) stanoveny koncentrace močoviny a v odběru dva až osm týdnů před porodem a dva až šest týdnů po porodu i hladiny makroelementů.

Stanovení byla provedena metodami používanými v rámci systému preventivní diagnostiky metabolických poruch dojníc (Jagoš aj., 1975, 1981). Při testování významnosti rozdílu mezi dvěma výběrovými soubory bylo použito Studentova t-testu.

VÝSLEDKY

Vyhodnocením krmné dávky bylo v říjnu zjištěno překrmování vysokobřezích krav SNL (+500 g), zúžený poměr SNL : ŠJ (1 : 4,6) a značný nadbytek vápníku vzhledem k fosforu. Vysokoprodukční dojnice v laktaci byly krmeny nediferencovaně výrazně deficitní krmnou dávkou s nevyrovnaným poměrem minerálních látek, především Ca : P (38 : 1). V listopadu a prosinci byla krmná dávka vysokobřezích krav deficitní na SNL (−110 g) a vlákninu, v siláži byl zvýšený obsah kyselin (nad 12 %), včetně kyseliny máselné. V krmné dávce vysokoprodukčních krav v laktaci činil deficit sušiny 2,4 kg, deficit SNL 500 g a ŠJ 1,7.

Krávy stojící nasucho byly ve velmi dobrém výživném stavu, po porodu však u některých zvířat výrazně poklesla tělesná hmotnost. Pravidelným klinickým vyšetřováním krav zařazených do sledování nebyly shledány změny zdravotního stavu.

Dynamika hladin ketolátek v krvi sledovaných krav je znázorněna na obr. 1, jejich poměr v tab. I. Průměrné hodnoty dalších sledovaných ukazatelů v krvi krav a jejich dynamika jsou uvedeny v tab. II a na obr. 2—4, hodnoty v moči krav ukazuje tab. III.

Předběžným klinicko-biochemickým a hematologickým vyšetřením byly v říjnu u reprezentativního souboru krav zjištěny změny charakteristické pro narušení jaterního parenchymu. Jednalo se o tyto odchylky od normy: zvýšené aktivity GMT, ALP a SDH v krevní plazmě, hypo-

I. Průměrné hodnoty poměru oxidovaných a celkových ketolátek (‰) v krvi krav — Average values of the ratio of oxidated ketone bodies to total ketone bodies (‰) in the blood of cows

Skupina	$\bar{x} \pm s$				
	2—8 týdnů před porodem	2 h po porodu	24 h po porodu	3—5 dnů po porodu	2—6 týdnů po porodu
Pokus	17,3 ± 7,3 ⁺	21,2 ± 11,5	13,9 ± 7,9	24,7 ± 9,2	21,7 ± 3,0
Kontrola	29,5 ± 5,5 ⁺	19,5 ± 3,4	20,0 ± 0,0	25,8 ± 2,8	31,9 ± 15,8

+ ... $P < 0,05$

II. Průměrné hladiny makroelementů a ukazatelů lipidového metabolismu v krevní metabolism in the blood plasma (serum) of cows

Odběr	Skupina	$\bar{x} \pm s$		
		Ca	anorg. P	Mg
		mmol.l ⁻¹		
2–8 týdnů před porodem	pokus	2,39 ± 0,15	1,66 ± 0,15	0,99 ± 0,06
	kontrola	2,39 ± 0,09	1,57 ± 0,15	1,07 ± 0,07
2–6 týdnů po porodu	pokus	2,51 ± 0,03	1,44 ± 0,29	0,98 ± 0,08
	kontrola	2,50 ± 0,01	1,49 ± 0,12	0,99 ± 0,03

cholesterolémie, snížené hladiny močoviny v plazmě a moči, zejména u zaprahých krav leukopenie a hypofosfatémie, ketonurie u 80 až 100 % dojnic včetně vysokobřezích, dále subklinická metabolická alkalóza mírného stupně a snížení plazmatické hladiny beta-karoténu.

Klinicko-biochemickým vyšetřením krav dva až osm týdnů před porodem byla prokázána narušená funkce jater (zvýšená plazmatická aktivita GMT, zvýšená hladina celkového bilirubinu v plazmě, nízké koncentrace alfa a beta-globulinů a elevace gama-globulinů v krevním séru). Hladiny močoviny v krevní plazmě a moči a u většiny krav i plazmatické koncentrace anorganického fosforu a beta-karoténu byly sniženy. V moči byla nalezena snížená koncentrace hořčíku.

Hladiny celkových ketolátů v krvi krav pokusné skupiny byly v tomto období téměř dvakrát vyšší než v kontrolní skupině, rozdíl však byl statisticky významný pouze u koncentrace kyseliny beta-hydroxymáslé. Poměr O/T byl signifikantně vyšší u krav kontrolní skupiny. Koncentrace kyseliny beta-hydroxymáslé v krvi ve všech odběrech převládala nad koncentrací oxidovaných ketolátů. V den porodu a 24 h po porodu došlo u krav pokusné skupiny ke snížení a v dalších odběrech k vzestupu hladin ketolátů v krvi, zatímco u kontrolní skupiny koncentrace ketolátů během celého období sledování postupně vzrůstala, až převýšila hladinu u pokusných krav. V moči všech pokusných dojnic

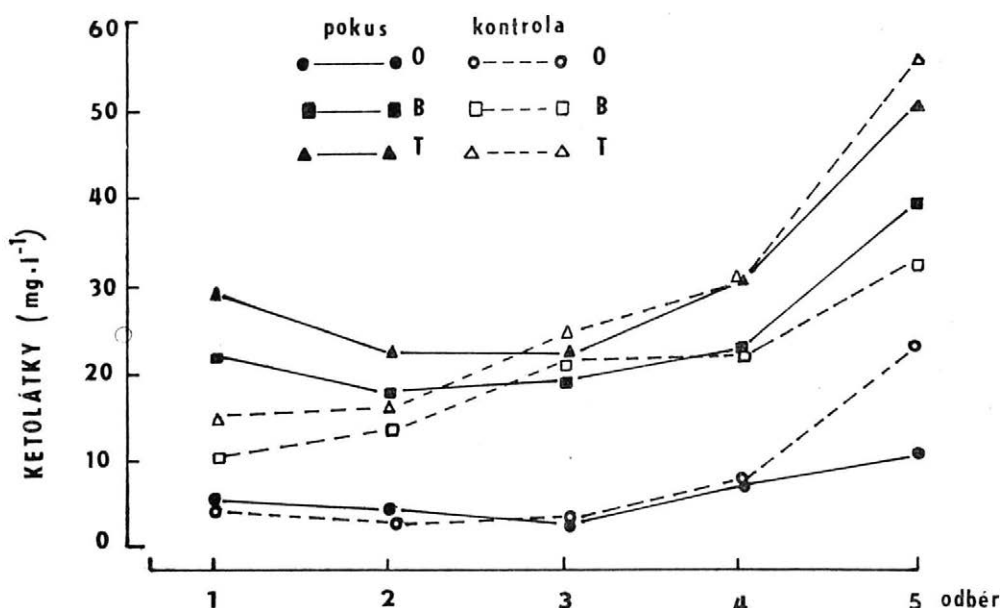
III. Průměrné hladiny makroelementů v moči krav — Average contents of macroelements in the urine of cows

Odběr	Skupina	$\bar{x} \pm s$			
		Ca	anorg. P	Mg	Na
		mmol.l ⁻¹			
2–8 týdnů před porodem	pokus	0,71 ± 0,25	0,86 ± 0,26	4,15 ± 1,21	27,31 ± 14,10
	kontrola	0,58 ± 0,16	0,73 ± 0,14	5,03 ± 2,87	20,20 ± 5,50
2–6 týdnů po porodu	pokus	0,37 ± 0,12	2,09 ± 1,28	6,78 ± 3,10	142,78 ± 64,31
	kontrola	0,39 ± 0,21	3,43 ± 2,81	8,50 ± 2,99	120,43 ± 88,26

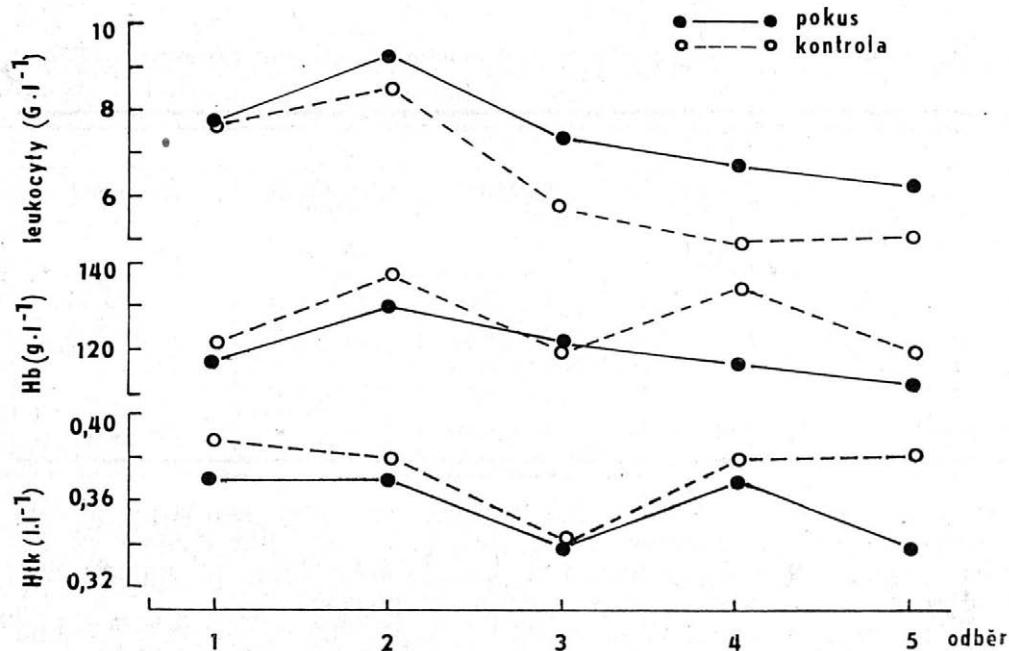
$\bar{x} \pm s$				
Na	K	NEMK	celkové lipidy	cholesterol
mmol.l ⁻¹			g.l ⁻¹	mmol.l ⁻¹
148,75 ± 17,97	4,23 ± 0,17	0,13 ± 0,02	3,55 ± 0,63	3,25 ± 1,07
141,67 ± 3,06	4,37 ± 0,15	0,14 ± 0,04	4,44 ± 2,62	2,31 ± 0,09
145,45 ± 1,62	4,57 ± 0,16	0,35 ± 0,24	3,65 ± 0,97	3,28 ± 0,69
144,11 ± 1,76	4,62 ± 0,07	0,33 ± 0,19	3,66 ± 0,90	2,80 ± 1,55

byla prokazována středně až silně pozitivní reakce na ketolátky po celé období sledování s výjimkou odběru 24 h po porodu, kdy došlo k dočasněmu poklesu až vymizení ketolátek. V moči krav kontrolní skupiny byly ketolátky zjišťovány až od tří až pěti dnů po porodu.

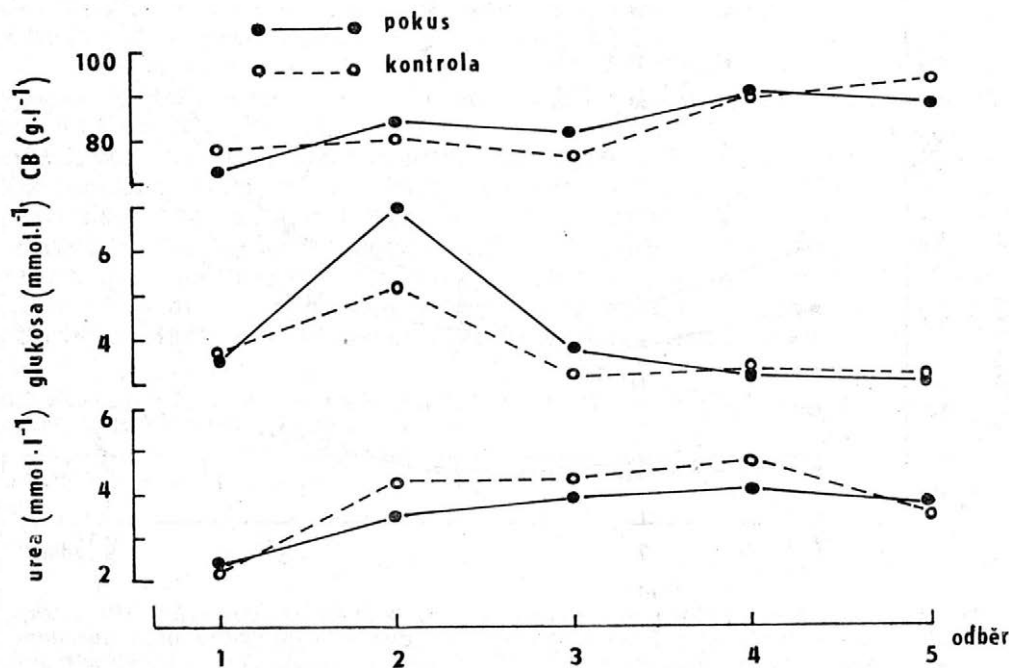
Koncentrace hemoglobinu v krvi tři až pět dnů po porodu a hladina mědi v plazmě dva až šest týdnů po porodu byly signifikantně vyšší ($P < 0,05$) u krav kontrolní skupiny. Koncentrace albuminů v krevním



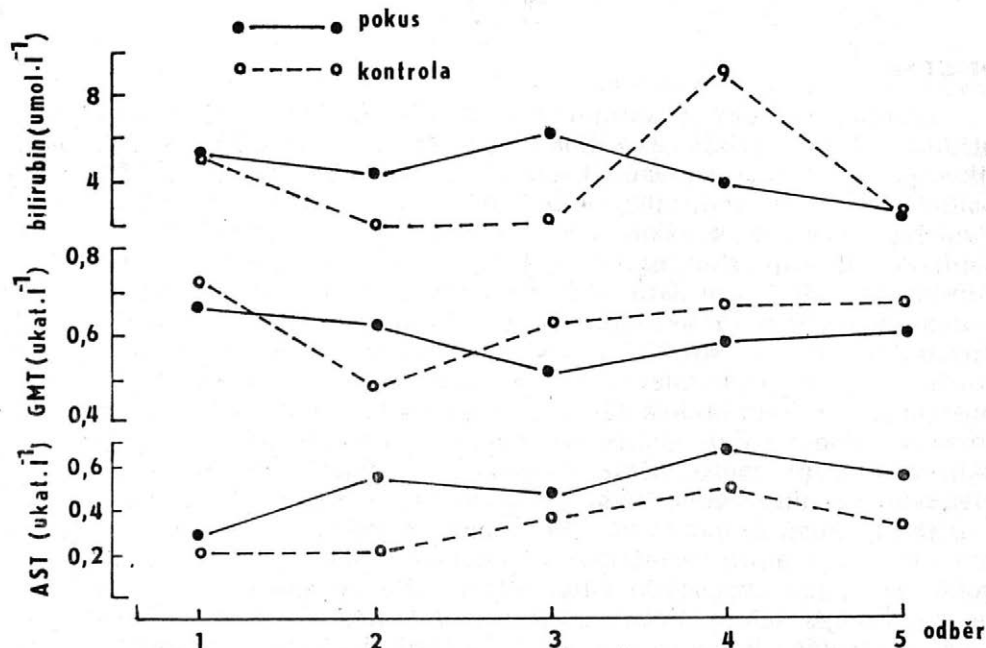
1. Průměrné hladiny oxidovaných ketolátek (O), beta-hydroxybutyrátu (B) a celkových ketolátek (T) v krvi krav (odběr č. 1 — dva až osm týdnů před porodem, č. 2 — do dvou hodin po porodu, č. 3 — 24 hodiny po porodu, č. 4 — tři až pět dnů po porodu, č. 5 — dva až šest týdnů po porodu) — Average contents of oxidated ketone bodies (O), beta-hydroxybutyrate (B) and total ketone bodies (T) in the blood of cows (sampling no. 1 — two to eight weeks before parturition, no. 2 — within two hours after parturition, no. 3 — 24 hours after parturition, no. 4 — three to five days after parturition, no. 5 — two to six weeks after parturition)



2. Průměrné hodnoty hematokritu, hemoglobinu a leukocytů v krvi krav (označení odběrů jako na obr. 1) — Average values of haematocrit, haemoglobin and leucocytes in the blood of cows (sampling denoted like in Fig. 1)



3. Průměrné hladiny močoviny, glukózy a celkové bílkoviny (CB) v krevní plazmě (séru) krav (označení odběrů jako na obr. 1) — Average contents of urea, glucose and total protein (CB) in the blood plasma (serum) of cows (samplings denoted line in Fig. 1)



4. Průměrné aktivity aspartátaminotransferázy, gama-glutamyltransferázy a koncentrace celkového bilirubinu v krevní plazmě krav (označení odběrů jako na obr. 1) — Average activities of aspartate aminotransferase and gamma-glutamyltransferase and the concentration of total bilirubin in the blood plasma of cows (samplings denoted like in Fig. 1)

séru dva až šest týdnů po porodu byla signifikantně vyšší u krav pokusné skupiny. U ostatních ukazatelů nebyly statisticky významné rozdíly zaznamenány.

V den porodu byla zjištěna výrazná hyperglykemie a u některých krav mírná leukocytóza. Vzestup koncentrace hemoglobinu v krvi nepřesáhl fyziologické rozmezí.

Závěrečné klinicko-biochemické a hematologické vyšetření za dva až šest týdnů po porodu prokázalo výskyt kompenzovaných metabolických alkalóz, leukopenii a výrazně zvýšené aktivity SDH v plazmě. Situaci před porodem odpovídala hypofosfatémie, nízká plazmatická hladina beta-karotenu a nízké vylučování močoviny močí. Hladiny mikroelementů v plazmě ležely v referenčním rozmezí s výjimkou koncentrace mědi, u které jsme našli zvýšené i snížené hodnoty.

Ve srovnání s obdobím stání nasucho byly po porodu zaznamenány nižší počty leukocytů, vyšší hladiny močoviny, vápníku a draslíku v plazmě, vyšší plazmatická aktivita AST a SDH, vyšší hladiny celkové bílkoviny, albuminů a NEMK v séru a nižší koncentrace anorganického fosforu v krevní plazmě. Hladiny gama-globulinů v séru byly trvale zvýšeny během celého sledování. Občasná elevace plazmatických hladin celkového bilirubinu a většinou zvýšené aktivity GMT ukazují na alteraci jaterního parenchymu.

Proti předporodnímu období se po porodu zvýšila exkrece močoviny, anorganického fosforu, hořčíku a sodíku a snížila se exkrece vápníku močí. Charakteristickým nálezem v moči během celého sledování byla její snížená hustota.

Hladina celkových ketolátů v krvi krav kontrolní skupiny byla přibližně dvakrát nižší než u pokusných krav, a to především díky signifikantně nižší koncentraci kyseliny beta-hydroxymáselné. Eliminace oxidovaných ketolátů močí byla u kontrolních krav velmi nízká (negativní Lestradeova zkouška), což bylo jediným kritériem pro jejich zařazení do kontrolní skupiny. Krmná dávka obou skupin krav se nelišila. Klinickým vyšetřením byla vyloučena sekundární ketóza. Příčinou různé úrovně ketonémie a ketonurie u obou skupin krav tedy zřejmě byly pouze individuální rozdíly v ketogenní kapacitě bachorového epitelu, rozdíly v přestupu ketolátů do krve fétů a kolostra nebo různá schopnost utilizace ketolátů a jejich exkrece ledvinami. Takto lze interpretovat i odlišnosti v dynamice ketonémie po další sledování, v jehož průběhu se rozdíly mezi oběma skupinami vyrovnaly. Rovněž v ostatních sledovaných ukazatelích většinou nebyly nalezeny statisticky významné rozdíly, což ovšem mohlo být způsobeno i menším počtem zvířat zařazených do sledování a variabilitou studovaných parametrů. Ze stejných důvodů se zřejmě nepodařilo nalézt statisticky významné rozdíly svědčící pro závažnější narušení funkce jater nebo ledvin u krav pokusné skupiny proti kontrolám, které by vysvětlovaly zjištěné rozdíly v hladinách a dynamice ketolátů. Porucha funkce jater byla prokazována i u kontrolní skupiny krav.

Normální rozmezí koncentrace ketolátů v krvi krav v závislosti na použité metodě a fázi reprodukčního cyklu je jednotlivými autory uváděno dosti rozdílně. Vojtíšek (1986) zjišťoval v krvi vysokobřezích krav průměrné koncentrace celkových ketolátů 14,4 až 36,6 mg.l⁻¹, což je v souladu s našimi výsledky. Rosenberger aj. (1970) považují za horní hranici fyziologického rozmezí hodnotu 50 mg.l⁻¹, Smirnov (1975) 60 mg.l⁻¹, Žarov a Kondrachin (1983) 36 mg.l⁻¹. Kauppinen (1983) pokládá za fyziologické rozmezí koncentrace acetoacetátu v krvi hodnotu 0,06 až 0,35 mmol.l⁻¹, tj. 6,1 až 35,7 mg.l⁻¹. Herdt aj. (1981) zjistili v krvi zdravých krav koncentraci beta-hydroxybutyrátu 44 mg.l⁻¹. Naši zjištěné hodnoty celkových ketolátů v krvi před porodem (29,2 mg.l⁻¹ u krav pokusné skupiny) jsou nižší, než odpovídá subklinické ketóze. Po porodu, vyjdeme-li z kritérií, která uvádějí Žarov a Kondrachin (1983), jde již u obou skupin dojnic o subklinickou ketózu. Přesto už před porodem všechny krávy pokusné skupiny vylučovaly ketolátky močí ve střední až silné intenzitě, která přibližně odpovídala hladině 3 až 15 mmol.l⁻¹ kyseliny acetoctové. Koncentrace ketolátů v moči zdravých krav nepřekračuje podle Rosenbergera aj. (1970) hodnotu 150 mg.l⁻¹, tj. 2,6 mmol.l⁻¹. Při ketóze převyšují hladiny ketolátů v moči jejich koncentraci v krvi více než u zdravých krav. Zvyšuje se zejména exkrece oxidovaných ketolátů močí. Teprve po vyčerpání kapacity renálního regulačního mechanismu se mění hladina ketolátů v krvi. Tato situace vykazuje určitou podobnost s regulací acidobazické rovnováhy (Hradecký a Kudláč, 1984). Proto jsme u krav pokusné skupiny pozorovali ketonurii značného stupně, aniž by výrazněji stoupla ketonémie nad referenční rozmezí.

Citovaní autoři dále uvádějí, že pro diagnózu ketózy je důležitý poměr oxidovaných a celkových ketolátů, který v krvi nebo moči zdravých krav nemá překročit hodnotu 10 %. V našem šetření byl tento po-

měr vyšší ve všech odběrech, což však může souviset s použitím rozdílných metod stanovení ketoláték.

V den porodu a 24 h p. p. u krav pokusné skupiny mírně poklesla ketonémie, patrně v důsledku zvýšené utilizace ketoláték v periferních tkáních při porodu a snad i v souvislosti s jejich přechodem do kolostra. Vzestup ketonémie v prvních týdnech po porodu (v našem případě na $56 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$ celkových ketoláték u kontrol) odpovídá hormonálnímu a metabolickému „přeladění“ dojníc, kdy vysokoprodukční krávy procházejí stavem „fyziologické ketózy“ (Baird, 1982). Navíc se v tomto období zvyšuje konverze butyrátu na beta-hydroxybutyrát ve stěně bачору (Andersson a Lundström, 1985).

Hladiny NEMK v séru se zvyšují na začátku laktace, při hladovění, v průběhu ketózy i steatózy jater (Morrow, 1976; Løvendahl aj., 1987). Vzestup hladiny NEMK po porodu je patrný i v našem šetření. Poměrně nízké koncentrace NEMK u vysokobřezích krav však vylučují zvýšenou lipomobilizaci v závěru gravidity jako etiopatogenetický faktor v rozvoji ketonurie.

Hypoglykémie, která je typickým nálezem při primární spontánní ketóze po porodu (Baird, 1982), v tomto případě zjištěna nebyla, což rovněž svědčí pro odlišný mechanismus vzniku ketonurie. Schultz (1971) uvádí pokles glykémie u krav, které byly krmeny siláží s vysokým obsahem butyrátu. Naproti tomu Smirnov (1975) při zkrmování siláže obsahující kyselinu máselnou v kombinaci s přebytkem bílkovin a deficitem energie v krmné dávce zjistil jen nevýrazný pokles glykémie, hladiny anorganického fosforu a vápníku v plazmě. Žarov a Kondrachin (1983) uvádějí hyperproteinemii a pokles plazmatické hladiny močoviny při ketóze u dojníc, což je v souladu s našimi nálezy. Při ketóze bývá dále nacházena snížená kalcémie a zvýšené vylučování vápníku močí (Žarov a Kondrachin, 1983). Totéž prokázali Vrzgula aj. (1982a) u krav postižených syndromem ztučnění. V našem sledování jsme tyto změny nezaznamenali. Charakteristickým symptomem ketózy je polyurie (Rosenberger aj., 1970), kterou v našem šetření dokládá nízká hustota moči.

Po celou dobu sledování jsme zjišťovali změny charakteristické pro poruchu funkce jater. Průměrná hladina cholesterolu v séru sice pouze při jednom odběru klesla pod hodnotu $2,6 \text{ mmol} \cdot \text{l}^{-1}$, která bývá považována za hraniční z hlediska výskytu subklinických onemocnění jater (Sokol aj., 1982), u jednotlivých krav však byla cholesterolemie často nižší než uvedená hodnota.

Zvýšení plazmatické koncentrace celkového bilirubinu bylo nepravdivelné. U krav před porodem jsme zaznamenali mírně zvýšené, ale poněkud nižší hodnoty než Vrzgula aj. (1982a). Koncentrace bilirubinu je u skotu všeobecně pokládána za málo významný ukazatel z hlediska diagnostiky jaterních onemocnění (Braun aj., 1986). Aktivita GMT a SDH v krevní plazmě patří k nejcitlivějším indikátorům chronického i akutního poškození hepatocytů (Morrow, 1976; Bouda aj., 1977). V průběhu syndromu ztučnění však dochází k výrazným změnám mnoha ukazatelů (bilirubin, aktivita enzymů) teprve tehdy, dosáhne-li steatóza jater značného stupně (Morrow, 1976; Kauppinen, 1984). Syndrom ztučnění krav je často doprovázen leukopenií (Reid aj., 1984). Námi zjištěné změny elektroforetických frakcí bílkovin krevního séra jsou charakteristické pro chronické hepatopatie.

Příčinu narušení jaterního parenchymu krav ve sledovaném chovu je třeba hledat především v překrmování březích krav SNL v závěru letního krmného období. Po přechodu na zimní krmnou dávku, kdy bylo zkrmováno velké množství siláže, se projevil deficit SNL a hrubé vlákniny. Vrzgula aj. (1982) považují konzum nadměrného množství kukuřičné siláže za jednu z nejčastějších příčin steatózy jater. Rovněž nedostatek strukturální vlákniny se může uplatnit v etiologii ketózy, proto Schultz (1971) doporučuje v rámci prevence ketózy zvýšení obsahu vlákniny v krmné dávce. Po porodu nebyla krmná dávka diferencována podle užitekosti a byla deficitní v základních živinách. Kombinace překrmování krav před porodem a hladovění v úvodu laktace predisponuje dojnice k onemocnění syndromem ztučnění, zejména opakuje-li se po několika laktacích (Morrow, 1976). Zda v našem případě skutečně šlo o tento syndrom nebylo možné s určitostí stanovit, neboť nebyla provedena biopsie jater, jež je k přesné diagnóze nezbytná (Sokol aj., 1982).

Schultz (1974) a Fronk aj. (1980) se domnívají, že steatóza jater se neuplatňuje jako predispoziční činitel v etiologii ketózy, ale naopak prodloužená ketóza může vést ke vzniku syndromu ztučnění. Otázka vztahu ketózy a syndromu ztučnění není dosud uspokojivě objasněna. Zatímco někteří autoři (Gál aj., 1983) popírají korelaci mezi výskytem steatózy jater a hyperketonémií, jiní (Whitaker aj., 1983; Révész aj., 1986) tuto závislost potvrzují. Vrzgula aj. (1982a) prokázali ketonurii u 50 % vyšetřených krav postižených syndromem ztučnění. Baird (1982) uvádí, že u krav překrmovaných v závěru gravidity dochází po porodu k větší mobilizaci tukových rezerv a schopnost přijímat krmivo je nižší než u krav krmených restriktivně. Ukládání triglyceridů v hepatocytech vede k poklesu obsahu jaterního glykogenu a narušuje se jaterní glukoneogeneze, což napomáhá rozvoji ketózy (Lebeda aj., 1982; Mills aj., 1984).

Třebaže výskyt ketózy je v našich podmínkách častější v zimních měsících a při přechodu na zimní krmnou dávku (Starý a Rolencová, 1982), u vysokobřezích krav prokázali Lebeda aj. (1982) vyšší frekvenci ketonurie značného stupně v letním období, kdy byly krávy překrmovány SNL. Z toho uvedení autoři vyvozují význam poruchy funkce jater v etiologii popisovaných ketonurií.

Andersson a Lundström (1985) uvádějí, že hyperketonémií u krav může vyvolat pouhý konzum siláže s vysokým obsahem kyseliny máselné. U podvyživených krav nebo u krav s hypoglykemií zvyšuje příjem butyrátu riziko hyperketonémie a zřejmě i klinické ketózy.

Shrneme-li uvedená fakta, lze konstatovat, že v námi sledovaném případě byla ketonurie u vysokobřezích krav zřejmě způsobena kombinací zvýšené alimentární a hepatální ketogeneze. Překrmování březích krav krmnou dávkou se zúženým poměrem SNL : ŠJ a po porodu nediferencovaná krmná dávka deficitní na energii, dusíkaté látky, hrubou vlákninu i některé vitamíny (v našem případě beta-karotén) a minerály, zejména opakuje-li se ve dvou nebo více následujících laktacích, vedou ke steatóze jater a vyčerpání rezerv jaterního glykogenu. To je patrně významný faktor v rozvoji nadměrné jaterní ketogeneze, jež je potenciována alimentární ketogenezí způsobenou příjmem velkých dávek nekvalitní siláže s obsahem kyseliny máselné.

Dynamika vybraných ukazatelů v závislosti na fázi reprodukčního cyklu nebyla statisticky vyhodnocována, neboť její studium nebylo hlavním cílem práce a počet zvířat zařazených do sledovaného souboru byl poměrně malý. Přesto však lze pozorovat určité změny zkoumaných ukazatelů.

Leukocytóza v periferní krvi v den porodu je pravidelným nálezem, který souvisí s porodním stresem (Benýšek a Kudláč, 1971a). Totéž platí o hyperglykémii prokázané v uvedeném období (Oltner a Berglund, 1983). Zvýšení koncentrace hemoglobinu a relativní hyperproteinémie v den porodu a tři až pět dnů p. p. jsou následkem dehydratace. Po porodu bývají v důsledku hemokoncentrace zjišťovány zvýšené hladiny celkové bílkoviny v séru (Benýšek a Kudláč, 1971). Zvýšená hladina močoviny v plazmě po porodu v porovnání s vysokobřezími krávami může být způsobena katabolismem proteinů v organismu dojníc při jejich deficitu v krmné dávce. Snížená plazmatická koncentrace anorganického fosforu, zejména po porodu, je v souvislosti s příliš širokým poměrem Ca : P a s jeho přechodem do mléka (Oltner a Berglund, 1983; Wohlt aj., 1984).

Nízké hladiny mnoha ukazatelů v moči, zejména v období před porodem, souvisí s její sníženou hustotou. Zvýšenou exkreci sodíku močí po porodu lze vysvětlit na základě exacerbace subklinické ketózy v tomto období. Žarov a Kondrachin (1983) popisují zvýšené ztráty sodíku močí v průběhu ketózy. Vrzgula aj. (1982a) prokazovali u krav postižených syndromem ztučnění dekompenzovanou metabolickou acidózou. V našem šetření byly zjišťovány spíše mírné alkalózy než acidóza, což je v souladu s údajem, který uvádí Bergman (1971), že při ketóze přežvýkavců dochází k acidóze méně často než při diabetu u člověka a monogastrů.

Literatura

- ANDERSSON, L. — LUNDSTRÖM, K.: Effect of feeding silage with high butyric acid content on ketone body formation and milk yield in postparturient dairy cows. Zbl. Veter.-Med., R. A, 32, 1985, s. 15-23.
- BAIRD, G. D.: Primary ketosis in the high-producing dairy cow: Clinical and sub-clinical disorders, treatment, prevention, and outlook. J. Dairy Sci., 65, 1982, s. 1-10.
- BAIRD, G. D. — HEITZMAN, R. J. — HIBBITT, K. G. — HUNTER, G. D.: Bovine ketosis: a review with recommendations for control and treatment. Part I. Brit. veter. J., 130, 1974, s. 214-220.
- BENÝŠEK, V. — KUDLÁČ, E.: The red blood picture in cows in the last month of pregnancy, during parturition and in the period of puerperium. Acta veter. (Brno), 40, 1971, s. 177-185.
- BENÝŠEK, V. — KUDLÁČ, E.: Changes in the white blood cell count of cows in the last month of pregnancy and during parturition. Acta veter. (Brno), 40, 1971a, s. 333-344.
- BERGMAN, E. N.: Hyperketonemia-ketogenesis and ketone body metabolism. J. Dairy Sci., 54, 1971, s. 936-948.
- BOUDA, J. — JAGOŠ, P. — DVOŘÁK, R. — PISKAČ, A.: Změny v aktivitě enzymů při experimentální aflatoxikóze u dojníc. Veter. Med. (Praha), 22, 1977, s. 137-142.
- BRAUN, J. P. — BÉZILLE, P. — RICO, A. G.: Sémiologie biochimique du foie chez les ruminants. Reprod. Nutr. Dévelop., 26, 1986, s. 227-243.
- CAPLE, I. W. — PEMBERTON, D. H. — HARRISON, M. A. — HALPIN, C. G.: Starvation ketosis in pregnant beef cows. Austral. veter. J., 53, 1977, s. 289-291.
- FRONK, T. J. — SCHULTZ, L. H. — HARDIE, A. R.: Effect of dry period over-

conditioning on subsequent metabolic disorders and performance of dairy cows. *J. Dairy Sci.*, 63, 1980, s. 1080-1090.

GAÁL, T. — ROBERTS, C. J. — REID, I. M. aj.: A plazma D/-/3-hidroxiavajsar-tartalmának és a máj elzsírosodásának vizsgálata frissen ellet teheneknél. *Magy. állatorv. Lap.*, 38, 1983, s. 221-222.

HERDT, T. H. — STEVENS, J. B. — OLSON, W. G. — LARSON, V.: Blood concentrations of β -hydroxybutyrate in clinically normal holstein-friesian herds and in those with a high prevalence of clinical ketosis. *Amer. J. veter. Res.*, 42, 1981, s. 503-506.

HRADECKÝ, P. — KUDLÁČ, E.: Clinical evaluation of ketone bodies in body fluids of cows in late pregnancy and their fetuses. *Veter. Res. Commun.*, 8, 1984, s. 195-202.

JAGOŠ, P. — BOUDA, J. — ILLEK, J. — HOFÍREK, B.: Rozpracování metabolických testů k určení skrytých poruch výměny látkové u dojnic v podmínkách průmyslových komplexů. [Výzkumná zpráva.] Brno, Vysoká škola veterinární 1975. 50 s.

JAGOŠ, P. — HRADECKÝ, P.: Klinicko-biochemické aspekty poruch energetického metabolismu. *Veter. laboratorní a klinická diagnostika*, Pardubice, oddělení veter. osvěty SVS, 1981, č. 1, s. 24-30.

JAGOŠ, P. — ILLEK, J. — BOUDA, J. — DVOŘÁK, R.: Vypracování systémů preventivní diagnostiky poruch výměny látkové u skotu. [Výzkumná zpráva.] Brno, Vysoká škola veterinární 1981. 71 s.

KAUPPINEN, K.: Influence of bovine ketosis and liver damage on reproductive performance and annual milk yield. In: *Proceedings of the 5th international conference on production diseases in farm animals*. Uppsala, Swedish University of Agricultural Science 1983, s. 124-128.

KAUPPINEN, K.: ALAT, AP, ASAT, G-GT, OCT activities and urea and total bilirubin concentrations in plasma of normal and ketotic dairy cows. *Zbl. Veter.-Med., R. A.*, 31, 1984, s. 567-576.

KRONFELD, D. S.: Major metabolic determinants of milk volume, mammary efficiency and spontaneous ketosis in dairy cows. *J. Dairy Sci.*, 65, 1982, s. 2204-2212.

LEBEDA, M. — PŘIKRYLOVÁ, J. — BUŠ, A.: Ketonurie dojnic. *Veter. Med. (Praha)*, 27, 1982, s. 513-523.

LØVENDAHL, P. — SEJRSEN, K. — PETERSEN, P. H.: Early identification of breeding value for milk production. In: *Research in cattle production*, Danish status and perspectives. Copenhagen, Landhusholdningsselskabets Forlag 1987, s. 39-49.

MORROW, D. A.: Fat cow syndrome. *J. Dairy Sci.*, 59, 1976, s. 1621-1629.

MILLS, S. E. — LYLE, R. R. — BEITZ, D. C. — YOUNG, J. W.: In vitro hepatic gluconeogenesis during experimental ketosis produced in steers by 1,3-butadienol and phlorizin. *J. Dairy Sci.*, 67, 1984, s. 2261-2273.

OLTNER, R. — BERGLUND, B.: Leukocytes, packed cell volume, glucose, urea, calcium, inorganic phosphorus and magnesium in the blood of dairy cows. *Zbl. Veter.-Med., R. A.*, 30, 1983, s. 530-541.

REID, R. L.: The determination of ketone bodies in blood. *Analyst*, 85, 1960, s. 265-271.

REID, I. M. — DEW, A. M. — WILLIAMS, L. A.: Haematology of subclinical fatty liver in dairy cows. *Res. veter. Sci.*, 37, 1984, s. 63-65.

RÉMÉSY, C. — CHILLIARD, Y. — RAYSSIGUIER, Y. — MAZUR, A. — DEMIGNÉ, C.: Le métabolisme hépatique des glucides et des lipides chez les ruminants: principales interactions durant la gestation et la lactation. *Reprod. Nutr. Dévelop.*, 26, 1986, s. 205-226.

ROSENBERGER, G. aj.: *Krankheiten des Rindes*. Berlin, Hamburg, P. Parey 1970. 1392 s.

SCHULTZ, L. H.: Ketosis in dairy cattle. *J. Dairy Sci.*, 51, 1968, s. 1133-1140.

SCHULTZ, L. H.: Management and nutritional aspects of ketosis. *J. Dairy Sci.*, 54, 1971, s. 962-973.

SCHULTZ, L. H.: Ketosis. In: LARSON, B. L. — SMITH, V. R. aj.: *Lactation. A comprehensive treatise*. Vol. 2. New York, Academic Press 1974, s. 318-353.

SMIRNOV, S. L.: Kliničeskoe značenie ketogennyh i antiketogennyh faktorov. *Veterinarija (Moskva)*, 1975, č. 10, s. 84-88.

SOKOL, J. — VRZGULA, L. — REICHEL, P.: Klinický a patologicko-anatomický obraz a diagnostika syndrómu stučnenia kráv. *Veterinárství*, 32, 1982, s. 299-302.

STARÝ, Z. — ROLENCOVÁ, H.: Změny metabolických ukazatelů u skotu v průběhu ročních období. *Veter. Med. (Praha)*, 27, 1982, s. 531-540.

VOJTÍŠEK, B.: Studium vlivu metabolických poruch na reprodukční schopnosti krav, zdraví jejich telat a možnosti prevence. [Kandidátská disertace.] Brno 1986. 122 s. — Vysoká škola veterinární.

VRZGULA, L. — SOKOL, J. — REICHEL, P.: Syndróm stučnenia kráv. Výskyt, etiológia a patogenéza. Veterinárství, 32, 1982, s. 16-18.

VRZGULA, L. — SOKOL, J. — KAČMÁRIK, J. — KONRÁD, V.: Príčiny syndrómu stučnenia kráv v jednom chove. Veterinárství, 32, 1982a, s. 450-453.

WHITAKER, D. A. — KELLY, J. M. — SMITH, E. J.: Subclinical ketosis and serum beta-hydroxybutyrate levels in dairy cattle. Brit. veter. J., 139, 1983, s. 462-463.

WOHLT, J. E. — EVANS, J. L. — TROUT, J. R.: Blood constituents in lactating holstein cows influenced by hematocrit, sampling site, and diet protein and calcium. J. Dairy Sci., 67, 1984, s. 2236-2246.

ŽAROV, A. V. — KONDRACHIN, I. P.: Ketoz vysokoproduktivnych korov. Moskva, Rosselchozizdat 1983. 101 s.

Došlo dne 16. 5. 1988

БОУШКА, Й. — КЛИМЕШ, Й. — ЯГОШ, П. — МИНКСОВА, Э. (Ветеринарный институт, Брно): Динамика клинко-биохимических показателей у коров с кетонурией в период стельности и после родов. Veter. Med. (Praha), 34, 1989 (2) : 65-78.

Изучение проводили у восьми высокостельных коров, у которых повторно доказали кетонурию средней — высокой степени. Контрольную группу представляло шесть коров, у которых до родов кетонурию не определяли. У коров отбирали образцы крови и мочи 2—8 недель до родов, в день родов, 24 часа, 3—5 дней и 2—6 недель после родов. В крови коров концентрация окисляемых кетовеществ и бетагидроксибутирата была определена дистилляционным методом. Далее определили в крови и моче значения клинко-биохимических показателей в объеме системы профилактического диагностирования. Регулярным клиническим обследованием коров не установили особых изменений состояния здоровья. Средняя концентрация общих кетовеществ в крови коров 2—8 недель до родов составляла 29,2 мг. л⁻¹, значения у контрольных коров были приблизительно половинными. В день родов понизился уровень кетовеществ в крови коров опытной группы. Понижение чередовалось постепенным возрастанием уровня общих кетовеществ в крови до 50,6 мг. л⁻¹ 2—6 недель до родов. Весь период обследования у коров обеих групп доказывали изменения свидетельствующие о нарушении функции печени. Причиной данного нарушения было перекармливание высокостельных коров переваримыми азотистыми веществами и кормление некачественными силосами. После родов кормовая доза не была дифференцирована по продуктивности. Она была дефицитной в содержании основных питательных веществ и витаминов. Кетонурия наверное была вызвана одновременно повышенным печеночным и пищевым кетогенезом, причиной которого были гепатопатия совместно с приемом больших доз некачественных силосов, содержащих масляную кислоту.

к. р. с.; субклинический кетоз; гепатопатия; кетовещества; ацетон; кетоуксусная кислота; кислота бета-гидроксимасляная

BOUŠKA, J. — KLIMEŠ, J. — JAGOŠ, P. — MINKSOVA, E. (University of Veterinary Medicine, Brno): Dynamics of the Clinico-biochemical Parameters in Cows with Ketonuria in the Dry Standing and Post-partum Period. Veter. Med. (Praha), 34, 1989 (2) : 65-78.

The study was performed in eight high-pregnant cows in which medium to high ketonuria was repeatedly detected. The control group consisted of six cows free from ketonuria before parturition. Blood and urine were sampled from the cows two to eight weeks before parturition, on the day of parturition, 24 hours, three to five days and two to six weeks after parturition. The concentrations of oxidated ketone bodies and beta-hydroxybutyrate were determined by the distilling method. Further, the values of clinico-biochemical parameters in the urine and blood were determined within the range of the preventive diagnosis system. No marked changes in the health condition were found by the current clinical examination. The average concentration of total ketone bodies in the blood of the cows

two to eight weeks before parturition was 29.2 mg per litre; the respective values recorded in the control cows were lower by about a half. The concentration of ketone bodies in the blood of the cows in the experimental group decreased on the day of parturition. The decrease was followed by a gradual rise of the total ketone bodies content in the blood up to 50.6 mg per litre two to six weeks after parturition. Alterations testifying to a disorder in the function of liver were observed in the cows of both groups throughout the period under study. The disorder was due to excessive administration of crude protein to the high-pregnant cows combined with the use of low-quality silage. After parturition the feed ration was not differentiated according to performance and was deficient in the basic nutrients and vitamins. Ketonuria was obviously due to the simultaneous intensification of hepatal and alimentary ketogenesis, caused by hepatopathy in combination with the intake of large amounts of poor-quality silage containing butyric acid.

cattle; subclinical ketosis; hepatopathy; ketone bodies; acetone; acetoacetic acid; beta-hydroxybutyric acid

BOUŠKA, J. — KLIMEŠ, J. — JAGOŠ, P. — MINKSOVÁ, E. (Veterinärmedizinische Hochschule, Brno): *Dynamik klinisch-biochemischer Kennwerte bei Kühen mit Ketonurie im Zeitraum des Trockenstellens und nach dem Abkalben*. Veter. Med. (Praha), 34, 1989 (2) : 65-78.

Die Untersuchungen wurden bei acht hochtragenden Kühen vorgenommen, bei denen wiederholt eine Ketonurie mittleren bis hohen Grades nachgewiesen wurde. Die Kontrollgruppe bildeten sechs Kühe, bei denen vor dem Abkalben eine Ketonurie nicht festgestellt wurde. Von den Kühen wurden Blut- und Harnproben zwei bis acht Wochen vor dem Abkalbetermin, am Abkalbetag und 24 Stunden, drei bis fünf Tage und zwei bis sechs Wochen nach dem Abkalben entnommen. Im Blut der Kühe wurde die Konzentration oxidierten Ketonkörper und des Betahydroxybutyrats mittels Destillationsmethode bestimmt. Ferner wurden im Blut und im Harn Werte der klinisch-biochemischen Parameter im Bereich des Systems der Präventivdiagnostik ermittelt. Anhand durchgehender klinischer Untersuchungen der Kühe wurden keine markanten Veränderungen des Gesundheitszustands verzeichnet. Die mittlere Konzentration der Gesamtketonkörper im Blut der Kühe betrug zwei bis acht Wochen vor dem Abkalben $29,2 \text{ mg.l}^{-1}$, die Werte der Kontrollkühe betrugen ungefähr die Hälfte. Am Abkalbetag sank der Ketonkörper Spiegel im Blut der Kühe der Versuchsgruppe. Dieser Rückgang wurde durch einen allmählichen Anstieg der Gesamtketonkörper im Blut auf $50,6 \text{ mg.l}^{-1}$ im Verlauf von zwei bis sechs Wochen nach dem Abkalben abgelöst. Während der ganzen Versuchsperiode waren bei Kühen beider Gruppen von einer Störung der Leberfunktion zeugende Veränderungen nachzuweisen. Als Ursache dieser Störung ist ein übermäßiges Füttern hochtragender Kühe mit verdaulichen stickstoffhaltigen Stoffen und das Verfüttern minderwertiger Silagen anzusehen. Nach dem Abkalben war die Futterration nicht der Leistung nach differenziert und sie war im Gehalt der Grundnährstoffe und Vitamine defizitär. Die Ketonurie war vermutlich verursacht durch eine gleichzeitig gesteigerte hepatale und alimentäre Ketogenese, deren Ursache eine Hepatopathie in Kombination mit der Aufnahme großer Dosen von Buttersäure enthaltenden Silagen minderwertiger Qualität war.

Rind; subklinische Ketosis; Hepatopathie; Ketonkörper; Azeton; Azetessigsäure; Beta-Hydroxybuttersäure

Adresy autorů:

MVDr. Josef Bouška, Stanice veterinární péče, Nádražní 21, 693 01 Hustopeče u Brna

MVDr. Jiří Klimeš, prof. MVDr. Přemysl Jagoš, CSc., RNDr. Eva Minksová, Vysoká škola veterinární, Palackého 1-3, 612 42 Brno

EPENDÝMOVÁ VÝSTELKA INFUNDIBULÁRNEHO RECESU SAMCOV A HERMAFRODITA MALÝCH PREŽÚVAVCOV V RIADKOVACOM ELEKTRÓNOVOM MIKROSKOPE

V. Rajtová, F. Odehnal

RAJTOVÁ, V. — ODEHNAL, F. (Vysoká škola veterinárska, Košice; Výzkumný ústav stavebních hmot, Brno): *Ependýmová výstelka infundibulárneho recesu samcov a hermafrodita malých prežúvavcov v riadkovacom elektrónovom mikroskope*. Veter. Med. (Praha), 34, 1989 (2) : 79-88.

V riadkovacom elektrónovom mikroskope sme sledovali povrch ependýmovej výstelky dolnej časti tretej mozgovej komory u baranov, kozlov a u jednej kozy s vývojovou poruchou pohlavných orgánov — *hermaphroditismus testicularis*. Zistili sme, že apikálne membrány ependýmových tanycytov u baranov a kozlov v období pripúšťania pokrývajú početné blebs (ependýmosekrécia). Len u kozlov v sezóne pripúšťania (nie však u baranov) sú na povrchu *recessus infundibuli* prítomné ojedinelé supraependýmové bunky, výbežky ktorých tvoria „ruffled membranes“. Aj keď u hermafrodita poukazoval nález na pohlavných orgánoch skôr na samca, prítomnosť veľkého počtu supraependýmových buniek pripomína samicu kozy. Výsledky poukazujú, že aj u samcov malých prežúvavcov súvisí činnosť pohlavných orgánov so stavbou a funkciou ependýmovej výstelky infundibulárneho recesu.

cerebroneurálny systém; ependým; malé prežúvavce; samce; hermafroditi

Výstelka komorového systému mozgu — ependým — nepatrí priamo k pohlavnej sústave. Z funkčného hľadiska najmä vysoko špecializované ependýmové bunky — tanycyty, ktoré pokrývajú stenu *recessus infundibuli*, veľmi citlivo reagujú na procesy súvisiace s činnosťou pohlavných orgánov. Z literatúry je známa diferencovaná stavba ependýmového povrchu *recessus infundibuli* u rôznych druhov cicavcov aj na základe štúdií v riadkovacom elektrónovom mikroskope (ďalej REM). Do určitej miery sa vie aj o zmenách v štruktúre ependýmového povrchu infundibulárneho recesu vo vzťahu k pohlaviu alebo ovariálnemu cyklu, a to predovšetkým u potkana (Brawer a i., 1974; Mestres a Breipohl, 1976), makaka (Coates, 1973a, b) a bahníc (Coates a Davis, 1977; Rajtová a Odehnal, 1987; Rajtová, 1988b). Údaje, ktoré pre *recessus infundibuli* uvádzajú Kozłowski a i. (1973), sú z domácich zvierat zaznamenané v literatúre ako prvé, majú však skôr informatívny charakter. Nie je z nich zrejmý rozdiel medzi bahnícou a kastrátom, ktoré použili, nie je tiež jasné (ani z fotodokumentácie), či blebs, ktoré v infundibule dokumentujú, komu patria. U väčšiny hospodárskych zvierat takéto údaje nie sú známe.

MATERIÁL A METÓDA

Pre toto štúdium sme použili desať hláv z malých prežúvavcov. Z toho bolo päť hláv z baranov (jeden desaťdňový, ostatné dospelé, usmrtené v máji, októbri a novembri). Ďalšie štyri hlavy pochádzali z dospelých kozlov (usmrtení koncom apríla, v októbri a novembri). Jedna hlava patrila dvojročnému jedincovi kozy, ktorého nález na pohlavných orgánoch poukazoval na *hermaphroditismus testicularis*. (Semenníky a skrotum boli hypoplastické, pohlavný úd krátky a v rozšírenom perineu asi 10 cm pod análnym otvorom bol kožný záhyb, ktorý imitoval vagínu. Stopy po samičích pohlavných orgánoch sa nevyskytovali. Podľa zdelenia majiteľa sa jedinec správval striedavo ako samec alebo samica.)

Všetky hlavy sme bezprostredne po vykrvení perfundovali fosfátovým pufróm, vzápätí Karnovského fixačným roztokom. Po vybratí mozgov sme vzorky dofixovali 3% roztokom glutaraldehydu v 0,2 M kakodylovom pufrí. Všetky použité roztoky mali pH 7,4 a teplotu 4°C. Po fixácii nasledovalo spracovanie vzoriek podľa Mura kamiho a i. (1977) a odvodnenie vo vzostupnom etylalkoholovom rade. Časť vzoriek z baranov sme sušili vo vákuu, ostatné metódou kritického bodu. Po naparení zlatom sme vzorky prehliadali a fotografovali v REM Tesla BS 300 a Cambridge Stereoscan 2A.

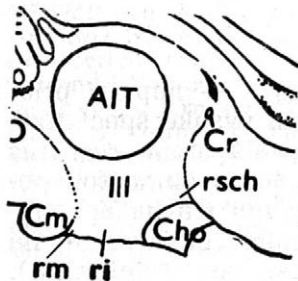
V práci sledujeme a opisujeme povrch endydymovej steny dolnej časti tretej mozgovej komory, v *recessus infundibuli*.

VÝSLEDKY

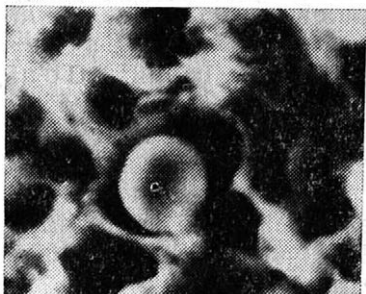
Stenu *recessus infundibuli* (obr. 1/ri) aj malých prežúvavcov vystieľajú vysoko špecializované endydymové bunky — tanycyty.

U desaťdňového barančeka (obr. 2) apikálne membrány tanycytov pokrývajú prevažne husté mikrokľky, ktoré sa pravdepodobne po obvo-de zhlukujú a tvoria vyššie krísty; ohraničujú polyedrické komôrky, v ktorých sa môžu vyskytovať sférické štruktúry.

U dospelých baranov mimo sezóny (máj) sa na povrchu infundibulárneho recesu nachádzajú husté, jemné mikrokľky (obr. 3/m) a im podobné hrubšie štruktúry. Medzi nimi sú roztrúsené široké, ploché až

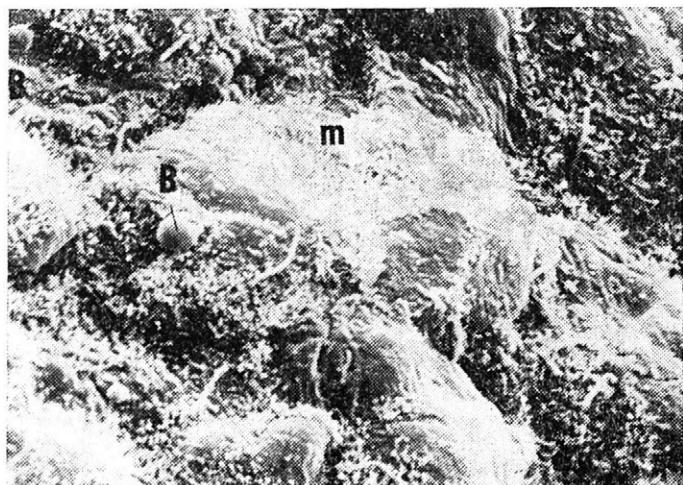


1. Schéma tretej mozgovej komory kozy (AIT — *adhesio interthalamica*, Cm — *corpus mamillare*, Cr — *commissura rostralis*, Cho — *chiasma opticum*, ri — *recessus infundibuli*, rm — *recessus mamillaris*, rsch — *recessus suprachiasmaticus*, III — *ventriculus III*) — Diagram of the third cerebral ventricle of a goat (AIT — *adhesio interthalamica*, Cm — *corpus mamillare*, Cr — *commissura rostralis*, Cho — *chiasma opticum*, ri — *recessus infundibuli*, rm — *recessus mamillaris*, rsch — *recessus suprachiasmaticus*, III — *ventriculus III*)



2. Časť infundibulárnej steny desaťdňového barančeka — Part of the infundibular wall of a ten-day old ram-lamb

3. Mikroklky (m) a sférické mechúrikovité štruktúry (B) z dolnej časti infundibula (baran, máj) — Microvilli (m) and spherical vesicular structures (B) from the lower part of infundibulum (ram, May)

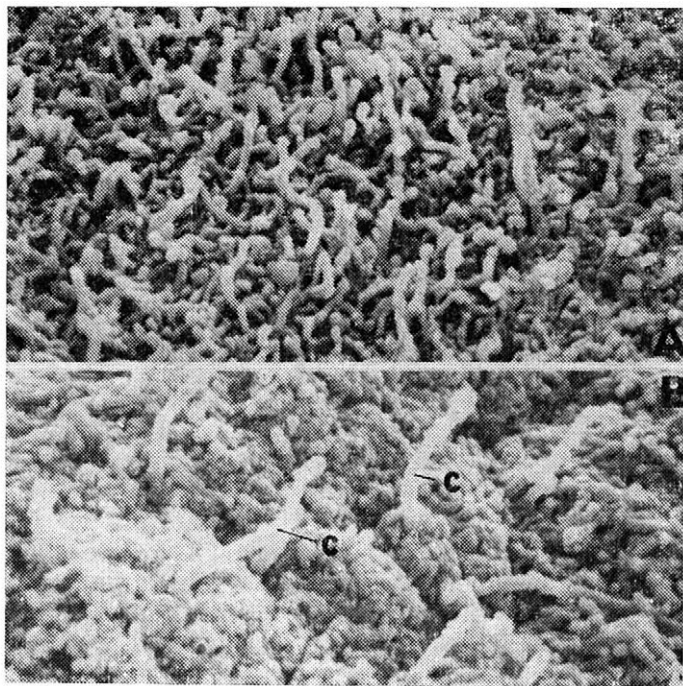


sférické mechúrikovité štruktúry označované ako blebs (B). U baranov v období pripúšťania (október, november) vystielajú povrch dolnej časti tretej mozgovej komory hrubšie, riedke mikroklky a ojedinelé zväzky cílií (obr. 4/m, C). Sférické protrúzie, blebs, sú u nich zriedkavé (4A), supraependýmové bunky chýbajú.

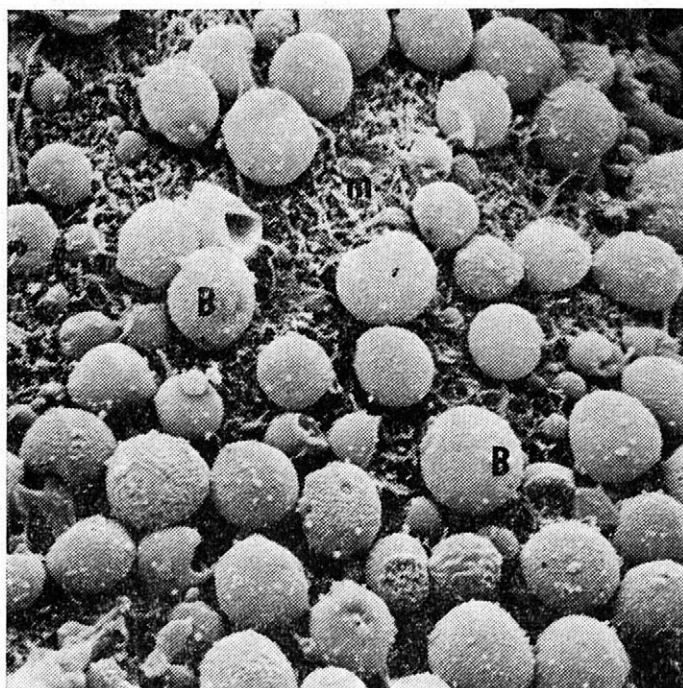
U kozlov v kľudovom období (koniec apríla) sa na povrchu apikálnych membrán infundibulárnych tanycytov vyskytujú kužeľovite zakončené mikroklky (obr. 5A), roztrúsené zväzky kinocílií a krátke cílie (c). Len pri vstupe do *recessus mamillaris* je na krátkom úseku súvis-

4. Hrubšie, riedke mikroklky (m) a ojedinelé cílie (C) v infundibule barana (november). A — detail jednej z mechúrikovitých štruktúr — Thicker, low-density microvilli (m) and sporadic cilia (C) in the infundibulum of a ram (November), A — detail of one of the vesicular structures



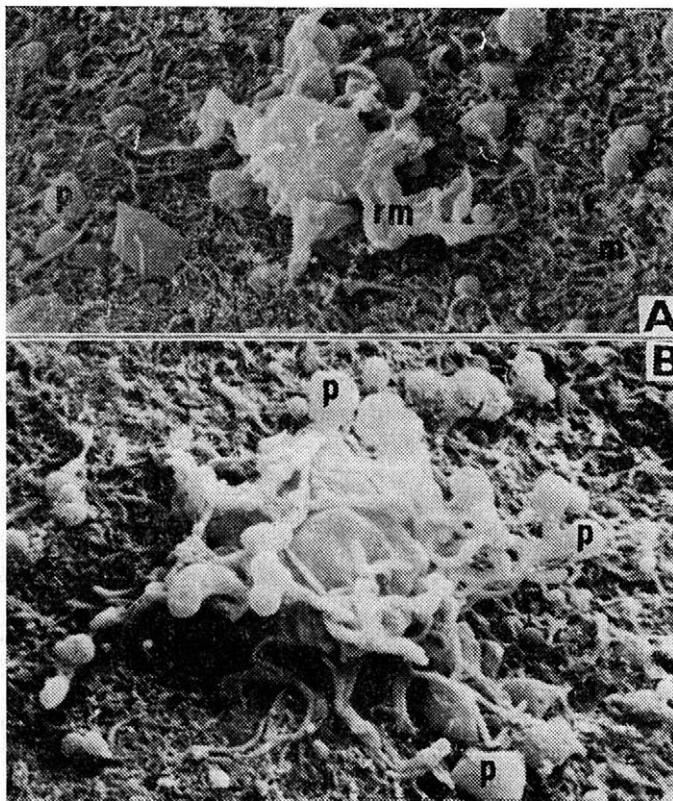


5. Kužeľovite zakončené mikroklky (A) roztrúsené krátke cílie (c) (B) v infundibule kozla (koniec apríla) — Cone-ended microvilli (A), scattered short cilia (c) (B) in the infundibulum of a billy goat (end of April)

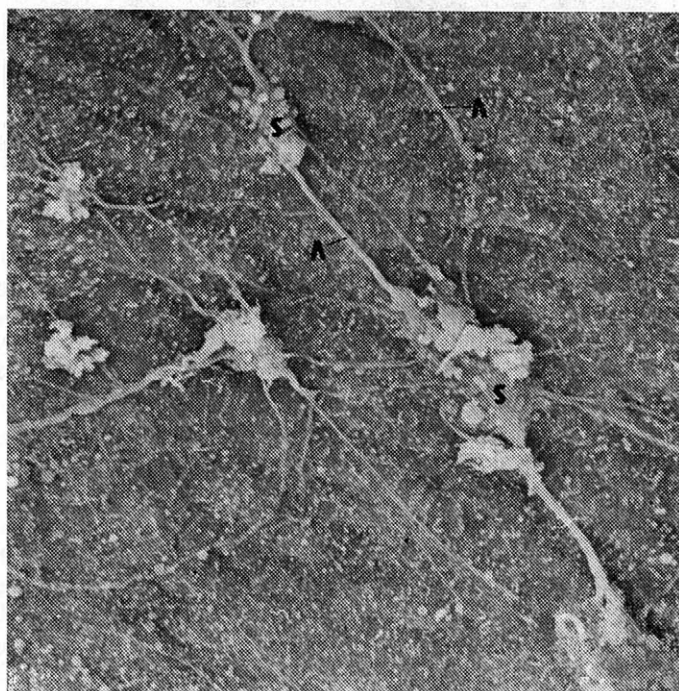


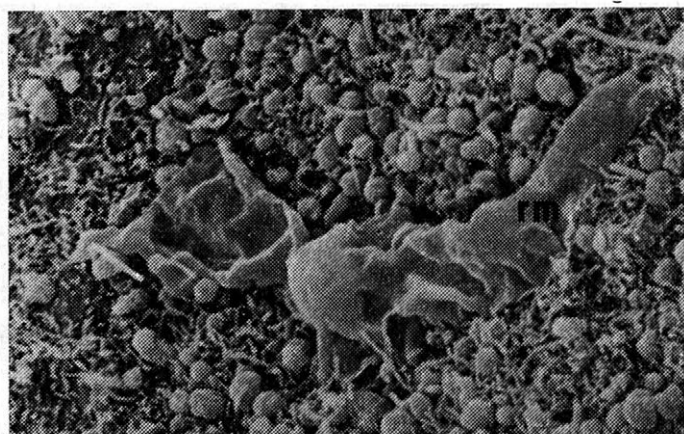
6. Mechúrikovité štruktúry sférického tvaru (B) v infundibule kozla (koniec apríla) (m — mikroklky) — Spherical vesicular structures (B) in the infundibulum of a billy goat (end of April) (m — microvilli)

7. Dve zo supraependýmových buniek dolnej časti tretej mozgovej komory kozla (október) (m — mikrokľky, p — protrúzie, rm — „ruffled membrane“) — Two of the supraependymal cells of the lower part of the third cerebral ventricle of a billy goat (October) (m — microvilli, p — protrusions, rm — “ruffled membrane”)

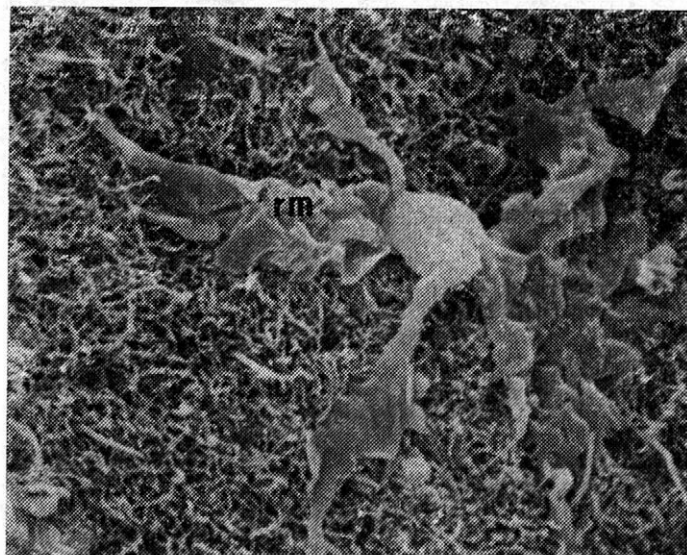


8. Skupina supraependýmových buniek podobných neurónom z rostrálnej časti infundibula hermafrodita (s — telá buniek, v — výbežky) — A group of supraependymal cells similar to neurons from the rostral part of the infundibulum of a hermaphrodite (s — cell bodies, v — processes)





9, 10. Supraependýmové bunky z kaudálnej časti infundibula hermafrodita (rm — „ruffled membrane“) — Supraependymal cells from the caudal part of the infundibulum of a hermaphrodite (rm — „ruffled membrane“)



lejšia ciliárna prikrývka. V kaudálnej časti infundibula sú prítomné hojné rôzne veľké blebs sférického tvaru (obr. 6B). Iné supraependýmové štruktúry sa nevyskytovali. V období pripúšťania (október, november) sa povrch infundibulárnej steny od predchádzajúcej skupiny kozlov líši tým, že sférické blebs sa vyskytujú v menšom počte a v blízkosti *recessus mamillaris* i v ňom sú roztrúsené ojedinelé supraependýmové bunky (obr. 7). Tvar ich tela je približne okrúhly až oválny, s hladkým alebo nepravidelným somatickým povrchom, kde tvoria rozšírené, zvlnené membrány (ruffled membranes, obr. 7A/rm).

Recessus infundibuli hermafrodita pokrývajú husté, vláknité mikrokľky a ojedinelé zväzky cilií. Prevažne nad *eminentia mediana* sa vyskytujú mechúrkovité až sférické blebs, kaudálne, v *recessus mamillaris*, sú zriedkavé. Na povrchu celého infundibula sú prítomné supraependýmové bunky v hojnom počte. V rostrálnej časti, v blízkosti *recessus suprachiasmaticus*, tieto bunky svojimi dlhými, tenkými a vetviacimi sa výbežkami (obr. 8v) vzájomne anastomózujú. Vonkajšou morfológiou i veľ-

kosťou veľmi pripomínajú bunky nervové. V strednej a kaudálnej časti infundibula sú výbežky supraependýmových buniek krátke, silné a tvoria charakteristicky rozšírené zvlnené „ruffled membranes“ (obr. 8, 10rm).

DISKUSIA

Keď porovnávame získané výsledky týkajúce sa povrchu endodýmovej výstelky dolnej časti tretej mozgovej komory samcov malých prežúvacov, môžeme konštatovať, že sú medzi nimi určité rozdiely, a to nielen v súvislosti s ročným obdobím (sezónou) v rámci jedného druhu, ale aj medzi baranmi a kozlami. U obidvoch druhov v „kludovom“ období pokrývajú stenu infundibula okrem mikrokľkov aj blebs. Ani u jedného z použitých baranov sa supraependýmové bunky nevyskytovali, ale u kozlov v čase pripúšťania tieto bunky prítomné boli; je to rozlišujúci znak medzi baranom a kozlom.

Keď vychádzame z predpokladu, že sférické protrúzie a blebs predstavujú apikálny sekrečný produkt endodýmových tanycytov (Schwartz, 1969; Hannah a Geber, 1972; Schechter a Weiner, 1972; Scott a i., 1973, 1975; Booz, 1975), môžeme konštatovať, že u samcov obidvoch malých prežúvacov vrcholí endodýmosekrécia v období mimo sezóny pripúšťania. Je zaujímavé, že temer rovnaký stav je u bahníc (Coates a Davis, 1977; Rajtová a Odehnal, 1987; Rajtová, 1988b), ale aj u kôz počas anestra („kludové obdobie“ — Rajtová, 1988c).

Vonkajšia morfológia supraependýmových buniek, ktoré sme našli u kozlov počas pripúšťania a u hermafrodita, je veľmi mnohotvárna. Zmieňujú sa o tom však aj iní autori (Clementi a Marini, 1972; Coates, 1973a, b; Jennes a i., 1977). U nižších vertebrát (amfíbia, reptília) tvoria výbežky supraependýmových buniek „ruffled membranes“. Bleier a i. (1975), Dierickx a de Waele (1975), Shioda a i. (1977) ich považujú za makrofágy. Supraependýmové bunky s podobne formovanými výbežkami sa vyskytujú nielen u malých, ale aj u ostatných cicavcov (Brawer a i., 1974; Mestres a Breipohl, 1976; Jennes a i., 1977) alebo u makaka (Coates, 1973a, b, 1975).

Na rozdiel od baranov sa u bahníc v období pripúšťania v infundibulárnom recese supraependýmové bunky vyskytujú (Rajtová a Odehnal, 1987; Rajtová, 1988b), Coatesová (1977) ich však u bahníc v rovnakom období ovariálneho cyklu neuvádza. U samíc kozy sú supraependýmové bunky v infundibule v každej fáze ovariálneho cyklu včítane gravidity, len s tým rozdielom, že počas anestra sú zriedkavé alebo môžu chýbať (Rajtová, 1988b).

Zdá sa, že mnohotvárnosť vonkajšej morfológie výbežkov supraependýmových buniek nepoukazuje na nič iné, ako na rôzne fázy pohybu (migrácie). Podobne aj Mestres a Breipohl (1976) považujú mnohotvárnosť „ruffled membranes“ za výsledok migračných fáz.

Funkcia supraependýmových buniek nie je zatiaľ známa a mnoho sa diskutuje aj o ich pôvode. Niektorí z autorov ich považujú za bunky nervové (Clementi a Marini, 1972; Jennes a i., 1977; Mitchell a Card, 1978; Kriebel, 1982), iní za gliovú zložku (Coates,

tes, 1973, 1975; Brawer a i., 1974; Mestres a Breipohl, 1976). Aj keď naše výsledky boli získané len na základe štúdia v REM, prikláňame sa skôr k ich gliovému pôvodu. Je ťažko si predstaviť, že by u dospelých jedincov nervové bunky migrovali a pohybom menili vonkajší tvar, hoci len svojich výbežkov.

Zvláštnu skupinu tvorili supraependymové bunky, ktoré sme našli u jedinca s *hermaphrodismus testicularis* a ktoré sa vyskytovali v rostrálnej časti jeho infundibula. Vonkajšou morfológiou sa veľmi podobajú na supraependymové bunky, ktoré u morčata uvádzajú i demonštrujú Mitchell a Card (1978). Títo autori ich klasifikovali ako bunky nervové, zatiaľ čo Coatesová (1973a, b, 1975) u makaka ich považovala len za neurónom podobné bunky a zadefinovala ich do prvého typu. Supraependymových buniek s „ruffled membranes“ u hermafrodita bolo podstatne viac ako u normálne vyvinutých kozlov v období pripúšťania, ich hustota i vzhľad však boli podobné tým nálezom, ktoré uvádzame u samíc kozy napr. počas proestru (Rajtová, 1988b, c). Z uvedeného by potom vyplývalo, že aj keď pohlavné orgány poukazovali skôr na neúplne vyvinutého samca bez stôp po pohlavných orgánoch samičích, stavba ependymového povrchu dolnej časti tretej mozgovej komory je typicky samičia. Je možné, že časť nadriadených žliaz s vnútornou sekréciou, alebo aspoň jedna polovica hypotalamických jadier podieľajúcich sa na riadení sexuálnych funkcií, boli u tohto jedinca orientované smerom k samici. Zodpovedalo tomu aj striedavé správanie sa — ako samec aj ako samica.

Literatúra

- BLEIER, R. — ALBRECHT, R. — CRUCE, J. A. F.: Supraependymal cells of hypothalamic third ventricle: identification as resistant phagocytes of the brain. *Science*, 189, 1975, s. 299-301.
- BOOZ, K. H.: Secretory phenomena at the ependyma of the III-rd ventricle of the embryonic rat. *Anat. Embryol.*, 147, 1975, s. 143-159.
- BRAWER, J. R. — LIN, P. S. — SONNENSCHIN, C.: Morphological plasticity in the wall of the third ventricle during the estrus cycle in the rat: A scanning electron microscopic study. *Anat. Rec.*, 179, 1974, s. 481-490.
- CLEMENTI, F. — MARINI, D.: The surface fine structure of the walls of cerebral ventricles and of choroid plexus in cat. *Z. Zellforsch.*, 123, 1972, s. 82-95.
- COATES, P. W.: Supraependymal cells and surface specializations on the floor of monkey third ventricle: Scanning electron microscope studies. *Anat. Rec.*, 175, 1973a, s. 294. (Abstr.)
- COATES, P. W.: Supraependymal cells in recesses of the monkey third ventricle. *Amer. J. Anat.*, 136, 1973b, s. 533-539.
- COATES, P. W.: Scanning electron microscopy of a second type of supraependymal cells in the monkey third ventricle. *Anat. Rec.*, 182, 1975, s. 275-288.
- COATES, P. W.: The third ventricle in monkeys: Scanning electron microscopy of surface features in mature males and females. *Cell Tissue Res.*, 177, 1977, s. 307-316.
- COATES, P. W. — DAVIS, S. L.: The sheep third ventricle: Scanning electron microscopy of estrus and estrogen — progesterone-treated anestrus ewes. *Biol. Reprod.*, 17, 1977, s. 567-573.
- DIERICKX, K. — WAELE de, G.: Scanning electron microscopy of the wall of the third ventricle of the brain of *Rana temporaria*. II. Electron microscopy of the ventricular surface of the *pars ventralis* of the *tuber cinereum*. *Cell. Tissue Res.*, 159, 1975, s. 81-90.
- HANNAH, H. S. — GEBER, W.: Specializations of the ependyma in the third ventricle of the developing hamster. *Amer. J. Anat.*, 135, 1972, s. 597-603.

- JENNES, L. — SIKORA, K. — SIMONSBERGER, P. — ADAM, H.: Ventriculäre Topographie des diencephalen Ependym bei *Rattus rattus* (L.) — eine rasterelektronenmikroskopische Untersuchung. *J. Hirnforsch.*, 18, 1977, s. 501-520.
- KOZŁOWSKI, G. P. — SCOTT, D. E. — DUDLEY, G. K.: Scanning electron microscopy of the third ventricle of sheep. *Z. Zellforsch.*, 136, 1973, s. 169-176.
- KRIEBEL, R. M.: Supraependymal cells in the third ventricle. *Anat. Anz.*, 151, 1982, s. 82-86.
- MESTRES, P. — BREIPOHL, W.: Morphology and distribution of supraependymal cells in the third ventricle of the albino rat. *Cell Tissue Res.*, 168, 1976, s. 303-314.
- MITCHEL, J. A. — CARD, J. P.: Supraependymal neurons overlying the periventricular region of the third ventricle of the guinea-pig: A correlative scanning-transmission electron microscopic study. *Anat. Rec.*, 192, 1978, s. 441-458.
- MURAKAMI, T. — YAMAMOTO, K. — ITOSHIMA, T.: Modified tannin-osmium conductive staining method for non coated SEM specimens and application to micro-secretion SEM of spleen. *Arch. histol. Jap.*, 40, 1977, s. 35-40.
- RAJTOVÁ, V.: Ependým mozgových komôr kozy v riadkovacom elektrónovom mikroskope. [Priebežná správa.] Košice 1988a, 69 s.
- RAJTOVÁ, V.: Ependym beim Schaf. 5. Teil: Ependymauskleidung der Gehirnkammer im Rasterelektronenmikroskop. *J. Hirnforsch.*, 29, 1988b, s. 221-235.
- RAJTOVÁ, V.: Ependyma in the goat: A scanning electron microscopy study. *J. Hirnforsch.*, 1988c (in press).
- RAJTOVÁ, V. — ODEHNAL, E.: The ependyma lining the infundibular recess in the sheep: A scanning electron microscopy study. *Folia morphol. (Praha)*, XXXV, 1987, s. 361-365.
- SCOTT, D. E. — KOZŁOWSKI, G. P. — KROBISCH-DUDLEY, G.: A comparative ultrastructural analysis of the third cerebral ventricle of the north american mink (*Mustela vison*). *Anat. Rec.*, 175, 1973, s. 155-168.
- SCOTT, D. E. — KROBISCH-DUDLEY, G. — PAULL, W. K. — KOZŁOWSKI, G. P. — RIBAS, J.: The primate median eminence. I. Correlative scanning-transmission electron microscopy. *Cell Tissue Res.*, 162, 1975, s. 61-73.
- SHIODA, S. — HONMA, Y. — YOSHIE, S. — HOSOYA, Y.: Scanning electron microscopy of the third ventricular wall in the lamprey, *Lampetra japonica*. *Arch. histol. Jap.*, 40, 1977, s. 41-49.
- SCHECHTER, J. — WEINER, R.: Ultrastructural changes in the ependymal lining of the median eminence following the intraventricular administration of catecholamine. *Anat. Rec.*, 172, 1972, s. 643-650.
- SCHWANITZ, W.: Die topographische Verteilung supraependymaler Strukturen in den Ventrikeln und im Zentralkanal des Kaninchengehirns. *Z. Zellforsch.*, 100, 1969, s. 536-561.

Došlo dňa 29. 4. 1988

РАЙТОВА, В. — ОДЕГНАЛ, Ф. (Ветеринарный институт, Кошице; Научно-исследовательский институт строительных материалов, Брно): Выстилающая оболочка воронкообразной впадины самцов и гермафродитизм мелких жвачных животных в растрирующем электронном микроскопе. *Veter. Med. (Praha)*, 34, 1989 (2) : 79-88.

В растрирующем электронном микроскопе изучали поверхность выстилающей оболочки нижней части третьей мозговой камеры у баранов, козлов и у одной козы с аномалией развития половых органов — тестикулярным гермафродитизмом. Установили, что апикальные мембраны выстилающих таноцитов у баранов и козлов в период случки накладывают многочисленные сферические мешочкообразные формирования (выделения выстилающей оболочки). Только у козлов в сезоне случки (однако не у баранов) на поверхности воронкообразной впадины находятся единичные выстилающие клетки, выпячивания которых создают „ruffled membranes“. Хотя и у гермафродита результат обследования показывал на половых странах в большей мере самца, присутствие большого количества выстилающих клеток напоминает самку козы. Результаты показывают, что и у самцов мелких жвачных животных функция половых органов связана с функцией выстилающей оболочки воронкообразной впадины.

нервно-мозговая система; эпендима; мелкие жвачные животные; самцы; гермафродит

RAJTOVÁ, V. — ODEHNAL, F. (University of Veterinary Medicine, Košice; Research Institute of Building Materials, Brno): *Ependymal Epithelium of the Infundibular Recession of the Males and a Hermaphrodite of Small Ruminants under Scanning Electron Microscope*. Veter. Med. (Praha), 34, 1989 (2) : 79-88.

A scanning electron microscope was used to study the surface of the ependymal epithelium of the lower part of the third cerebral ventricle of rams, he-goats, and in one goat with a developmental sexual disorder (testicular hermaphroditism). During mating, the apical membranes of the ependymal tanocytes of the rams and billy goats were found to be covered by numerous blebs (ependymosecretion). It was only in the billy goats in the mating season (not in the rams) that individual supraependymal cells with protrusions forming "ruffled membranes" were present on the surface of the infundibular recession. Although the finding on the sexual organs of the hermaphrodite was closer to the male, the presence of the large number of supraependymal cells was rather a female trait. As suggested by the results, it is also in the males of small ruminants that the activity of the sexual organs is associated with the structure and function of the ependymal epithelium in the infundibular recess.

cerebroneural system; ependyma; small ruminants; males; hermaphrodite

RAJTOVÁ, V. — ODEHNAL, F. (Veterinärmedizinische Hochschule, Košice; Forschungsinstitut für Baumaterialien, Brno): *Ependymepithel des Infundibularrecessus männlicher Individuen und Hermaphroditismus kleiner Wiederkäuer im Elektronenrastermikroskop*. Veter. Med. (Praha), 34, 1989 (2) : 79-88.

Im Elektronenrastermikroskop untersuchten wir die Oberfläche des Ependymepithels der unteren Region der dritten Hirnkammer bei Schafböcken, Ziegenböcken und einer Ziege mit einer Entwicklungsstörung der Geschlechtsorgane — *hermaphroditismus testicularis*. Wir stellten fest, daß die Apikalmembranen der Ependymtanocyten bei den Schaf- und Ziegenböcken im Zeitraum der Deckperiode zahlreiche „Blebs“ (Ependymsekretionen) bedecken. Nur bei den Ziegenböcken während der Decksaison (nicht aber bei Schafböcken) sind auf der Oberfläche des *recessus infundibuli* vereinzelte Supraependymzellen vorhanden, deren Ausläufer sog. „ruffled membranes“ bilden. Obwohl bei dem Hermaphroditen der Befund an den Geschlechtsorganen auf ein männliches Individuum hindeutete, erinnert das Vorhandensein einer hohen Zahl von Supraependymzellen an eine weibliche Ziege. Unsere Ergebnisse weisen darauf hin, daß auch bei männlichen kleinen Wiederkäuern die Tätigkeit der Geschlechtsorgane mit der Struktur und Funktion des Ependymepithels des Infundibularrecessus zusammenhängt.

Zerebroneuralsystem; Ependym; kleine Wiederkäuer; Männchen; Hermaphrodit

Adresy autorov:

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

František Odehnal, Výzkumný ústav stavebních hmot, 600 00 Brno

RUSITEC – FERMENTAČNÉ ZARIADENIE PRE ŠTÚDIUM TRÁVIACICH PROCESOV U PREŽÚVAVCOV

M. Kriváňová, I. Zelenák

KRIVÁŇOVÁ, M. — ZELENÁK, I. (Ústav fyziológie hospodárskych zvierat SAV, Košice): *RUSITEC — fermentačné zariadenie pre štúdium tráviacich procesov u prežúvavcov*. Veter. Med. (Praha), 34, 1988 (2) : 89-95.

Fermentačné zariadenie RUSITEC (Rumen Simulation Technique) je zjednodušený model bachora, ktorý simuluje podmienky v bachore, umožňuje dlhodobe udržiavať normálnu bachorovú mikrobiálnu populáciu za prísne kontrolovateľných podmienok s možnosťou stáleho sledovania fermentačných procesov. Sledovali sme možnosti využitia tohto modelu „umelého bachora“ na stanovenie výživnej hodnoty upravených (hydrobarotermicky pri tlaku 1,4 MPa a impregnovaných 10% H₂SO₄) a neupravených bukových pilín. Stráviteľnosť sušiny a jednotlivých zložiek vlákniны skrmovaných upravených pilín bola vyššia ako v neupravených. Vyprodukované množstvá kyseliny octovej, propiónovej a maslovej, podobne ako aj celkových UMK, boli v oboch reakčných nádobách počas fermentácie upravených bukových pilín vyššie ako pri diéte s neupravenými pilinami. Zvýšená produkcia UMK, hlavne kyseliny octovej a maslovej, sa úmerne odrazila na vyššej produkcii plynov, hlavne oxidu uhličitého a metánu, v porovnaní s produkciou plynov pri diéte s neupravenými pilinami. V porovnaní s inými metódami *in vitro* tento model fermentačného zariadenia charakterizujú komplexnejšie výživné hodnoty jednotlivých druhov krmiva a posúva simulačnú techniku k reálnemu systému o značný krok vpred.

in vitro fermentačné procesy v bachore; fermentačné zariadenie RUSITEC; upravené a neupravené bukové piliny; stráviteľnosť sušiny a vlákniны; UMK; bachorové plyny

Sledovanie tráviacich procesov v bachore *in vivo* je veľmi obtiažne. Bachor v tele prežúvavcov je heterogénny systém slúžiaci ako veľká „fermentačná nádoba“, v ktorej sa potrava rozkladá bachorovou mikroflórou na produkty fermentácie a tie sú ďalej využívané samotným organizmom.

Detailné štúdium bachorového ekosystému je nemožné, pokiaľ je ponechaný sám na seba, aby si menil svoje podmienky. Pokusy meniť podmienky v bachore *in vivo* neboli však doteraz veľmi úspešné, preto vznikla potreba zostrojiť zjednodušený model, ktorý by simuloval podmienky v bachore a súčasne umožňoval stálu kontrolu. V priebehu rokov bolo popísaných a navrhnutých veľa typov „umelého bachora“. Autori vychádzali postupne z najjednoduchších techník, pri ktorých bola inkubovaná malá vzorka bachorového obsahu v skúmavkách, až po komplexný typ, ktorý simuluje pohyb bachora a diferenciálny príjem rôzneho krmiva. Vývoj *in vitro* techník a požiadavky na prácu s „umelým

bachorom“ popisujú vo svojich prácach Johnson (1966), Czerkawski (1976, 1984).

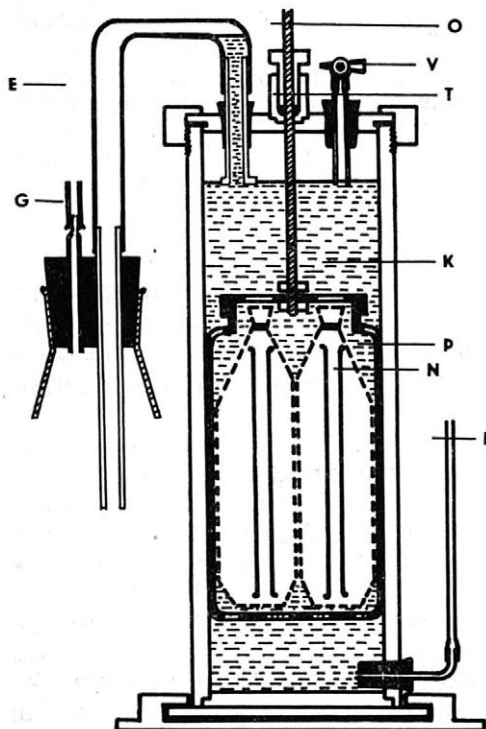
Jedným z vhodných modelov je RUSITEC — RUMEN SIMULATION TECHNIQUE, ktorý navrhli Czerkawski a Breckenridge (1977). Umožňuje dlhodobe udržiavať normálnu bachorovú populáciu za prísne kontrolovateľných podmienok, presne sledovať všetky „vstupy“ a „výstupy“ vrátane plynov, s možnosťou stáleho pozorovania priebehu fermentácie.

Na našom pracovisku sme podľa popisu autorov zostrojili model „umelého bachora“ a sledovali sme možnosti jeho využitia na stanovenie výživnej hodnoty upravených a neupravených bukových pilín.

MATERIÁL A METÓDY

FERMENTAČNÉ ZARIADENIE A JEHO FUNKCIA

Fermentačné zariadenie RUSITEC pozostáva zo štyroch reakčných nádob — jednotiek o objeme 900 ml. Reakčná nádoba (obr. 1) bola vyrobená z plexiskla a opatrená vrchnákom s otvormi kvôli ľahkej manipulácii. Pevnú potravu sme uložili do nylonových vrecúšok, ktoré sme umiestnili v perforovaných polyetylénových nádobkách. Tie sa pohybujú vo vnútri reakčnej nádoby v amplitúde 50 až 60 mm pri ôsmich cykloch za minútu. Umelú slinu — Mc Dougall pufer (Mc Dougall, 1948) — sme podávali kontinuálne otvorom na dne reakčnej nádoby; prebytočná kvapalina (effluent) a fermentačné plyny sa vytlačali cez „výtokovú hadicu“ malým pozitívnym tlakom v plynovom priestore. Pokus sme začali naplnením prvého vrecúška 100 g tuhého bachorového obsahu a druhého vrecúška príslušným množstvom krmiva. Reakčnú nádobu sme naplnili zriedenou bachorovou šťavou (300 ml bachorovej šťavy precedenej cez gázu: 200 ml umelej sliny : 100 ml desti-



1. Náčrt typickej jednotky fermentačného zariadenia RUSITEC (RUMEN SIMULATION TECHNIQUE) podľa autorov Czerkawski a Breckenridge (1977) (K — kvapalná reakčná zmes, N — nylonové vrecúško s pevnou potravou, T — tesniaca matica, O — pohyblivá os, V — ventil na odber vzoriek, P — pohybujúca sa perforovaná nádoba, I — infúzia umelej sliny, E — výstup effluentu, G — výstup pre odber plynov) — Diagram of a typical unit of the fermentation equipment RUSITEC (Rumen Simulation Technique) according to Czerkawski and Breckenridge (1977) (K — liquid reaction mixture, N — nylon pouch with solid food, T — packing nut, O — moving axis, V — valve for sampling, P — infusion of artificial saliva, E — effluent outlet, G — outlet for the collection of gases)

lovanej vody). Po 24 hodinách sme vrecúško s tuhým bachorovým obsahom vymenili za nové s krmivom. Postupne sme každý deň menili staršie vrecúško s krmivom za nové, takže potrava bola v reakčnej nádobe dva dni.

Vybraté vrecúško so zvyškami krmiva sme premyli 2 X 40 ml umelej sliny, ktorú sme po premytí vliali naspäť do reakčnej nádoby a premyté pevné zvyškové krmivo sme vysušili, zvážili a ďalej analyzovali. Produkcia konečných produktov fermentácie (CH_4 , CO_2 , UMK atď.) sa za štyri až päť dní ustálila a počas ďalšieho trvania pokusu sa udržiaval konštantný stav. V našej práci sme použili dve reakčné nádoby. Každá z nich obsahovala základnú diétu zloženú zo sena (11,8 g sušiny na deň) a bukových pilín (2,8 g sušiny na deň). Diéta bola obohatená močovinou (200 mg na deň), ktorú sme podávali spolu s infúziou umelej sliny.

Pokus sa začal kontrolnou periódou (1.—8. deň), pri ktorej sa seno a neupravené piliny umiestnili oddelene v nylonových vrecúškach v reakčných nádobách, a pokračoval pokusnou periódou (9.—14. deň), pri ktorej neupravené piliny boli nahradené upravenými (1 % H_2SO_4 a defibrovanými pri tlaku 1,4 MPa). Ako inokulum sme použili bachorovú tekutinu (300 ml) a tuhý bachorový obsah (100 g), ktoré sme získali od dvoch fistulovaných dospelých baranov kŕmených lúčnym senom s doplnkom minerálií.

V oboch častiach pokusu sme stanovovali stráviteľnosť testovaných materiálov, kyslú detergentnú vlákninu (ADF) a neutrálnu detergentnú vlákninu (NDF), celulózu a hemicelulózu (Van Soest, 1963; Van Soest a Wine, 1967). Unikavé mastné kyseliny boli stanovené metódou plynovej chromatografie (Cottyn a Bocque, 1968). Produkciu bachorových plynov sme merali plynomerom typu G-01 a plyny boli analyzované chromatograficky podľa Czerkawského a Clappertona (1968).

Väčšina stanovení sa robila v šiestom až ôsmom, resp. v desiatom až štrnástom dni. V každej časti okrem priemeru denných analýz boli na analýzy použité aj súhrnné vzorky z jednotlivých častí.

VÝSLEDKY A DISKUSIA

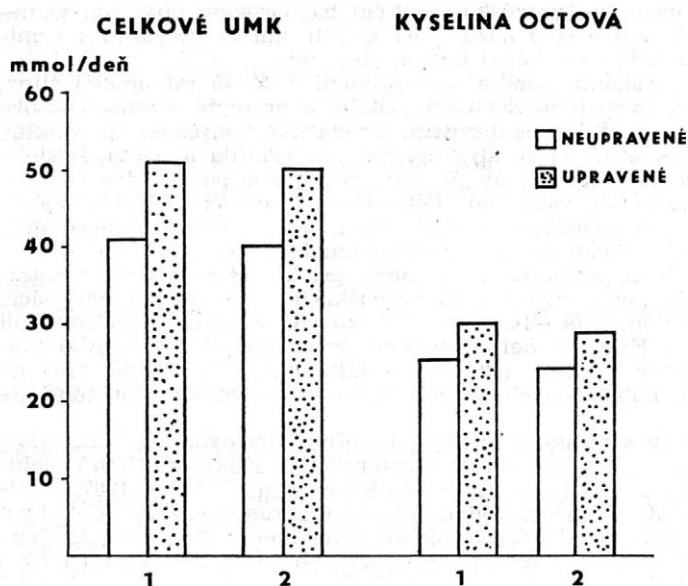
Stráviteľnosť sušiny a jednotlivých zložiek vlákniny skrmovaných pilín bola vyššia ako pilín neupravených (tab. I). Stráviteľnosť sušiny, NDF a celulózy sa úpravou pilín zvýšila a dosiahla hodnoty stráviteľnosti sena. Stráviteľnosť ADF a upravených bukových pilín dokonca prevýšila hodnoty ADF u sena v oboch prípadoch. Stráviteľnosť hemicelulózy u upravených bukových pilín nebola stanovená.

Výsledkom lepšej stráviteľnosti upravených pilín je aj zvýšená produkcia celkových UMK (obr. 2). Vyprodukované množstvá kyseliny octo-

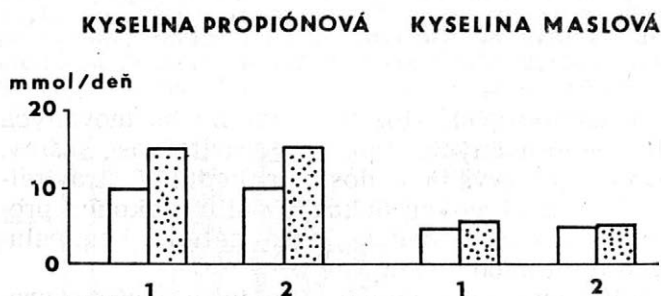
I. Priemerná stráviteľnosť sušiny a jednotlivých zložiek vlákniny u sena a bukových pilín neupravených a upravených [v prvej (1) a druhej (2) reakčnej nádobe] — Average digestibility of dry matter and the components of the fibre of hay and of untreated and treated beech sawdust [in the first (1) and second (2) reaction vessels]

	Seno		Bukové piliny neupravené		Bukové piliny upravené*)	
	1	2	1	2	1	2
Sušina	53,3	53,7	8,2	8,2	53,6	50,0
NDF	44,3	44,4	9,5	8,8	45,6	4,60
ADF	39,5	38,5	4,7	6,6	56,1	53,4
Celulóza	46,7	43,9	12,6	11,0	47,7	46,2

*) 1 % H_2SO_4 + defibrácia



2. Priemerné hodnoty produkcie celkových UMK, kyseliny octovej, kyseliny propiónovej a kyseliny maslovej v prvej (1) a druhej (2) fermentačnej nádobe — Average values of the production of total VFA, acetic acid, propionic acid, and butyric acid in the first (1) and second (2) fermentation vessels

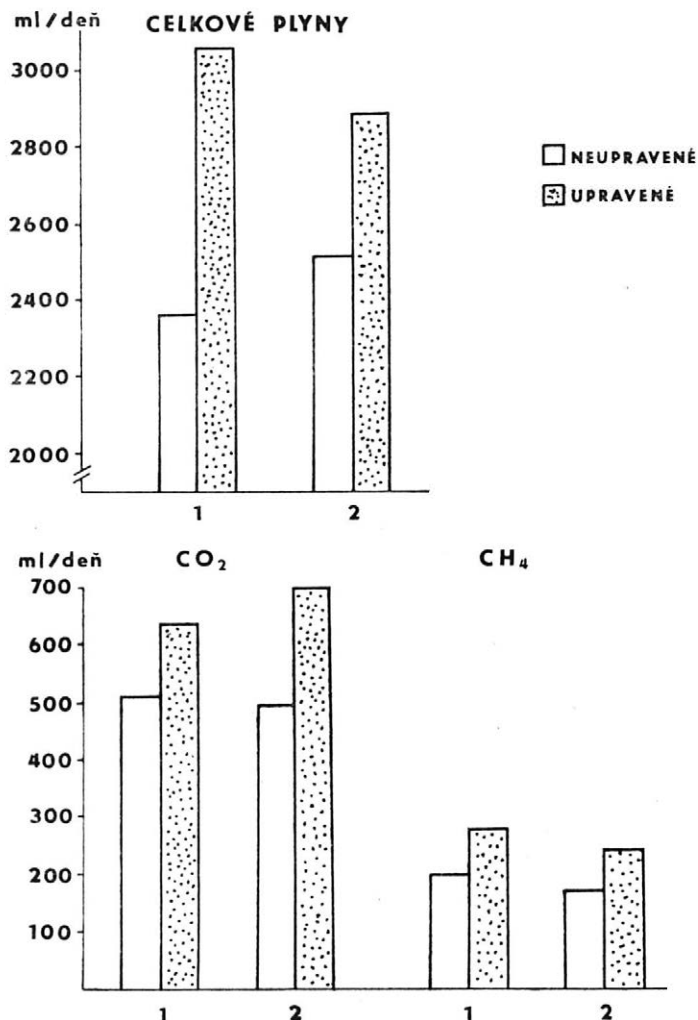


vej, propiónovej a maslovej (obr. 2), podobne ako celkové UMK boli v oboch reakčných nádobách počas fermentácie upravených bukových pilín vyššie ako pri diéte s neupravenými pilinami. Toto nasvedčuje na lepšie využitie cukrov z upravených pilín.

Zvýšená produkcia UMK, hlavne kyseliny octovej a maslovej, sa úmerne odrazila na zvýšenej tvorbe plynov, najmä oxidu uhličitého a metánu (obr. 3), v porovnaní s tvorbou plynov pri fermentácii neupravených pilín. Dalo by sa namietat, že RUSITEC je „bachor“ bez bachorovej steny, teda bez normálnej vrstvy epiteliálnych buniek, že nie je zabezpečený prechod rozpustných zložiek potravy cez bachorovú stenu. Hodnoty konečných produktov fermentácie (UMK, CO_2 , CH_4) zo zariadenia RUSITEC neboli odlišné od výsledných hodnôt pri pokusoch na ovciach pri použití rovnakej diéty (C z e r k a w s k i, 1976).

Pri štúdiu fermentačných procesov u prežúvavcov bolo navrhnutých a použitých mnoho modelov „umelého bachora“. Niektoré sú jednoduché a dávajú len základné informácie, iné sú príliš komplikované. RUSITEC patrí ku komplikovanejším typom, jeho obsluha však nie je zložitá. Umožňuje priebežne sledovať a vyhodnocovať krátkodobé i dlhodobé fermen-

3. Priemerné hodnoty celkovej produkcie plynov, kyslíčnika uhličitého a metánu v prvej (1) a druhej (2) fermentačnej nádobe — Average values of the production of all gases, carbon dioxide and methane in the first (1) and second (2) fermentation vessels



tácie v reakčných nádobách. Široké sú jeho možnosti pri štúdiu mikrobiálnej degradácie pevných fibróznych substrátov. V porovnaní s inými metódami *in vitro* simuluje tráviace procesy pomerne presne. Pokusy „zlepšiť“ výživu prežúvavcov musia byť založené na čo najdokonalejšom poznaní mechanizmu trávenia vlákniny a k tomu môže pomôcť aj tento pracovný model bachora.

Literatúra

- COTTYN, B. G. — BOUCQUE, C. V.: Rapid method for the gas chromatographic determination of volatile fatty acids in rumen fluid. *J. agric. Fd Chem.*, 16, 1968, s. 105-107.
- CZERKAWSKI, J. W.: The artificial rumen. *Lab. Pract.*, 1976, s. 15-20.
- CZERKAWSKI, J. W.: Microbial fermentation in the rumen. *Proc. Nutr. Soc.*, 43, 1984, s. 101-118.
- CZERKAWSKI, J. W. — BRECKENRIDGE, G.: Design and development of a long-term simulation technique (RUSITEC). *Brit. J. Nutr.*, 38, 1977, s. 371-384.

CZERKAWSKI, J. W. — CLAPPERTON, J. L.: Analysis of gases produced by metabolism of microorganisms. Lab. Pract., 1968, s. 994-996.
 JOHNSON, R. R.: Techniques and procedures for *in vitro* and *in vivo* studies. J. anim. Sci., 25, 1966, s. 855-875.
 Mc DOUGALL, E. I.: Studies on ruminant saliva. I. The composition and output of sheep saliva. Biochem. J., 43, 1948, s. 99-109.
 SOEST VAN, P. J.: Use of detergents in the analysis of fibrous feeds. II. A rapid method for the determination of fibre and lignin. J. Assoc. off. agric. Chem., 46, 1963, s. 829-835.
 SOEST VAN, P. J. — WINE, R. M.: Use of detergents in the analysis of fibrous feeds. IV. Determination of plant cell-wall constituents. J. Assoc. off. agric. Chem., 50, 1967, s. 50-55.

Došlo dňa 31. 3. 1988

КРИВАНОВА, М. — ЗЕЛЕНЯК, И. (Институт физиологии домашних животных САН, Кошице): *RUSITEC — ферментационное устройство для изучения процессов пищеварения у жвачных животных*. Veter. Med. (Praha), 34, 1989 (2) : 89-95.

Ферментационное устройство *RUSITEC* (Rumen Simulation Technique) — это упрощенная модель рубца, которая симулирует условия в рубце, позволяет длительно поддерживать нормальную рубцовую микробную популяцию при точно контролируемых условиях с возможностью постоянного изучения процессов ферментации. Изучали возможности использования данной модели «искусственного рубца» на определении питательной ценности обработанных (гидробаротермически при давлении 1,4 мПа и импрегнированных 1% H_2SO_4) и необработанных буковых опилок. Переваримость сухого вещества и отдельных составляющих клетчатки скормливаемых обработанных опилок была большая, чем у необработанных. Синтезированные количества уксусной кислоты, пропионовой и масляной кислот, как и общих УЖК были в обоих реакционных банках во время ферментации обработанных буковых опилок большие, чем при диете с необработанными опилками. Повышенная продукция УЖК, в основном уксусной кислоты и масляной кислоты пропорционально отразилась на большей продукции газов, в основном CO_2 и метана, в сравнении с продукцией газов при диете с необработанными опилками. В сравнении с другими методами *in vitro* данная модель ферментационного устройства характеризуют комплексные питательные ценности отдельных видов корма и продвигает симуляционную технику в сторону реальной системы на большой шаг вперед.

in vitro ферментационные процессы в рубце; ферментационное устройство *RUSITEC*; обработанные и необработанные буковые опилки; переваримость сухого вещества и клетчатки; УЖК; рубцовые газы

KRIVÁŇOVÁ, M. — ZELENÁK, I. (Institute of Animal Physiology of the Slovak Academy of Sciences, Košice): *RUSITEC — Fermentation Equipment for the Study of Digestion Processes in Ruminants*. Veter. Med. (Praha), 34, 1989 (2) : 89-95.

The fermentation equipment *RUSITEC* (Rumen Simulation Technique) is a simplified model of the rumen which simulates the conditions inside the rumen, enables to keep the normal microbial population of the rumen for a long time under strictly controllable conditions, and enables a permanent monitoring of fermentation processes. Trials were conducted to see whether this model of "artificial rumen" can be used to determine the nutritive value of untreated beech sawdust and beech sawdust treated hydrobarothermically at the pressure of 1.4 MPa and impregnated with 1% H_2SO_4 . The digestibility of the dry matter and fibre components was higher in the treated beech sawdust than in the untreated sawdust. In both reaction vessels, the amounts of acetic, propionic and butyric acids as well as the total VFA, were higher during the fermentation of treated beech sawdust, as compared with the diet with raw beech sawdust. The increased output of VFA, especially the acetic and butyric acids, resulted in a proportional increase in the output of gases, especially carbon dioxide and methane, as compared with the production of gases in rumens digesting untreated beech sawdust. In comparison with other *in-vitro* methods, this model of fermentation equipment characterizes the

nutritive values of various kinds of feed in a more thorough way: using this equipment, the simulation technique has proceeded much closer to reality.

in-vitro fermentation processes in rumen; fermentation equipment RUSITEC; treated and untreated beech sawdust; dry matter and fibre digestibility; VFA; rumen gases

KRIVÁŇOVÁ, M. — ZELENÁK, I. (Institut für Physiologie landwirtschaftlicher Nutztiere der Slowakischen Akademie der Wissenschaften, Košice): *RUSITEC — Fermentationsanlage zum Studium der Verdauungsprozesse bei Wiederkäuern*. Veter. Med. (Praha), 34, 1989 (2) : 89-95.

Die Fermentationsanlage RUSITEC (Rumen Simulation Technique) ist ein vereinfachtes Modell des Pansens, das die Bedingungen im Pansen simuliert und eine langfristige Erhaltung der normalen Pansenmikroflora unter streng überwachbaren Bedingungen mit Möglichkeit einer kontinuierlichen Verfolgung der Fermentationsprozesse hervorruft. Wir prüften die Einsatzmöglichkeiten dieses Modells eines „künstlichen Pansens“ zur Bestimmung des Nährwerts von behandelten (d. h. hydrobarothermisch bei Druck 1,4 MPa aufbereiteten und mit 1 %iger H_2SO_4 impregnierten) sowie unbehandelten Buchensägespänen. Die Verdaulichkeit der Trockensubstanz und der einzelnen Faserstoffkomponenten der zu verfütternden aufbereiteten Sägespäne war höher als die der unaufbereiteten. Die produzierte Menge der Essig-, Propion- und Buttersäure, analog den flüchtigen Gesamtfettsäuren, war in beiden Reaktionsgefäßen im Verlauf der Fermentation der aufbereiteten Sägespäne höher als bei der Diät mit den nichtaufbereiteten Sägespänen. Die erhöhte Produktion der flüchtigen Fettsäuren, insbesondere der Essig- und Buttersäure, findet ihre Reflexion, verglichen mit der Gasproduktion bei der Diät mit den nichtaufbereiteten Sägespänen, in einer proportional höheren Gasproduktion, vor allem des Kohlendioxids und Methans. Im Vergleich mit anderen Methoden *in vitro* ist dieses Modell einer Fermentationsanlage durch komplexere Nährwerte der einzelnen Futterarten charakterisiert und es rückt die Simulationstechnik um einen beträchtlichen Schritt zu einem realen System weiter vorwärts.

in vitro Fermentationsprozesse im Pansen; Fermentationsanlage RUSITEC; aufbereitete und nichtaufbereitete Buchensägespäne; Trockensubstanz- und Faserstoffverdaulichkeit; flüchtige Fettsäuren; Pansengase

Adresa autorov:

RNDr. Mária Kriváňová, MVDr. Imrich Zelenák, CSc., Ústav fyziológie hospodárskych zvierat SAV, Dukelských hrdinov 1/B, 040 01 Košice

VZNIK IMUNITY PO VAKCINACI SKOTU PROTI TRICHOFTÓZE

A. Rybníkář, J. Chumela, V. Vrzal

RYBNÍKÁŘ, A. — CHUMELA, J. — VRZAL, V. (Bioveta, n. p., Ivanovice na Hané): *Vznik imunity po vakcinaci skotu proti trichofytóze*. Veter. Med. (Praha), 34, 1989 (2) : 97-100.

V pokusech s 262 telaty jeden měsíc starými bylo zjištěno, že solidní imunita proti trichofytóze vznikla v období 21 až 28 dnů po aplikaci československé živé vakcíny proti trichofytóze skotu. Po epikutánní inokulaci silně virulentní kultury *Trichophyton verrucosum*, uskutečněné za 28 a 35 dnů po revakcinaci, nebyl vznik klinické formy onemocnění trichofytózou u telat zjištěn. Stejně dávky čelenžního inokula vyvolaly u všech kontrolních nevakinovaných telat rozsáhlé hluboké trichofytické změny. Ve skupinách telat uměle infikovaných v den revakcinace a po sedmi dnech od revakcinace onemocnělo 88,2 % a 44,4 % pokusných kusů; průběh onemocnění většinou nebyl tak závažný jako u kontrol. Telata čelenžovaná v období 11 až 21 dnů po druhé aplikaci vakcíny byla již k experimentální infekci převážně odolná, k nevýrazným změnám došlo u 15,4 až 7,0 % testovaných zvířat.

trichofytóza skotu; imunizace; experimentální infekce

Více než desetileté praktické zkušenosti se specifickou imunoprolaxí trichofytózy skotu v ČSSR ukázaly, že vakcinace představuje nejefektivnější způsob boje s touto nákazou (Šišák, 1981; Polák, 1984; Komárek, 1985). Vysoká protekční účinnost československé vakcíny proti trichofytóze skotu byla potvrzena i v četných laboratorních pokusech. Z výsledků naší předchozí práce (Rybníkář aj., 1986) je zřejmé, že předpokladem vytvoření solidní imunity u telat je jejich imunizace živými protitrichofytickými vakcínami. Doba nástupu imunity po vakcinaci naší vakcínou proti trichofytóze skotu dosud nebyla podrobněji sledována. Uvedenou problematikou se zabýváme v předložené práci.

MATERIÁL A METODA

206 telat plemena české strakaté v jednom měsíci věku bylo vakcinováno 2,5 cm³ vakcíny proti trichofytóze skotu i. m. do pánevní svaloviny. Revakcinace byla provedena stejným způsobem po deseti dnech do opačné poloviny těla. K vakcinaci i revakcinaci byla použita komerční živá vakcína proti trichofytóze skotu lyofilizovaná, připravená z kmene *Trichophyton verrucosum* CCM F-650, nebo vakcína proti trichofytóze skotu avirulentní z kmene TV-M-310 (*T. verrucosum*) — výrobce Bioveta, n. p., Ivanovice na Hané.

U 17 vakcinovaných telat byla v den revakcinace a u dalších skupin po 7, 11, 14, 21, 28 a 35 dnech od revakcinace uskutečněna epikutánní inokulace (čelenž) virulentní kultury *T. verrucosum*. Vodní suspenze čelenžní kultury byla aplikována v množství 8 až 10 miliónů životaschopných mikrokoniidií na pokusné zvíře, na plochu asi 10 × 10 cm ostříhané, jemně skarifikované pokožky pravého boku telat. Podobně bylo infikováno 56 neočkovaných kontrolních telat stejného věku.

Pokusná telata byla v pravidelných intervalech prohlížena, sledovali jsme klinické kožní změny v místě inokulace čelenžní kultury. Pokus byl ukončen 35 dnů po čelenži léčebnou vakcinací telat s výskytem trichofytických lézí.

VÝSLEDKY

Z tab. I je zřejmé, že po čelenži telat v den revakcinace onemocněla většina imunizovaných zvířat. Převážně šlo o středně těžkou až těžkou formu trichofytózy. Čelenž telat virulentní kulturou *T. verrucosum* po sedmi dnech od revakcinace vyvolala onemocnění asi u poloviny pokusných zvířat již s mírnějším průběhem. Mírná forma onemocnění s vytvořením jednotlivých trichofytických krust byla zjištěna u dvou z třinácti telat čelenžovaných po 11 dnech od revakcinace. Ve skupinách s čelenží po 14 a 21 dnech od imunizace onemocnělo trichofytózou s mírným průběhem 9,5 %, resp. 7,0 % telat. Po inokulaci čelenžní kultury v intervalech 28 a 35 dnů od revakcinace nebyl klinický výskyt trichofytózy u vakcinovaných telat zjištěn. Pouze u několika kusů se v místě aplikace čelenžní kultury objevily amykotické kožní změny, které po několika dnech samovolně zmizely.

Všechna kontrolní nevakcinovaná telata onemocněla po aplikaci stejných čelenžních dávek klinickou formou trichofytózy se středně těžkým a těžkým průběhem. V infikované pokožce se po 12 až 14 dnech od čelenže objevily typické trichofytické změny, které v dalším průběhu splývaly v souvislé krusty, vysoko prominující nad povrch pokožky. Krusty pevně ulpívaly na pokožce, byly velmi bolestivé a v místě trhlín jsme pozorovali krvavou spodinu. V době ukončení pokusu (35 dnů po čelenži) nebyla u kontrol pozorována tendence k hojení trichofytických krust.

DISKUSE

Otázkami vzniku imunity po vakcinaci skotu sovětskou vakcínou LTF-130 se zabývali Sarkisov aj. (1972). Uvádějí, že aktivní tvorba imunity proti trichofytóze začala za dva týdny a byla završena k 21. až 30. dni po druhé aplikaci vakcíny. Za nejpresnější metodu zjišťování účinnosti protitrichofytických vakcín považují autoři experimentální nákazu zvířat.

I. Sledování doby vzniku imunity po vakcinaci skotu proti trichofytóze — The times of the rise of immunity after the vaccination of cattle against trichophytosis

Počet dnů mezi revakcinací a čelenží	Počet telat		Rozsah onemocnění, počet telat			Procento nemocných telat
	pokusných (čelenžovaných)	klinicky nemocných po čelenži	mírná forma	středně těžká forma	těžká forma	
0	17	15	2	10	3	88,2
7	9	4	1	2	1	44,4
11	13	2	2	0	0	15,4
14	21	2	2	0	0	9,5
21	100	7	7	0	0	7,0
28	28	0	0	0	0	0,0
35	18	0	0	0	0	0,0
Nevakcinované kontroly	56	56	0	6	50	100,0

Tato metoda byla použita i v našem pokusu. Pokusná telata byla imunizována československými komerčními biopreparáty: vakcínou proti trichofytóze skotu lyofilizovanou nebo vakcínou proti trichofytóze skotu avirulentní. Velikost čelenžních dávek virulentního kmene *T. verrucosum* a početní zastoupení telat v pokusných skupinách jsme zvolili na základě předpokusů. Z našich výsledků je zřejmé, že k nástupu imunity došlo od 11. dne po revakcinaci, kdy 85 % telat bylo rezistentních k experimentální nákaze trichofytózou. Spolehlivá imunita byla zjištěna po 28 dnech od imunizace, v tomto období bylo dosaženo 100% chráněnosti telat proti trichofytóze. Všechna kontrolní nevakcinovaná telata stejného věku po inokulaci shodných čelenžních dávek onemocněla trichofytózou. Výrazné klinické kožní změny u kontrolních telat poukazovaly jednak na vysokou virulenci čelenžního kmene a enormní množství vegetativních forem v čelenžních dávkách, jednak na vysokou protekční účinnost obou vakcín použitých k vakcinaci telat. Z uvedených údajů je dále zřejmé, že solidní imunita se v našem pokusu vytvořila v období 21 až 28 dnů po revakcinaci. Doba nástupu i vytvoření imunity po vakcinaci československou vakcínou byla tedy stejná jako u sovětské vakcíny LTF-130 (Sarkisov aj., 1972; Žarkov, 1976).

Z literatury je známé, že po intramuskulárním zavedení živé kultury *Trichophyton verrucosum* mohou houbové elementy přežívat v místě inokulace několik dnů (Wawrzkievicz aj., 1982). Kultura naší komerční živé vakcíny proti trichofytóze skotu byla izolována v životaschopném stavu z inokulované svalové tkáně po deseti dnech od aplikace (Hejtmánek aj., 1986). Experimentální průkaz přímé souvislosti mezi vytvořením imunity proti trichofytóze po vakcinaci a časovým intervalem přežívání inokulovaného vakcinačního kmene ve svalovině očkováných zvířat by usnadnil výběr vhodných kmenů při vývoji antimykotických vakcín, nebyl však dosud podán.

Výsledky našich pokusů se zjišťováním doby vzniku imunity nepřímou potvrzují údaje některých autorů o srovnatelné účinnosti československé a sovětské vakcíny proti trichofytóze skotu (Pavlas aj., 1979). Významné jsou i pro terénní veterinární praxi, neboť jsou teoretickým zdůvodněním zákazu přemísťování skotu do zamořených prostor v době do jednoho měsíce po druhé aplikaci vakcíny proti trichofytóze.

Literatura

- HEJTMÁNEK, M. — KOĐOUSEK, R. — WEIGL, E. — RYBNÍKÁŘ, A. — VRZAL, V. — CHUMELA, J.: Tissue reaction in guinea pigs after intramuscular application of living vaccine against trichophytosis. Acta Univ. Palack. Olomuc., Fac. Med., 114, 1986, s. 171-185.
- KOMÁREK, J.: Trichofytóza skotu. Veterinářství, 35, 1985, s. 291.
- PAVLAS, M. — WILLOMITZER, J. — MRVA, V. — PATLOKOVÁ, V. — PROCHÁZKA, F.: Preventivní a léčebná účinnost vakcíny proti trichofytóze u skotu. Veter. Med. (Praha), 24, 1979, s. 209-216.
- POLÁK, L.: Utlučení trichofytózy zavazuje k další náročné ochraně zdraví zvířat. Veterinářství, 34, 1984, s. 49-51.
- RYBNÍKÁŘ, A. — CHUMELA, J. — VRZAL, V.: Ověřování protekčních schopností avirulentní vakcíny proti trichofytóze skotu. Veter. Med. (Praha), 31, 1986, s. 219-226.
- SARKISOV, A. CH. — PETROVIČ, S. V. — NIKIFOROV, L. I. — JABLOČNIK, L. M.: Specifičeskaja profilaktika striguščego lišaja krupnogo rogatogo skota. Vsesojuz. Ord. Lenina Inst. eksp. Veter., 12, 1972, s. 9-14.
- ŠIŠÁK, M.: Trichofytóza skotu v ČSSR — po 5 letech od zavedení plošné specifické imunoprofylaxe. Veterinářství, 31, 1981, s. 536-537.
- WAWRZKIEWICZ, K. — RUBAJ, B. — ZIÓLKOWSKA, G.: The fate of *Tricho-*

phyton verrucosum in the guinea-pig organism conditioned by the route of its administration. Mykosen, 25, 1982, s. 558-572.

ZARKOV, I. I.: Sroki formirovaniya immuniteta k trichofitii u teljat, vakcinirovannykh LTF-130. Bjull. Vsesojuz. Ord. Lenina Inst. eksp. Veter., 25, 1976, s. 32-33.

Došlo dne 15. 4. 1988

РЫБНИКАРЖ, А. — ХУМЕЛА, Й. — ВРЗАЛ, В. (Биовета, н. п., Ивановице на Гане): Возникновение иммунитета после вакцинации к р. с. против трихофитоза. Veter. Med. (Praha), 34, 1989 (2) : 97-100.

В опытах с 262 телятами, старых один месяц установили возникновение солидного иммунитета против трихофитоза в периоде 21—28 дней после применения чехословацкой живой вакцины против трихофитоза. После инокуляции на поверхности кожи сильновирулентные культуры *Trichophyton verrucosum*, проведенной через 28—35 дней после ревакцинации, не было возникновение клинической формы заболевания трихофитоза у телят установлено. Одинаковые дозы вирулентного материала вызвали у всех контрольных невакцинированных телят обширные и глубокие трихофитические изменения. В группах телят искусственно инфицированных в день ревакцинации и после семи дней с начала ревакцинации заболело 88,2 % и 44,4 % опытных животных; ход заболевания в большинстве случаев не был столько сложным, сколько у контролей. Телята зараженная в периоде 11—21 дней после повторного применения вакцины были уже к экспериментальной инфекции устойчивыми. Незначительные изменения получили у 15,4—7,0 % аттестированных животных.

трихофитоз к. р. с.; иммунизация; экспериментальная инфекция

RYBNIKÁŘ, A. — CHUMELA, J. — VRZAL, V. (Bioveta National Corporation, Ivanovice na Hané): The Rise of Immunity after Cattle Vaccination against Trichophytosis. Veter. Med. (Praha), 34, 1989 (2) : 97-100.

Trials were conducted with 262 one-month-old calves. Good immunity was found to have developed within the period of 21 to 28 days after the administration of the Czechoslovak live vaccine against bovine trichophytosis. After epicutaneous inoculation of a highly virulent culture of *Trichophyton verrucosum*, performed 28 and 35 days after re-vaccination, no clinical form of trichophytosis was observed to rise in the calves. The same doses of challenge inoculum induced profound trichophytic changes. In the groups of calves artificially infected on the day of re-vaccination and seven days after re-vaccination, the proportions of experimental animals that fell ill were 88.2 % and 44.4 %, respectively; in the majority of cases, the course of the disease was not so serious as in the controls. Calves challenged 11 to 21 days after the second administration of the vaccines were mostly resistant to experimental infection: slight changes occurred in 15.4 to 7.0 % of the tested animals.

bovine trichophytosis; immunization; experimental infection

RYBNIKÁŘ, A. — CHUMELA, J. — VRZAL, V. (Bioveta, Volkseigener Betrieb, Ivanovice na Hané): Ausbildung der Immunität nach Vakzination von Rindern gegen Trichophytose. Veter. Med. (Praha), 34, 1989 (2) : 97-100.

In Versuchen mit 262 Kälbern im Alter von einem Monat wurde festgestellt, daß eine solide Immunität gegen Trichophytose im Zeitraum von 21 bis 28 Tagen nach Applikation der tschechoslowakischen lebendigen Vakzine gegen die Trichophytose der Rinder entstanden ist. Nach epikutaner Inokulation mit stark virulenter Kultur des *Trichophyton verrucosum*, die in 28 und 35 Tagen nach der Revakzination durchgeführt wurde, wurde bei den Kälbern kein Aufkommen der klinischen Form der Erkrankung verzeichnet. Dieselben Dosen des Challenge-Inokulums riefen bei sämtlichen nichtvakzinieren Kontrollkälbern tiefgreifende trichophytische Veränderungen hervor. In Kälbergruppen, die am Tag der Revakzination und in sieben Tagen nach der Revakzination künstlich infiziert wurden, erkrankten 88,2 % bzw. 44,4 % der Versuchstiere; der Krankheitsverlauf war größtenteils nicht so schwerwiegend wie bei den Kontrollen. Die im Zeitraum von 11 bis 21 Tagen nach der zweiten Vakzinapplikation immungetesteten Kälber waren gegenüber der experimentellen Infektion bereits meistens widerstandsfähig, zu unausgeprägten Veränderungen kam es bei 15,4 bis 7,0 % der getesteten Tiere.

Trichophytose der Rinder; Immunisierung; experimentelle Infektion

Adresa autorů:

RNDr. Alois Rybníkář, MVDr. Josef Chumela, MVDr. Vladimír Vrzal, Bioveta, n. p., Komenského 212, 683 23 Ivanovice na Hané

SEMIKVANTITATIVNÍ STANOVENÍ HLADINY IgM V SÉRU PRASAT KAPKOVÝM IMUNOENZYMATICKÝM TESTEM NA NITROCELULÓZE

P. Mádr, H. Tlaskalová-Hogenová, P. Dvořák

MÁDR, P. — TLASKALOVÁ-HOGENOVÁ, H. — DVOŘÁK, P. (Ústav fyziologie a genetiky hospodářských zvířat ČSAV, Liběchov; Mikrobiologický ústav ČSAV, Praha): *Semikvantitativní stanovení hladiny IgM v séru prasat kapkovým imunoenzymatickým testem na nitrocelulóze*. Veter. Med. (Praha), 34, 1989 (2) : 101-106.

K rychlému semikvantitativnímu stanovení IgM v séru prasat jsme modifikovali kapkový imunoenzymatický test na nitrocelulóze, využívající monoklonální protilátku LIG 4. Tuto metodu jsme použili ve dvou modifikacích. U první modifikace jsme na nitrocelulózu nejprve přenesli vyšetřované sérum, kdežto u druhé jsme jako první vážali monoklonální protilátku. Druhá modifikace umožňuje připravit a uchovávat nitrocelulózu s návaznou monoklonální protilátkou, a tím i zkrátit vlastní vyšetření. Obě modifikace jsme srovnali s metodou ELISA. Mezi jednotlivými modifikacemi a testem ELISA jsme vypočítali korelační koeficient $r = 0,87$ a $r = 0,91$. Absolutní citlivost testu jsme stanovili na 10 až 20 ng. μl^{-1} . Tento test je vhodný k využití ve veterinární praxi.

séra prasat; imunoglobuliny M; imunoenzymatický test na nitrocelulóze; monoklonální protilátka

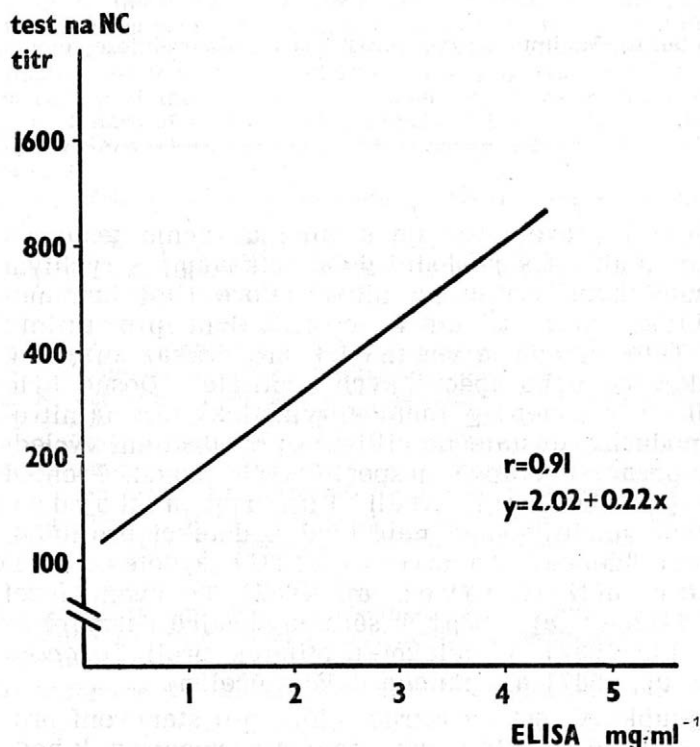
Humánní a veterinární praxe vyžaduje snadné a rychlé testovací systémy. V oblasti imunologie se v poslední době setkáváme s rychlým kapkovým imunoenzymatickým testem na nitrocelulóze (dot immunobinding assay, dot-ELISA, dotting), který je atraktivní pro rutinní diagnostické aplikace. Tato metoda je vhodná jak pro průkaz antigenu, tak pro stanovení celkových nebo specifických protilátek. Dosud bylo popsáno mnoho modifikací této metody. Imunoenzymatický test na nitrocelulóze je rychlý, jednoduchý, dostatečně citlivý a při odečítání výsledků lze snadno odlišit pozadí a stupeň nespecifických reakcí. Přehled principů a využití kapkového testu uvedl Towbin a Gordon (1984). Tato metoda byla modifikována například k detekci protilátek proti viru lidské imunodeficiency (Santos aj., 1987), k detekci rotaviru a adenoviru ve feces dětí (Gouvea aj., 1987), ke kvantifikaci IgE v lidských sérech (Hong aj., 1986), k sérodiagnostice pasteurelóz králíků (Manning aj., 1987), k detekci protilátek proti *Toxocara canis* (Matsumura aj., 1987) a k mnoha dalším účelům.

Modifikovali jsme kapkový test na nitrocelulóze pro stanovení protilátek IgM v séru prasat. Hladina IgM je významným parametrem k hod-

nocení imunitního a klinického stavu organismu. U novorozených selat se protilátky IgM vyskytují v séru jen ve stopových množstvích. 24 hodiny po napití kolostra vystoupí na $0,55 \text{ mg} \cdot \text{ml}^{-1}$, na minimum klesnou sedmý až osmý den a potom kontinuálně stoupají až do dospělosti, kdy v průměru dosahují asi $4 \text{ mg} \cdot \text{ml}^{-1}$ (Dvořák aj., 1988). Biologický poločas IgM v séru novorozených selat je 3,5 až 6,5 dne (Curtis a Bourne, 1973). U prasnic bylo zjištěno kolísání hladiny IgM po celou dobu reprodukčního cyklu. Zvláště výrazný je vzestup hladiny během gravidity a pokles na začátku laktace (Klobasa aj., 1985). Kvantifikace IgM má praktický význam především proto, že hladina této třídy protilátek v séru se po infekci zvyšuje jako první. Vysoké titry IgM můžeme — vzhledem ke krátkému biologickému poločasu — detekovat jen krátkou dobu po infekci, pouze u chronických a perzistentních infekcí se udržují delší dobu.

MATERIÁL A METODY

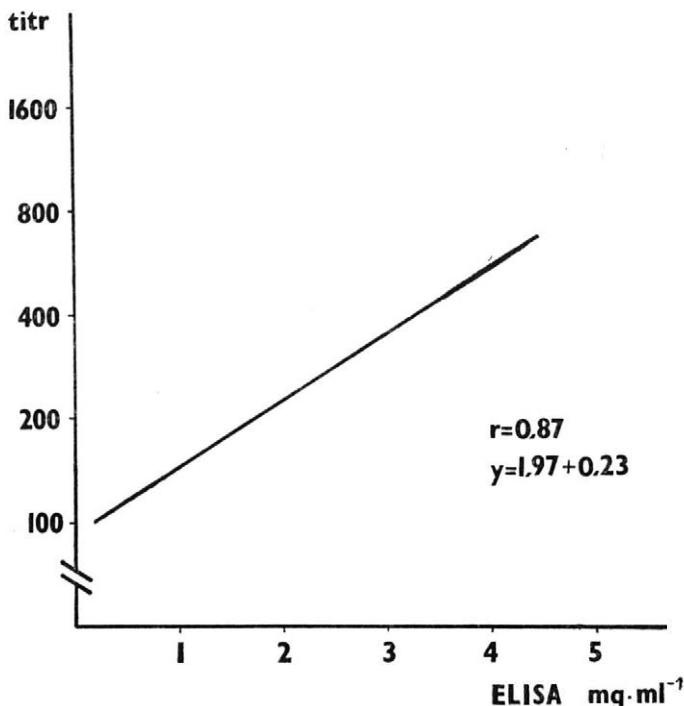
K vyšetření jsme použili séra od 31 různě starých selat plemene landrase. Přesné hladiny IgM jsme stanovovali metodou ELISA (Dvořák aj., 1988). Kapkovou metodu na nitrocelulóze jsme dělali ve dvou modifikacích. K testu jsme používali nitrocelulóзовé filtry Synpor č. 6 (Barvy a laky, Uhřetěves). Specifita testu je založena na využití monoklonální protilátky LIG 4, která specificky reaguje s Fc částí μ řetězce prasečího IgM (Dvořák aj., 1986). Používali jsme imunoglobulinovou frakci z ascitické tekutiny myši obsahující asi 7 mg imunoglobulinů v 1 ml. U jednotlivých modifikací jsme použili peroxidázové konjugáty, prasečí anti-myši Ig (SwAM-Px) a králičí anti-prasečí Ig (RASw-Px, ÚSOL, Praha). Sub-



1. Závislost titru IgM (první modifikace testu na nitrocelulóze NC) na množství IgM v séru prasat (ELISA test) — Dependence of IgM titre (first modification of assay on nitrocellulose NC) upon the amount of IgM in porcine serum (ELISA)

2. Závislost titru IgM (druhá modifikace testu na nitrocelulóze NC) na množství IgM v séru prasat (ELISA test) — Dependence of IgM titre (second modification of assay on nitrocellulose NC) upon the amount of IgM in porcine serum (ELISA)

test na NC



strát jsme připravili rozpuštěním 120 mg 9-amino-3-ethylkarbazolu ve 40 mg dimetylformamidu (Lachema) a smícháním se 160 ml 50 mM acetátového pufru o pH 5. Roztok jsme vyčistili centrifugací a skladovali po 10 ml při teplotě -20°C . Před použitím jsme do 10 ml přidali 20 μl 3% roztoku H_2O_2 . K promývání jsme používali fosfáty pufrovaný fyziologický roztok (PBS) a PBS + 0,05% Tween 20. K blokování jsme použili 10% a 50% bovinní sérum pro TK (Bioveta, Ivanovice na Hané).

KAPKOVÝ IMUNOENZYMATICKÝ TEST NA NITROCELULÓZE

První modifikace

Na suchou nitrocelulózu, předem promytou v PBS, jsme přenesli šest sériových ředění od 1:100 do 1:3200 vyšetřovaného séra v množství 2 μl . Po 15 minutách inkubace jsme volná místa na nitrocelulóze blokovali 30 minut ponořením do 50% bovinního séra. Potom následovala inkubace v monoklonální protilátce LIG 4, ředěné v poměru 1:500. Po jednom promytí v PBS jsme vzorky inkubovali 15 minut v konjugátu SwAM-Px, ředěném v poměru 1:500. Po důkladném promytí (pětkrát v PBS + Tween a jednou v PBS) jsme vzorky inkubovali v substrátu a barevnou reakci jsme zastavili 5% roztokem azidu sodného.

Druhá modifikace

Promytou nitrocelulózu jsme nejprve inkubovali v LIG 4 1:500 a zablokovali v 50% bovinním séru. Takto připravenou nitrocelulózu lze uchovávat i několik měsíců při teplotě -20°C , což umožňuje podstatně zkrátit dobu vlastního vyšetření. Na suchou nitrocelulózu jsme pak přenesli naředěné vzorky přesně jako v první modifikaci. Po 15 minutách inkubace jsme nitrocelulózu promyli třikrát v PBS a znovu zablokovali v 10% bovinním séru. Následovala 15minutová inkubace v konjugátu RASw-Px 1:500 a důkladné promytí pětkrát v PBS + Tween a jednou v PBS. Vzorky jsme minutu inkubovali v substrátu a posledním krokem byla fixace v 5% NaN_3 .

V sérech 31 selat jsme stanovili vysoce přesnou a citlivou metodou ELISA, využívající monoklonální protilátku LIG 4 (Dvořák aj., 1988), hladinu protilátek IgM. Stejná séra jsme vyšetřili kapkovým imuno-enzymatickým testem na nitrocelulóze dvěma modifikacemi. Mezi hodnotami zjištěnými testem ELISA a oběma modifikacemi testu na nitrocelulóze jsme vypočítali korelační koeficient. Mezi první modifikací a testem ELISA je korelační koeficient $r = 0,91$, mezi druhou modifikací a ELISA $r = 0,87$ a mezi oběma modifikacemi $r = 0,87$ ($p < 0,01$). Výsledky jsou přehledně znázorněny na obr. 1 a 2. Absolutní citlivost testu, tedy nejvyšší možné ředění, při kterém je ještě viditelná barevná reakce, jsme stanovili na 10 až 20 ng $\cdot \mu\text{l}^{-1}$.

Ověřili jsme rovněž možnost přípravy a uchování nitrocelulózy s navázanou monoklonální protilátkou a zablokovanou v 50% bovinním séru. Tato modifikace umožní podstatně zkrátit vlastní vyšetření.

DISKUSE A ZÁVĚR

Kapkový imunoenzymatický test na nitrocelulóze pro semikvantitativní stanovení IgM v séru prasat představuje rychlou, jednoduchou a levnou metodu. Vyšetření lze uskutečnit během velmi krátké doby a je zde možnost značného zkrácení přípravou a uchováváním nitrocelulózy s navázanou monoklonální protilátkou. Specifická testu je zaručena použitím monoklonální protilátky. Kontrolní test s imunoglobuliny jiných tříd (IgG a IgA) byl v obou modifikacích negativní. Citlivost testu je pro praktické využití zcela dostatečná, je však možné ji podle potřeby zvýšit volbou jiného systému ředění vyšetřovaných sér. Naše výsledky ukazují výbornou korelaci tohoto testu s velmi citlivým a přesným testem ELISA. Provedení testu nevyžaduje speciální zařízení a je značně jednoduché. Při odečítání lze lehce odlišit nespecifické reakce a pozadí. Tyto vlastnosti předurčují test k využití v klinické a terénní veterinární praxi.

Literatura

- CURTIS, J. — BOURNE, F. J.: Half-lives of immunoglobulins IgG, IgA and IgM in the serum of new-born pigs. *Immunology*, 24, 1973, s. 147-153.
- DVOŘÁK, P. — DVOŘÁKOVÁ, D. — HRUBAN, V. — HORÁK, V. — STANĚK, R.: Monoclonal antibodies specific for the pig serum and cell surface IgM. *Res. veter. Sci.*, 41, 1986, s. 356-360.
- DVOŘÁK, P. — DVOŘÁKOVÁ, D. — TLASKALOVÁ-HOGENOVÁ, H. — ŠIMEČKOVÁ, J. — HRUBAN, V. — STANĚK, R.: Quantification of serum IgM in pigs by monoclonal antibody: enzyme-linked immunosorbent assay, "dot immunobinding" assay, and radial immunodiffusion. *J. veter. Med.*, 1988 (v tisku).
- GOUVEA, V. S. — de CASTRO, L. — PEREIRA, H. G.: A combined dot nitro-cellulose-enzyme immunoassay for rotavirus and adenovirus. *J. virol. Meth.*, 18, 1987, s. 57-65.
- HONG, C. S. — STADLER, B. M. — WÄLTI, M. — de WECK, A. L.: Dot-immunobinding assay with monoclonal anti-IgE antibodies for the detection and quantitation of human IgE. *J. immunol. Meth.*, 95, 1986, s. 195-202.

KLOBASA, F. — HABE, F. — WERHAHN, E. — BUTLER, J. E.: Changes in concentration of serum IgG, IgA and IgM of sows throughout the reproductive cycle. *Veter. Immunol. Immunopath.*, 10, 1985, s. 341-353.

MANNING, J. G. — BRACKEE, G. — NAASZ, M. A. — DELONG, D. — LEARY, S. L.: A dot-immunobinding assay for the serodiagnosis of *Pasteurella multocida* infection in laboratory rabbits. *Lab. anim. Sci.*, 37, 1987, s. 615-620.

MATSUMURA, K. — KAZUTA, Y. — ENDO, R. — TANAKA, K. — INOUE, T. — MATSUDA, H.: A rapid detection of toxocaral antibodies by dot enzyme-linked immunosorbent assay (dot-ELISA) in dogs. *Zbl. Bakt. Hyg., Abt. A*, 226, 1987, s. 580-585.

SANTOS, I. J. DOS — GALVAO-CASTRO, B. — MELLO, D. C. — PEREIRA, H. G. — PEREIRA, M. S.: Dot enzyme immunoassay. A simple, cheap, and stable test for antibody to human immunodeficiency virus (HIV). *J. immunol. Meth.*, 99, 1987, s. 191-195.

TOWBIN, H. — GORDON, J.: Immunoblotting and dot immunobinding assays — current and outlook. *J. immunol. Meth.*, 72, 1984, s. 313-340.

Došlo dne 13. 4. 1988

МАДР, П. — ТЛАСКАЛОВА-ГОГЕНОВА, Г. — ДВОРЖАК, П. (Институт физиологии и генетики сельскохозяйственных животных ЧСАН, Либехов; Институт микробиологии ЧСАН, Прага): Полукачественное определение уровня иммуноглобулинов М в сыворотке крови свиней капельным иммуноферментативным тестом, проводимое на нитроцеллюлозе. *Veter. Med. (Praha)*, 34, 1989 (2) : 101-106.

Для быстрого полукачественного определения иммуноглобулинов М (IgM) в сыворотке крови свиней модифицировали капельный иммуноферментативный тест, проводимый на нитроцеллюлозе. Тест использует моноклональное антитело LIG 4. Этот метод использовали в двух модификациях. У первой модификации на нитроцеллюлозу сначала нанесли исследуемую сыворотку крови, в то время как у другой сначала наносили моноклональное антитело. Вторая модификация позволяет подготовить и сохранять нитроцеллюлозу с нанесенным моноклональным веществом. Это позволяет сократить время собственного исследования. Обе модификации сравнивали с методом ЭЛИСА. Между отдельными модификациями и тестом ЭЛИСА рассчитали коэффициент корреляции $r = 0,87$ и $r = 0,91$. Абсолютная чувствительность теста определена в пределах 10—20 нг. мкл⁻¹. Данный тест подходит для использования в ветеринарной практике.

сыворотки крови свиней; иммуноглобулины М; иммуноферментативный тест, проводимый на нитроцеллюлозе; моноклональное антитело

MÁDR, P. — TLASKALOVÁ-HOGENOVÁ, H. — DVOŘÁK, F. (Institute of Animal Physiology and Genetics, Czechoslovak Academy of Sciences, Liběchov; Microbiological Institute of the Czechoslovak Academy of Sciences, Praha): *Semiquantitative Determination of IgM Concentrations in Porcine Serum by the Dot Immunobinding Assay on Nitrocellulose*. *Veter. Med. (Praha)*, 34, 1989 (2) : 101-106.

The dot immunobinding assay on nitrocellulose, based on the use of the LIG 4 monoclonal antibody, was modified for rapid semiquantitative determination of immunoglobulins M (IgM) in porcine serum. The method was used in two modifications. In the first modification, the examined serum was first transferred onto nitrocellulose whereas in the other modification the monoclonal antibody was the first to be bound. The latter modification enables to prepare and keep nitrocellulose with the monoclonal antibody, thus shortening the process of examination. Both modifications were compared with the ELISA method. The correlation coefficient of $r = 0.87$ and $r = 0.91$ was calculated between the two modifications and porcine serum; immunoglobulins M; dot immunobinding assay on nitrocellulose; monoclonal antibody

porcine serum; immunoglobulins M; dot immunobinding assay on nitrocellulose; monoclonal antibody

MÁDR, P. — TLASKALOVÁ-HOGENOVÁ, H. — DVOŘÁK, F. (Institut für Physiologie und Genetik landwirtschaftlicher Nutztiere der Tschechoslowakischen Akademie der Wissenschaften, Liběchov; Mikrobiologisches Institut der Tschechoslow. Akademie der Wissenschaften, Praha): *Semiquantitative Bestimmung des IgM-Niveaus im Serum von Schweinen mittels immunoenzymatischen Tröpfchentests auf Nitrozellulose*. Veter. Med. (Praha), 34, 1989 (2) : 101-106.

Zum Zweck einer raschen semiquantitativen Bestimmung der IgM im Serum von Schweinen modifizierten wir den immunoenzymatischen Tröpfchentest auf Nitrozellulose, der von dem monoklonalen Antikörper LIG 4 Gebrauch macht. Wir wandten diese Methode in zwei Modifikationen an. Bei der ersten Modifikation übertrugen wir zuerst das zu untersuchende Serum auf die Nitrozellulose, während bei der zweiten Modifikation wir als ersten den monoklonalen Antikörper banden. Die zweite Modifikation ermöglicht die Nitrozellulose mit dem gebundenen monoklonalen Antikörper zuzubereiten und aufzubewahren, wodurch die eigentliche Untersuchung verkürzt wird. Beide Modifikationen verglichen wir dann mit der ELISA-Methode. Zwischen den beiden Modifikationen und dem ELISA-Test errechneten wir Korrelationskoeffizienten $r = 0,87$ und $r = 0,91$. Die absolute Sensibilität des Tests bestimmten wir als 10 bis 20 ng $\cdot \mu\text{l}^{-1}$. Dieser Test kann als geeignet für die Veterinärpraxis empfohlen werden.

Schweineserum; Immunoglobuline M; immunoenzymatischer Test auf Nitrozellulose; monoklonaler Antikörper

Adresy autorů:

MVDr. Pavel Mádr, ing. Petr Dvořák, CSc., Ústav fyziologie a genetiky hospodářských zvířat ČSAV, 277 21 Liběchov
MUDr. Helena Tlaskalová-Hogenová, CSc., Mikrobiologický ústav ČSAV, Vídeňská 1083, 142 20 Praha-Krč

VPLYV STIMULÁTOROV RASTU NA OBSAH NIEKTORÝCH MIKROPRVKOV V ORGANIZME KURČIAT

M. Tokošová

TOKOŠOVÁ, M. (Vojenský veterinárny doškoľovací výskumný ústav, Košice): *Vplyv stimulátorov rastu na obsah niektorých mikroprvkov v organizme kurčiat*. Veter. Med. (Praha), 34, 1989 (2) : 107-112.

Po 56-dňovom výkrme kurčiat a skrmovaní nitrovinu v dávke 15 mg.kg⁻¹ krmnej zmesi, cyadoxu v dávke 20 mg.kg⁻¹ krmnej zmesi a virginiamycinu v dávke 10 mg.kg⁻¹ krmnej zmesi sme sledovali obsah medi, zinku a mangánu v krvnom sére, prsnej a stehennej svalovine a perí kurčiat. Hodnoty medi, zinku a mangánu v krvnom sére sa pohybovali vo fyziologických hodnotách. V prsnej svalovine sa obsah medi a zinku zvýšil, ale obsah mangánu v porovnaní s kontrolnou skupinou poklesol v prsnej aj stehennej svalovine. Hodnoty mangánu v perí boli v porovnaní so skupinou kontrolnou vyššie u všetkých skupín.

kurčatá; nitrovin; cyadox; virginiamycin; meď; zinok; mangán

Jednou z možností, ako riešiť zvyšovanie hmotnostných prírastkov hydiny s minimálnou spotrebou krmiva, je využívanie špecificky účinných látok antibiotického a syntetického charakteru, a to využitím ich inhibičného účinku na negatívne pôsobiace zárodky v tráviacom systéme alebo podporením pozitívne pôsobiacej mikroflóry (Brož, 1979). Účinnosť týchto látok je hodnotená z pohľadu produkčného, hygienickej neškodnosti a kvality mäsa. Literárne údaje týkajúce sa objektívnych ukazovateľov kvality mäsa, to znamená základného chemického zloženia, senzorických vlastností, technologicky významných vlastností pri spracovaní, ale aj niektorých iných ukazovateľov ovplyvňujúcich priebeh biochemických procesov vo svalovine *post mortem* po použití látok stimulujúcich rast, sú v porovnaní s údajmi týkajúcimi sa produkčných ukazovateľov ojedinelé (Tokošová a i., 1981; Neumann, 1984; Šimko a Izák, 1985).

Pri sledovaní účinku nitrovinu, cyadoxu a virginiamycinu sme sa zamerali na obsah medi, zinku a mangánu v krvnom sére, vo svalovine prs a stehien a v perí kurčiat.

MATERIÁL A METÓDY

Kurčatá (160 kusov) mäsového hybridu Tetra B (Agraria Bábolna, MLR) sme rozdelili do štyroch pokusných skupín (po 40 kusov) a od 1. do 28. dňa výkrmu sme ich krmili kompletnou krmnou zmesou BR₁ s doplnkom biofaktorov DB BR₁, od 28. do 56. dňa krmnou zmesou BR₂ s doplnkom biofaktorov DB BR₂. V týchto

kŕmnych zmesiach sme za celé obdobie výkrmu skrmovali nitrovin — 1,5-bis/5-nitro-2-furyl/1,4-pentadien-3-on-aminohydrazonhydrochlorid (Lachema, n. p., Brno) v dávke 15 mg.kg⁻¹ kŕmnej zmesi; cyadox — kyanacetylhydrazon-2-formylchinoxalin-1-4-dioxid (VÚFB 11 502) v dávke 20 mg.kg⁻¹ kŕmnej zmesi a virginiamycin — STAFAC 500^R v dávke 10 mg.kg⁻¹ kŕmnej zmesi.

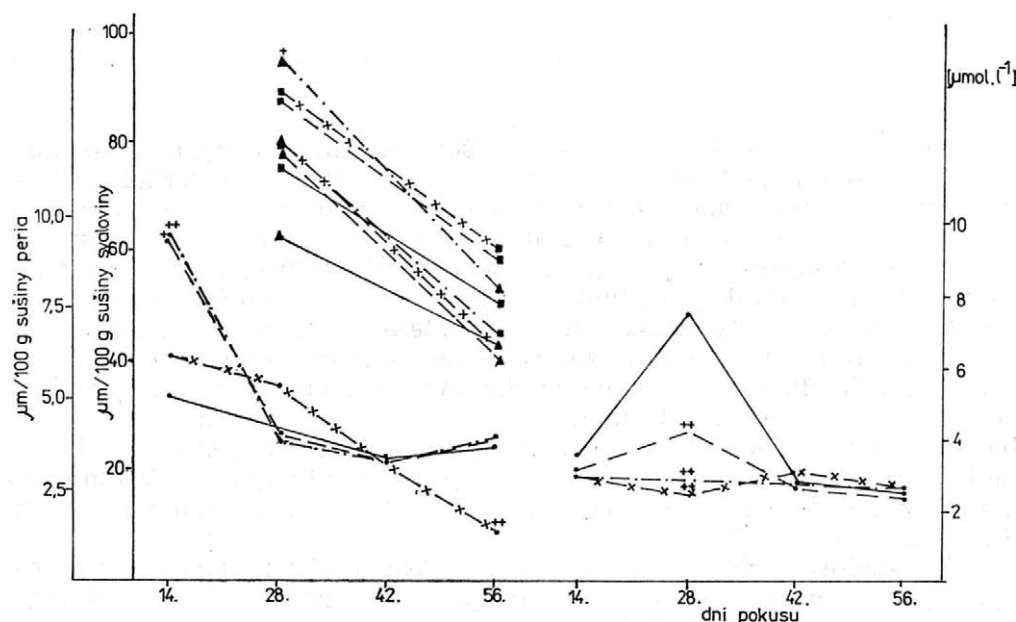
V 14., 28., 42. a 56. dni sme sledovali obsah medi, zinku a mangánu v krvnom sére a perí, v 28. a 56. dni v prsnej a stehennej svalovine kurčiat. Stanovenia sme vykonali na atómovom absorpčnom spektrofotometrickom prístroji Perkin-Elmer 5000 pri parametroch udávaných výrobcom (A n o n y m, 1977) atomizáciou vo vzduch-acetylénovom plameni po predchádzajúcej mineralizácii, oddymení kyslíčnika kremičitého a plnom rozpustení zvyšku popola pri týchto vlnových dĺžkach: meď — 324,8 nm, zinok — 213,9 nm, mangán — 279,5 nm.

Hodnoty sledovaných mikroprvkov v sére udávame v $\mu\text{mol.l}^{-1}$, v prsnej stehennej svalovine a v perí v μg na 100 g sušiny. V priebehu pokusu sme sledovali zdravotný stav kurčiat, prírastky živej hmotnosti, spotrebu krmiva a vybrané hematologické a biochemické ukazovatele vnútorného prostredia; výsledky sú zverejnené v iných prácach.

Statistickú významnosť porovnávaných ukazovateľov sme hodnotili Studentovým t-testom.

VÝSLEDKY A DISKUSIA

Obsah medi v organizme kurčiat uvádzame na obr. 1. Hodnoty tohto stopového prvku v 28. dni pokusu poklesli u všetkých pokusných skupín oproti kontrole (N — 4,21 $\mu\text{mol.l}^{-1}$; $P < 0,01$; C — 2,93 $\mu\text{mol.l}^{-1}$).



1. Priemerný obsah medi v svalovine a perí (a) a v krvnom sére (b) kurčiat — Average contents of copper in the muscle and feathers (a) and blood serum (b) of chickens

Obr. 1—3

K —————
N —————
C —
V — X—X—X—X—

▲ prsná svalovina
■ stehenná svalovina

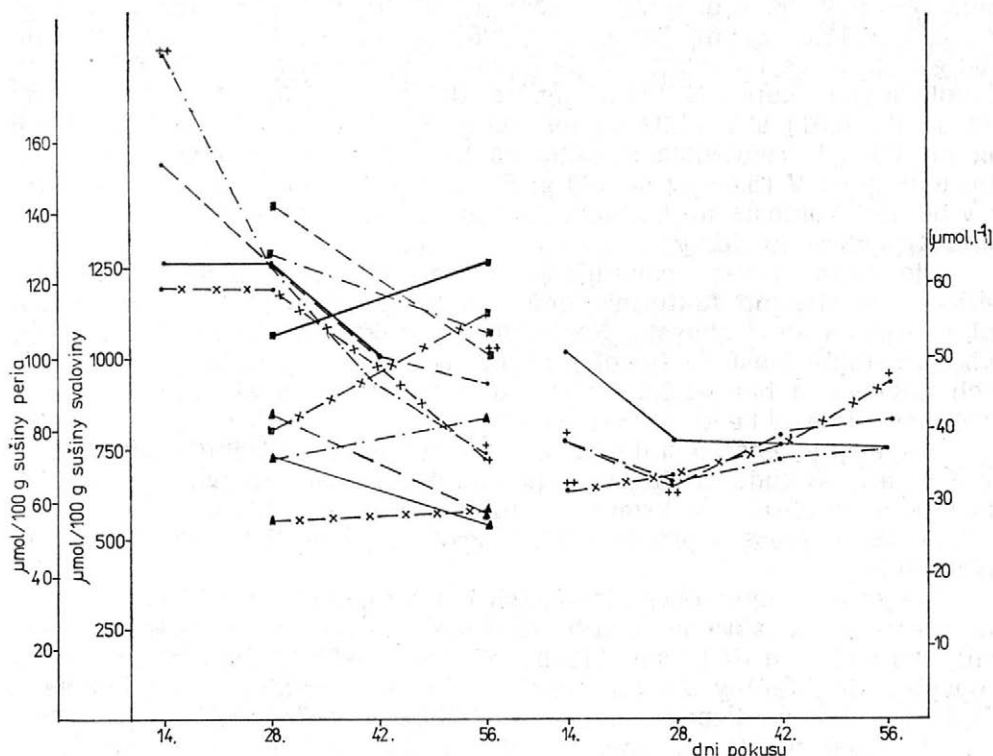
Hodnoty štatisticky významné
+ $P < 0,01$
++ $P < 0,05$

. l^{-1} ; $P < 0,01$ a $V = 2,49 \mu\text{mol} \cdot l^{-1}$; $P < 0,01$; kontrolná skupina $7,44 \mu\text{mol} \cdot l^{-1}$). V prsnej svalovine sa jej obsah zvýšil v 28. dni u skupiny C ($95,18 \mu\text{g}$ na 100 g sušiny; $P < 0,05$) oproti kontrole ($62,76 \mu\text{g}$ na 100 g). V svalovine stehien sa hodnoty obsahu medi pohybovali od $46,84$ do $89,40 \mu\text{g}$ na 100 g a rozdiely medzi pokusnými skupinami a skupinou kontrolnou neboli štatisticky významné.

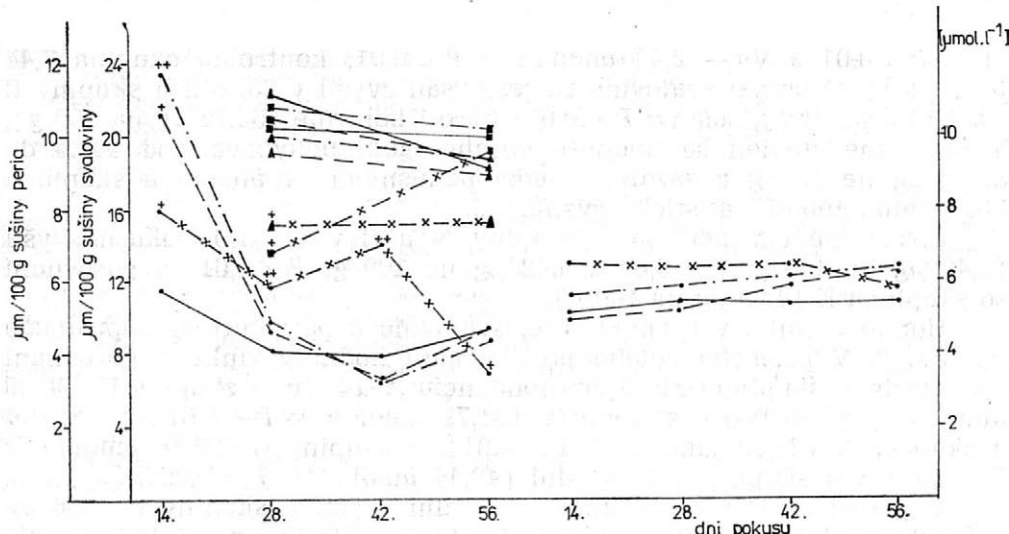
Obsah medi v perí sa u skupiny N a C v 14. dni pokusu zvýšil ($9,43 \mu\text{g}$ na 100 g ; $P < 0,05$ a $9,42 \mu\text{g}$ na 100 g ; $P < 0,01$) v porovnaní so skupinou K ($4,99 \mu\text{g}$ na 100 g).

Hodnoty zinku v krvnom sére, svalovine a perí kurčiat popisujeme na obr. 2. V priebehu celého pokusu mali hodnoty zinku v porovnaní s kontrolnou skupinou klesajúcu tendenciu: v 14. dni u skupiny N ($38,25 \mu\text{mol} \cdot l^{-1}$; $P < 0,05$), u skupiny V ($31,79 \mu\text{mol} \cdot l^{-1}$; $P < 0,01$), v 28. dni u skupiny N ($31,92 \mu\text{mol} \cdot l^{-1}$; $P < 0,01$), u skupiny C ($32,74 \mu\text{mol} \cdot l^{-1}$; $P < 0,05$) a u skupiny V v 56. dni ($46,44 \mu\text{mol} \cdot l^{-1}$; $P < 0,05$).

V prsnej svalovine sa zinok v 56. dni zvýšil u skupiny C ($836 \mu\text{g}$ na 100 g sušiny; $P < 0,05$) oproti kontrole ($535,70 \mu\text{g}$ na 100 g), ale v stehennej svalovine sa znížil u skupiny N ($1014,57 \mu\text{g}$ na 100 g ; $P < 0,01$) oproti K ($1264,91 \mu\text{g}$ na 100 g). V perí sa obsah zinku zvýšil v 14. dni u skupiny C ($185,18 \mu\text{g}$ na 100 g ; $P < 0,01$) oproti skupine K ($126,21 \mu\text{g}$ na 100 g), ale poklesol v 56. dni u skupiny C ($73,31 \mu\text{g}$ na 100 g ; $P < 0,05$) a u skupiny V ($71,10 \mu\text{g}$ na 100 g ; $P < 0,05$).



2. Priemerný obsah zinku v svalovine a perí (a) a v krvnom sére (b) kurčiat — Average zinc contents in the muscle and feathers (a) and blood serum (b) of chickens



3. Priemerný obsah mangánu v svalovine a perí (a) a v krvnom sére (b) kurčiat
— Average manganese contents in the muscle and feathers (a) and blood serum (b) of chickens

Obsah mangánu udáva obr. 3. Hladiny mangánu v krvnom sére boli v priebehu celého pokusu vyrovnané. V prsnom a stehennom mäse sa jeho obsah v 28. dni znížil u skupiny V ($15,07 \mu\text{g}$ na 100 g sušiny; $P < 0,05$ a $13,69 \mu\text{g}$ na 100 g ; $P < 0,05$) oproti skupine K ($22,32 \mu\text{g}$ na 100 g a $20,58 \mu\text{g}$ na 100 g). V perí sme v 14. dni zistili zvýšené hodnoty u pokusných skupín N ($10,64 \mu\text{g}$ na 100 g ; $P < 0,05$), C ($11,80 \mu\text{g}$ na 100 g ; $P < 0,01$) a V ($7,92 \mu\text{g}$ na 100 g ; $P < 0,05$) oproti kontrole ($5,76 \mu\text{g}$ na 100 g). Tendencia stúpajúcich hodnôt sa ukázala aj v 28. a 42. dni u skupiny V ($5,88 \mu\text{g}$ na 100 g ; $P < 0,01$ a $7,00 \mu\text{g}$ na 100 g ; $P < 0,01$) a v 56. dni poklesla na hodnotu $3,42 \mu\text{g}$ na 100 g ($P < 0,05$) oproti skupine K ($4,68 \mu\text{g}$ na 100 g).

Nie všetky prvky vyskytujúce sa v živých bunkách sú nepostrádateľnými nutričnými faktormi, teda mikroelementami alebo mikroprvkami v pravom slova zmysle. Spoločnou charakteristikou mikroprvkov je ich nezastupiteľnosť vo fyziologických množstvách, ich toxicita pri vyšších dávkach a biologická úloha ako integrujúcej a aktivujúcej zložky enzýmov (Weelle de, 1969).

Stupeň nedostatku mikroprvkov vo výžive je príčinou vzniku ochorení zvierat a ľudí. Nedostatok týchto prvkov sa prejavuje aj pri ich dostatočnom obsahu v krmive, a to pre zníženú rezorbciu a využitie v dôsledku nepomeru jednotlivých mikroelementov alebo iných organických živín.

Sledovaním dynamiky niektorých hematologických a biochemických ukazovateľov po skrmovaní nitrovinu československej výroby sa zaoberali Bouška a Mičan (1978). Skrmovanie tohto stimulátora rastu neovplyvnilo hladiny železa, medi, zinku a mangánu v krvnom sére. Výsledky stanovení medi, zinku a mangánu v našej práci sú v súlade s výsledkami týchto autorov, ale aj s výsledkami uverejnenými Šlesingerom (1967), ktorý sledoval obsah minerálnych látok v sére kurčiat. Drumev a i. (1976) zistili po skrmovaní virginiamycinu u kurčiat vyšší obsah proteínov a mineráliev v mäse.

Ak si položíme otázku, aké množstvo esenciálnych minerálnych látok je v mäse, do akej miery tento zdroj zabezpečuje našu potrebu, musíme konštatovať, že efektívnosť určitých minerálnych látok nie je závislá len od ich množstva, ale aj od formy, v akej sa vyskytujú. Ak organizmus musí požívatinu štruktúrne alebo chemicky podstatne meniť, aby mala prijateľnú formu, alebo ak sú tieto látky málo rozpustné, efektívnosť je nízka. Preto je pochopiteľné, že mäso, ktoré má podobné chemické zloženie ako svaly, má vysokú využiteľnosť. A tento úsudok platí aj pre minerálne látky.

Meď je dôležitý stopový prvok, ktorý sa vyskytuje viazaný v mnohých metaloproteínoch, katalyzuje vstup železa do porfyrínového skeletu a je súčasťou mnohých enzýmov.

Zinok vo svalovine je súčasťou peptidáz, dehydrogenáz a fosfatáz. Ovplyvňuje metabolizmus bielkovín, sacharidov a hormónov.

Mangán sa vyskytuje ako súčasť alebo aktivátor alkalického monofosforenej esterázy I, pankreatickej nukleázy, pečenej arginázy a enzýmov zapojených do oxidatívnej fosforylácie, syntézy mastných kyselín a cholesterolu. Má významnú úlohu pri tvorbe hemu, ovplyvňuje vývoj kostí a pohlavných žliaz.

Stanovenie mikroelementov v tkanivách a orgánoch s cieľom posúdiť nasýtenosť organizmu príslušným stopovým prvkom je základnou požiadavkou ich sledovania v organizme zvierat. Anke (1965) doporučuje sledovať ich koncentráciu v tkanivách a orgánoch, v ktorých dochádza pri nedostatku k najzreteľnejším rozdielom — poklesu koncentrácie daného prvku. Aj na základe tohto doporučenia sme sa zamerali na sledovanie obsahu medi, zinku a mangánu v krvnom sére, mäse prsnom a stehennom a v perí.

Literatúra

- ANKE, M.: Der Mengen- und Spurenelementgehalt des Rinderhaares. 1. Mitt. Arch. Tierernähr., 15, 1965, s. 461-468.
- ANONYM: Analytical methods for atomic absorption spectroscopy using the HGA graphite furnace. Bodenseewer Perkin-Elmer and Co. GmbH, 1977.
- BOUŠKA, J. — MIČAN, P.: Vliv zkrmování neantibiotického stimulatoru růstu nitrovinu (Lachema) na zdravotní stav a růstovou aktivitu brojlerů. Biol. chem. Vet. (Praha), 14, 1978, s. 125-139.
- BROŽ, J.: Stimulační látky ve výživě hospodářských zvířat — 1. část — syntetické látky. Pohoří-Chotouň, VÚBV 1981, 143 s.
- DRUMEV, D. — GABRAŠANSKI, P. — GACHNIJAN, R.: Proučvanija varchu nutritivnoto dejstvie na flavofosfolipola i virginijamicina pri pileta brojleri. Veter.-med. Nauki, 13, 1976, s. 29-36.
- NEUMANN, J.: Farmakologicky účinné látky — vliv na produkci a kvalitu masa. Biol. chem. Vet. (Praha), 20, 1984, s. 425-430.
- ŠIMKO, Š. — IZÁK, Š.: Použitie nitrovinu vo výkrme ošípaných — úžitkovosť a kvalita mäsa. Biol. chem. Vet. (Praha), 21, 1985, s. 507-514.
- ŠLESINGER, L.: Koncentrace některých metabolitů v krevním séru kuřat. Veter. Med. (Praha), 12, 1967, s. 49-53.
- TOKOŠOVÁ, M. — BALÁŽ, J. — IZÁK, Š. — HOJER, R.: Vplyv stimulatorov rastu na kvalitu mäsa brojlerov. Hygiene Alimentorum II. Vplyv výživy na kvalitu mäsa. Výkup, preprava a ošetrovanie jatočných zvierat pred zabitím. Starý Smokovec 1981.
- WEELE, M. de: Deficiences en elements mineurs et traitement possible. Fruit Belga, 1969, s. 335-337.

Došlo dňa 15. 4. 1988

ТОКОШОВА, М. (Военный ветеринарный институт усовершенствования врачей, Кошице): Влияние стимуляторов роста на содержание некоторых микроэлементов в организме цыплят. Veter. Med. (Praha), 34, 1989 (2) : 107-112.

После 56-тидневного откорма цыплят и скормливания нитровина дозой 20 мг. кг⁻¹ кормовой смеси и виргиниамидина дозой 10 мг. кг⁻¹ кормовой смеси изучали содержание меди, цинка и марганца в кровяной сыворотке, грудной и ляжечной мускулатуре и перьях цыплят. Значения меди, цинка и марганца в кровяной сыворотке находились в пределах физиологической нормы. В грудных мышцах содержание меди и цинка увеличилось, но содержание марганца в сравнении с контролем-группой понизилось в грудных и ляжечных мышцах. Значения марганца в перьях в сравнении с контролем-группой были больше у всех групп.

цыплята; нитровин; циадокс; виргиниамидин; медь; цинк; марганец

TOKOŠOVÁ, M. (Military Veterinary Extension and Research Institute, Košice): *The Effect of Growth Promoters on the Contents of Microelements in the Organism of Chicks*. Veter. Med. (Praha), 34, 1989 (2) : 107-112.

Chickens, fattened for 56 days, were treated with nitrovin at the dose of 15 mg per kg of feed, cyadox at the dose of 20 mg per kg of feed, and virginiamycin at the dose of 10 mg per kg of feed. After the fattening, the chickens were studied for the contents of copper, zinc, and manganese in the blood serum, thigh muscle, breast muscle, and feathers. The contents of copper, zinc and manganese in the serum ranged within the limits of physiological values. As for the breast muscle, the content of copper increased but the content of manganese declined in both breast and thigh muscle, as compared with the control group. The feathers contained more manganese in all the groups, as compared with the controls.

chickens; nitrovin; cyadox; virginiamycin; copper; zinc; manganese

TOKOŠOVÁ, M. (Militärinstitut für veterinärmedizinische Forschung und Fortbildung, Košice): *Einfluß von Wachstumsstimulatoren auf den Gehalt einiger Mikroelemente im Organismus von Küken*. Veter. Med. (Praha), 34, 1989 (2) : 107-112.

Nach einer 56tägigen Kükenmast, mit Verfütterung von Nitrovin in Gaben von 15 mg. kg⁻¹ Mischfutter, von Cyadox in Gaben von 20 mg. kg⁻¹ Mischfutter und von Virginiamyzin in Gaben von 10 mg. kg⁻¹ Mischfutter, untersuchten wir den Kupfer-, Zink- und Mangangehalt im Blutserum, in der Brust- und Keulenmuskulatur und in den Federn der Küken. Die Werte des Kupfer-, Zink- und Mangangehalts im Blutserum lagen in physiologischen Grenzen. In der Brustmuskulatur erhöhte sich der Kupfer- und Zinkgehalt, der Mangangehalt dagegen sank im Vergleich mit der Kontrollgruppe sowohl in der Brust- als auch in der Keulenmuskulatur. Die Manganwerte in den Federn lagen im Vergleich mit der Kontrollgruppe bei allen Versuchsgruppen höher.

Küken; Nitrovin; Cyadox; Virginiamyzin; Kupfer; Zink; Mangan

Adresa autorky:

MVDr. Mária Tokošová, CSc., Vojenský veterinárny doškoľovací výskumný ústav, poštový priečinok B-35, 041 15 Košice

Z. Gliński, M. Chmielewski

GLIŃSKI, Z. — CHMIELEWSKI, M. (Laboratoř pro výzkum onemocnění včel, Vysoká škola zemědělská, Lublin, Polsko): *Ascospheera apis*, virulence, biochemické a sérologické typy. Veter. Med. (Praha), 34, 1989 (2) : 113-119.

Kmeny *Ascospheera apis* izolované z larev *Apis mellifera* uhynulých na zvápenatění plodu z včelstev v různých oblastech Polska se odlišují svou virulencí pro mladé larvy včely medonosné perorálně infikované houbou. Mezi deseti známými biochemickými typy bylo zjištěno osm vysoce virulentních typů. Analýza hodnot LD₅₀ této patogenní houby, její antigenní struktury a biochemických vlastností ukazuje na nedostatek dobře definovaných vztahů mezi parametry charakterizujícími biologickou aktivitu patogenu způsobujícího zvápenatění plodu.

Apis mellifera; zvápenatění plodu; včelstva; patogenní houba

Jelikož zvápenatění plodu představuje problém pro mnoho oblastí světa, bylo vypracováno několik výzkumných projektů zkoumajících biologii *A. apis*, původce zvápenatění plodu, vztahy mezi houbou a jejím včelím hostitelem (Spiltoir a Olive, 1955; Mehr aj., 1976; Gilliam aj., 1978; Chmielewski, 1981; Gliński, 1981; Christensen a Gilliam, 1983), vnější faktory ovlivňující tohoto parazita a účinná opatření při tlumení této nemoci (Thurber, 1979; Herbert aj., 1985). Ačkoliv naše znalosti v oblasti morfologie, vývoje, reprodukce a diagnózy infekce *A. apis* (Gochnauer a Margetts, 1979; Nelson a Gochnauer, 1982) značně pokročily, faktory ovlivňující náchylnost hmyzu k infekci (Bailey, 1967; Heath, 1982; Milne, 1983) a podmiňující virulenci *A. apis* pro včelí plod nejsou dosud plně vysvětleny.

A. apis je patogen příležitostný, který hubí včelí larvy pouze tehdy, jestliže jsou vystaveny jiným stresovým podmínkám (Bailey, 1967; Gilliam, 1978a; Nelson a Gochnauer, 1982). Navíc se larvy různých druhů včel liší svou odolností vůči infekci a účinností, s jakou dospělé včely odstraňují infikovaný plod (Heath, 1985; Koenig aj., 1986). Ačkoliv se houby mohou svou virulencí pro hmyz významně lišit, jejich patogenita je v podstatě výsledkem produkce toxinu, patologických změn v hemolymfě, histologické činnosti, mechanického zablokování střeva vegetativním porostem houby, fyzického poškození při myceliálním vývoji nebo vzájemného boje o základní živiny (Gochnauer a Margetts, 1979). *A. apis* patří mezi patogenní houby, které mají

schopnost procházet ochrannou bariérou povrchového krunýře hmyzu a způsobují infekci pozřením spór hub (Gilliam, 1978b; Chmielewski, 1981; Gliński, 1981). Mechanismus, kterým klíčící spóry pronikají peritrofickou membránou střeva, silnou a chemicky složitou vrstvu, jakož i způsoby, kterými *A. apis* poškozuje nebo usmrcuje larvy, nejsou zcela jasné, neboť se dosud nikomu nepodařilo demonstrovat, že *A. apis* může vylučovat enzymy rozkládající chitin, hlavní složku kutikuly a peritrofické membrány. Kmeny *A. apis* se podstatně liší svou virulencí pro larvy včely medonosné a svou biochemickou činností, zvláště při využívání některých substrátů jako zdrojů energie a látek nezbytných pro fyziologické funkce (Heath, 1982). Jak již bylo poukázáno (Chmielewski, 1981), některé z těchto odlišností mohou být způsobeny metodou uchovávání kultur, kultivačním médiem, podmínkami prostředí, ale některé jsou vrozené.

Smyslem našich výzkumů, jejichž výsledky předkládáme, bylo pokusit se prozkoumat vzájemné vztahy mezi virulencí *A. apis*, biochemickými typy a sérologickým roztržiděním tohoto patogenu larev včely medonosné.

MATERIÁL A METODY

IZOLOVÁNÍ ASCOSPHAERA APIS

Zkouškám jsme podrobili 40 plodných kmenů *A. apis*, představujících deset biochemických typů (čtyři izoláty od každého typu) izolovaných v naší laboratoři z „černých mumii“ zvápenatělého plodu *Apis mellifera* na Sabouraudově dextróзовém agaru s 0,2% kvasničným extraktem. Izoláty byly identifikovány jako *A. apis* na základě kultivační a morfoloické charakteristiky a biochemických testů (Kowalska, 1978). Ztekucování želatiny, štěpení močoviny, lipolytická činnost a hemolýza 5% suspenze beraních červených krvinek sloužily jako kritérium pro klasifikaci izolovaných hub do biochemických typů (Chmielewski, 1981). Vysušené a zmrazené izoláty byly až do použití uchovávány v mrazničce.

SÉROLOGICKÉ TRŽIDĚNÍ HOUBY

Sérologické tržidění izolovaných druhů bylo provedeno metodou plotnové dvojité difúze v agaróze (0,8% agaróza v 0,05 M barbitalového pufru, pH 6,8; Ouchterlony, 1968; Crowle, 1973) za použití typové specifického hyperimunního králičího antiséra a jako antigenů vodních extraktů homogenizovaného, acetone dehydratovaného mycelia 40 zkoumaných kmenů *A. apis*. Metody přípravy antisér a antigenů i techniku difúze podrobně popsal Chmielewski (1982). U techniky plotnové dvojité difúze bylo použito antiséra pro sérotypy A, B a C. Kmeny *A. apis* náležející k typu A tvořily linie srážení I, II, III a V, kmeny ze sérotypu B tvořily linie I, II, III, IV a V a kmeny typu C tvořily linie srážení I, III, IV a V (Chmielewski, 1982).

PŘÍPRAVA INOKULA

Spórové suspenze *A. apis* pro naočkování larev včely medonosné byly získány z deset dnů starých kultur houby na Sabouraudově dextróзовém agaru inkubovaných při teplotě 24 °C. Kultura byla smyta sterilním 0,85% chloridem sodným. Získaná suspenze spór byla odstřeďována (2500 g, 20 minut) a potom resuspendována ve sterilním 35% cukerném sirupu obsahujícím 0,2 mg sterilního pylu na 1,0 ml. Koncentrace spór v cukerných roztocích, stanovené pomocí počítací komůrky, byly upraveny na 40 až 12,5 × 10⁴ spór na 2 μl cukrového roztoku.

Virulence každého kmene byla hodnocena pomocí biologických zkoušek prováděných na 72 až 80 hodin starých larvách pocházejících ze včelstva prostého nakažlivých nebo invazních nemocí. Larvy byly inkubovány v temnu při teplotě 30 °C ve skleněných Petriho miskách, které obsahovaly kus papíru nasáklého destilovanou vodou. Za použití Hamiltonovy mikrostříkačky byl umístěn na oblasti úst každé z 12 larev v jedné zkušební skupině alikvotní podíl 2,0 μ l spórové suspenze každého kmene *A. apis* obsahujícího příslušnou koncentraci spór. Tento pokus jsme třikrát opakovali, vždy na stejném počtu larev. Jako kontroly sloužily larvy chované za stejných podmínek, které byly nejdříve krmeny sterilním 35% cukrovým sirupem a potom sterilní směsí medu a pylu. Larvy byly kontrolovány denně po dobu pěti dnů a sledovalo se přežití a objevení se symptomů zvápenatění. Po pozření inokula byl plod individuálně krmen sterilní směsí medu a pylu. Z mrtvolek, u nichž bylo podezření na zvápenatění plodu, byly připraveny tkáňové rozčerty pro zjištění přítomnosti houby. Pro potvrzení mikroskopické diagnózy byl povrch mrtvých jedinců sterilizován pomocí 50% etanolu a části těl larev byly použity k naočkování Sabouraudova dextróзовého agaru; tak se získaly kultury *A. apis*. Hodnoty LD₅₀ byly stanoveny metodou podle Litchfielda a Wilcoxonova (1949) na základě počtu larev, které nakažení přežily.

VÝSLEDKY

Použitá metoda pro určení LD₅₀, která je obecně uznávaná při studiu virulence mikroorganismů, umožnila detailně zkoumat virulenci *A. apis* izolované z uhynulých zvápenatělých larev odebraných z různých včelstev včely medonosné a porovnat virulenci izolátů s jejich biochemickými a sérologickými vlastnostmi. Většina larev infikovaných perorálně spórami *A. apis* uhynula s typickými příznaky zvápnění. Bujný vývoj mycelia a produkce tmavých hnědozelených spórových cyst po inkubaci uhynulých jedinců při teplotě 22 °C po dobu zhruba dvou týdnů potvrdily, že *A. apis* je původcem úhynu larev. Jelikož se všechny pokusy konaly na larvách získaných ze stejného včelstva *A. mellifera* a jelikož bylo použito pouze čerstvých izolátů a byly aplikovány identické metody produkce spór, izolace a inkubace larev, je logické se domnívat, že rozdíly v hodnotách LD₅₀ (tab. I) pozorované mezi kmeny *A. apis* patřících k různým biochemickým a sérologickým typům mají souvislost s jejich zděděnými vlastnostmi.

Existuje evidentní nedostatek vzájemných vztahů mezi virulencí kmenů *A. apis* vyjádřených hodnotou LD₅₀ a jejich přiřazením k jednomu ze tří známých sérologických typů (tab. I). Kmeny s vysokou virulencí se vyskytují v séro skupině A, B a C. Ačkoliv kmeny s nejvyšší virulencí patří do sérologického typu B a jejich virulence mnohonásobně převyšuje virulenci kmenů z jiných sérotypů, rozdíly hodnot jejich LD₅₀, s výjimkou hub z biochemických typů I a VI, nejsou statisticky významné.

Analýza enzymatických vlastností této houby ukazuje na vztah mezi biochemickými typy rozlišenými na základě produkce čtyř enzymů — ureázy, lipázy, enzymu ztekucujícího želatinu a hemolýzínu — a virulencí této houby. Kmeny biochemických typů I a VI mají statisticky podstatně nižší virulenci než kmeny náležející ke všem osmi zbývajícím biochemickým typům. Ani jedna biochemická vlastnost sama o sobě nebo sloučení dvou, tří nebo čtyř těchto enzymatických činností však nemůže plně vysvětlit pozorované rozdíly hodnot LD₅₀. Nejvyšší virulenci mají

I. Sérologické a biochemické typy *Ascosphaera apis* a hodnoty LD₅₀ plísňe pro larvy dělnice včely medonosné po orální infekci — Serological groups, biochemical types of *Ascosphaera apis* and values of LD₅₀ of the fungus for honey bee worker larvae after oral infection

Biochemický typ	Sérologická skupina	Rozdělení do biochemických typů založených na:				LD ₅₀ spóry × 10 ³ na larvu	
		ztekucování rašeliny	ureáze	lipolytické aktivity	hemolýze buněk červených beraních krvinek	průměr	rozsah
I	A	+	—	+	—	12,37 ^a	12,90 — 13,70
II	A	—	—	+	—	4,10 ^b	3,60 — 4,60
III	A	+	—	—	+	2,14 ^b	1,90 — 2,30
IV	A	—	—	+	+	3,05 ^b	2,00 — 4,10
V	B	—	—	—	+	1,05 ^b	0,74 — 1,40
VI	A	+	—	—	—	20,27 ^a	17,00 — 33,40
VII	B	+	—	+	+	1,46 ^b	0,74 — 2,30
VIII	C	—	+	+	—	6,03 ^b	5,70 — 7,10
IX	C	+	+	+	—	5,42 ^b	5,10 — 5,80
X	A	+	+	—	+	7,05 ^b	6,70 — 7,80

a, b — hodnoty označené různými písmeny se významně liší při $\alpha < 0,05$

kmeny *A. apis* biochemického typu, u něhož dochází k hemolýze pouze 0,5% suspenze beraních červených krvinek; kmeny biochemických typů II, VII, VIII a IX, bez hemolytické aktivity, mají rovněž vysokou virulenci (tab. I). Navíc tato hemolytická činnost chybí u kmenů patřících k biochemickým typům I a VI a II, VIII a IX, které se svou virulencí podstatně liší. Také houby ztekucující želatinu s pozitivní ureázou a s vysokou lipolytickou aktivitou se statisticky významně liší svou virulencí.

DISKUSE

Zkoumání faktorů ovlivňujících virulenci patogenu a náchylnost hmyzu k infekci odhalilo, že mechanismus patogeneze houbových nemocí hmyzu a virulence hub tvoří komplex a že různé kmeny hub se svou virulencí významně odlišují. U většiny druhů hub není příčina této odlišnosti dobře stanovena (Paris a Segretain, 1975). Patogeneze zvápenatění plodu začíná klíčením spor *A. apis* ve střední části trávicí trubice nebo na povrchu těla larvy *A. mellifera* a následuje napadení hemocoelu hostitele. Mechanismy, jimiž klíčící hyfy pronikají chitinovými vrstvami těla larvy a pak se šíří v organismu, nejsou jasné. Předpokládá se, že nemusí zahrnovat pouze mechanické rozrušení těchto ochranných bariér hmyzího těla. Role chitinázy a některých proteolytických enzymů při iniciaci a šíření infekce zvápenatění plodu a virulence patogenu by se neměly brát v úvahu, protože se doposud nikomu nepodařilo demonstrovat, že *A. apis* dokáže vylučovat enzym, který napa-

dá chitin, a protože méně než 2,0 % izolátů produkuje enzymy, které rozkládají bílkovinné složky těla larev s výjimkou želatiny. Nicméně jak izolát ztekucující želatinu, tak izoláty, které tento substrát nenapadají, mají podobnou virulenci [Gliński a Chmielewski, 1982].

Ačkoliv u mnoha hub patogenních pro hmyz hrají ve virulenci klíčovou roli enzymy napadající lipidy [Paris a Segretain, 1975], u *A. apis* — podobně jako *Beauveria bassiana* [Perkul a Grula, 1979] — lipolytická aktivita sama o sobě nemůže virulenci determinovat. Druhy postrádající tyto enzymy i druhy s lipolytickou aktivitou totiž ukázaly srovnatelné hodnoty LD₅₀, nebo se hodnotou LD₅₀ pro mladé larvy dělnic včely medonosné významně odlišují [tab. I]. Jelikož obecně extracelulárně lytické nebo tkáňově rozrušující enzymy a insekticidní toxiny, které se často vyskytují v jiných patogenních houbách, v pěstovaných kulturách *A. apis*, s výjimkou fosfatázy, nejsou. Jelikož všechny tyto kmeny využívají trehalózu, glukózu a fruktózu pro růst a vývoj, je logické se domnívat, že tento patogen larev včely medonosné zabíjí svého hostitele, larvu *A. mellifera*, vyčerpáním živin a rozrušením tkání. Rozdíly ve virulenci mezi kmeny *A. apis* pravděpodobně mohou mít kvantitativní charakter, pokud se bere v úvahu činnost enzymů rozkládajících cukry, močovinu, lipidy, a hemolýza beraních červených krvinek.

Při analýze faktorů ovlivňujících virulenci *A. apis* je třeba brát v úvahu přítomnost neznámých enzymů. Konečně objasnění si rovněž vyžaduje produkce látek majících vlastnosti endotoxinů nebo exotoxinů. Relativně krátký časový interval mezi peronální infekcí larev a jejich úhynem, kdy se mycelium nemohlo plně rozvinout a působit mechanicky a kdy houba nebyla schopná účinněji soutěžit o základní živiny, může napovídat, že důvod rozdílů ve virulenci patogenů spočívá v činnosti neznámé toxické látky (látek) při patogenezi. Potvrzení tohoto dohadu však vyžaduje další výzkum. Relativně nízké hodnoty LD₅₀ patogenu pro tři dny staré larvy po peronální infekci v porovnání s hodnotami LD₅₀ zaznamenanými u hub patogenních pro jiné druhy hmyzu, jako jsou 150 000 spór *Metarrhizium anisopliae* na jednu larvu *Schistocerca gregaria* [Veen, 1968] a $7,1 \times 10^6$ až $6,5 \times 10^7$ spór *Beauveria brongiarthi* pro *Plutella maculipennis* [Robert a Merchal, 1980] mohou tento názor nepřímo potvrzovat.

Literatura

- BAILEY, L.: The effect of temperature on the pathogenicity of the fungus *Ascosphaera apis*, for larvae of the honey bee, *Apis mellifera*. In: LAAN, P. A. van der (Ed.): Insect pathology and microbial control. Amsterdam, North Holland 1967, s. 162-167.
- CROWLE, A. J.: Immunodiffusion. New York, Academic Press 1973.
- GILLIAM, M.: Chalkbrood. Status today and hopes for control. Amer. Bee J., 118, 1978a, s. 468-471.
- GILLIAM, M.: Fungi. In: MORSE, R. A. (Ed.): Honey bee pests, predators, and diseases. Ithaca and London, Cornell University Press 1978b, s. 78-101.
- GILLIAM, M. — TABER, S. — ROSE, J. B.: Chalkbrood disease of honey bees, *Apis mellifera* L.: a progress report. Apidologie, 9, 1978, s. 75-89.
- GLIŃSKI, Z.: Studies on the effect of the fungus *Ascosphaera apis* on larvae of the honey bee, *Apis mellifera* L. Pol. Arch. veter., 23, 1981, s. 9-15.
- GLIŃSKI, Z. — CHMIELEWSKI, M.: Badania nad patogennością *Ascosphaera apis* dla czerwia pszczoły miodnej *Apis mellifera* L. Część II. Zależność między typami biochemicznymi a zjadliwością. Ann. Univ. M. Curie-Skłodowska, Sect. DD, 37, 1982, s. 69-77.

- GOCHNAUER, T. A. — MARGETTS, V. J.: Properties of honeybee larvae killed by chalkbrood disease. J. apicult. Res., 18, 1979, s. 212-216.
- HEATH, L. A. F.: The chalk brood pathogens: a review. Bee Wld., 63, 1982, s. 130-135.
- HEATH, L. A. F.: Occurrence and distribution of chalk brood disease of honeybees. Bee Wld., 66, 1985, s. 9-15.
- HERBERT, E. W. jr. — CHITWOOD, D. J. — SHIMANUKI, H.: New compounds with potential for the control of chalkbrood. Amer. Bee J., 125, 1985, s. 430-431.
- CHMIELEWSKI, M.: Studies on the pathogenicity of *Ascosphaera apis* for the honey bee brood, *Apis mellifera* L. [Doct. Diss.] Lublin 1981. — Agricultural University.
- CHMIELEWSKI, M.: Badania nad przydatnością precypitacji dyfuzyjnej w żelu agarowym w identyfikacji *Ascosphaera apis*. Ann. Univ. M. Curie-Skłodowska, Sect. DD, 37, 1982, s. 79-92.
- CHRISTENSEN, M. — GILLIAM, M.: Notes on the *Ascosphaera* species inciting chalkbrood in honey bees. Apidologie, 14, 1983, s. 291-297.
- KOENIG, J. P. — BOUSH, G. M. — ERICKSON, E. H. jr.: Old comb may contribute to chalkbrood disease. Amer. Bee J., 126, 1986, s. 191-192.
- KOWALSKA, M.: Badania nad właściwościami biologicznymi i strukturą antygenową *Ascosphaera apis*. [Doct. Diss.] Lublin 1978. — Agricultural University.
- LITCHFIELD, J. Z. — WILCOXON, F.: A simplified method of evaluating dose-effect experiments. J. Pharmacol. exp. Therap., 96, 1949, s. 89-94.
- MEHR, Z. — MENAPACE, D. M. — WILSON, W. T. — SACKETT, R. R.: Studies on the initiation and spread of chalkbrood within an apiary. Amer. Bee J., 118, 1976, s. 226-228.
- MILNE, C. P. jr.: Honey bee (*Hymenoptera: Apidae*) hygienic behavior and resistance to chalkbrood. Ann. ent. Soc. Amer., 76, 1983, s. 384-387.
- NELSON, D. L. — GOCHNAUER, T. A.: Field and laboratory studies on chalkbrood disease of honey bees. Amer. Bee J., 122, 1982, s. 29-32.
- OUCHTERLONY, O.: Handbook of immunodiffusion and immunoelectrophoresis. Ann. Arbor, Michigan, Ann. Arbor Science Pub. 1968.
- PARIS, S. — SEGRETAIN, G.: Caractères physiologiques de *Beauveria tenella* en rapport avec la virulence des souches de ce champignon pour la larve de Hanneton commun, *Melolontha melolontha*. Entomophaga, 20, 1975, s. 135-138.
- PERKUL, A. — GRULA, E. A.: Mode of infection of the corn earworm (*Heliothis zea*) by *Beauveria bassiana* as revealed by scanning electron microscopy. J. Invertebr. Path., 34, 1979, s. 238-247.
- ROBERT, P. — MERCHAL, M.: Utilisation des larves de *Plutella maculipennis* (*Lep. Hyponomeutidae*) comme insect-test des divers hyphomycètes entomopathogènes (*Fungi Imperfecti*). Entomophaga, 25, 1980, s. 83-87.
- SPIILTOIR, C. F. — OLIVE, L. S.: A reclassification of the genus *Pericystis* Betts. Mycologia, 47, 1955, s. 238-244.
- THURBER, P. F.: Chalk brood. Amer. Bee J., 118, 1979, s. 605-606, 608.
- VEEN, K. H.: Recherches sur la maladie, due a *Metarrhizium anisopliae*, chez le criquet pèlerin. Madedelingen Landbouwhogeschool Wageningen, 68, 1968, s. 1-33.

Došlo dne 26. 1. 1987

ГЛИНЬСКИ, З. — ХМИЛЕВСКИ, М. (Лаборатория для исследования заболевания пчел, Сельскохозяйственный институт Люблин, Польша): *Ascosphaera apis*, вирулентность, биохимические и серологические типы. Veter. Med. (Praha), 34, 1989 (2) : 113-119.

Штаммы *Ascosphaera apis* изолированные из личинок *Apis mellifera* погибших от заболевания под названием известковый расплод из пчелосемей в разных областях Польши отличаются своей вирулентностью по отношению молодых личинок медоносной пчелы инфицированной через ротовой аппарат грибом. Между десятью известными биохимическими типами было установлено восемь высоковирулентных типов. Анализ значений ЛД₅₀ данного патогенного гриба, его антигенной структуры и биохимических свойств показывает на недостаток хорошо определенных взаимоотношений между параметрами характеризующими биологическую активность патогена вызывающего заболевание под названием известковый расплод.

Apis mellifera; известковый расплод; пчелосемьи; патогенные грибы

GLIŃSKI, Z. — CHMIELEWSKI, M. (Laboratory for Research on Bee Diseases, University of Agriculture, Lublin, Poland): *Ascosphaera apis*: Virulence, Biochemical and Serological Types. Veter. Med. (Praha), 34, 1989 (2) : 113-119.

The strains of *Ascosphaera apis*, isolated from the larvae of *Apis mellifera* that died due to chalk brood in colonies kept in different parts of Poland, vary in their virulence to young larvae of the honey bee infected *per os* with the fungus. Eight highly virulent types were identified among the ten known biochemical types. Analysis of the LD₅₀ values of this pathogenic fungus, of its antigenic structure and biochemical characteristics suggests that there is a lack of well defined relationships between the parameters that characterize the biological activity of the pathogen responsible for the chalk brood.

Apis mellifera; chalk brood; bee colonies; pathogenic fungus

GLIŃSKI, Z. — CHMIELEWSKI, M. (Laboratorium für Untersuchungen von Bienenkrankheiten, Landwirtschaftliche Hochschule, Lublin, Polen): *Ascosphaera apis*, Virulenz, biochemische und serologische Typen. Veter. Med. (Praha), 34, 1989 (2) : 113-119.

Die aus den infolge von Brutverkalkung aus Bienenvölkern in verschiedenen Gebieten in Polen gestorbenen Larven *Apis mellifera* isolierten Stämme *Ascosphaera apis* unterscheiden sich durch ihre Virulenz für junge mit Pilz peroral infizierte Bienenlarven. Unter 10 bekannten biochemischen Typen gibt es 8 hochvirulente Typen, die im Rahmen der vorliegenden Arbeit erfasst wurden. Die Analyse der LD₅₀-Werte dieses pathogenen Pilzes, seiner antigenen Struktur und der biochemischen Eigenschaften deutet auf einen Mangel an gut definierten Beziehungen zwischen den die biologische Aktivität des die Brutverkalkung verursachenden Pathogens charakterisierenden Parametern hin.

Apis mellifera; Brutverkalkung; Bienenvölker; pathogener Pilz

Adresa autorů:

Prof. Dr. habil. Zdzisław Gliński, M. Chmielewski, Laborator pro výzkum onemocnění včel, Zemědělská univerzita Lublin, Akademicka 12, 20-033 Lublin, Polsko

Upozorňujeme čtenáře, že v čísle 3/89 časopisu

VETERINÁRNÍ MEDICÍNA

mají být uveřejněny články:

- J. Klimeš, J. Bouška, J. Bouda, M. Dostálová, J. Toth: Vliv subklinické ketózy zaprahých krav na složení kolostra a na ukazatele zdraví novorozených telat
- A. Bomba, V. Kmeť, I. Koniarová, Š. Ivan, Z. Čerešňáková: Produkcia unikavých mastných kyselín v bachore teliat pri dieteticko-mikrobiálnej stimulácii a skrátenom odstave
- F. Mazura: Bakteriologické nálezy ze vzorků mléka krav vyšetřených na původce mastitid
- M. Kudweis, Z. Lojda, J. Vítovec, B. Koudela, J. Štěrbá: Úroveň aktivity alkalické fosfatázy během infekce kokcií *Isospora suis* u selat
- L. Massanyi: Hodnotenie pohyblivosti kančích spermii komputrovou technikou
- B. Pástorová, J. Arendarčík: Vplyv proťahovanej expozície gama-žiarenia a hormonálnej stimulácie sérovým gonadotropínom na hladiny katecholamínov v hypotalame, epifýze a v nadobličkách oviec
- J. Kinkorová, J. Prokopič: Primární anthelmintický screening na vývojová stadia L4 a L5 plicnivky *Dictyocaulus viviparus* u morčat
- M. Prosbová: Ústředná knižnica a štúdijno-informačné stredisko Vysokej školy veterinárskej v Košiciach

VÝSKYT LEPTOSPIROVÝCH PROTILÁTEK U PSŮ BRNĚNSKÉ A MIMOBRNĚNSKÉ AGLOMERACE

F. Tremel, K. Hejlíček, M. Svoboda, K. Mahelková

TREML, F. — HEJLÍČEK, K. — SVOBODA, M. — MAHELKOVÁ, K. (Vysoká škola veterinární, Brno; Městská veterinární nemocnice, Brno): *Výskyt leptospirových protilátek u psů brněnské a mimobrněnské aglomerace*. Veter. Med. (Praha), 34, 1989 (2) : 121-128.

Sérologicky reakcí mikroaglutinace lýze (RMAL) s 12 kmeny leptospir bylo vyšetřeno 1272 krevních sér psů, kteří přicházeli kvůli různému ošetření na ambulantní provoz veterinární nemocnice. Ve vyšetřovaném souboru byla zjištěna vyšší promořenost u psů mimoměstské aglomerace (14,08 %) než u psů z města (7,96 %). Značná promořenost je prokazována u psů pracovních plemen (13,47 %). Častější výskyt je zjišťován v závislosti na pohlaví: psi (10,99 %), feny (7,22 %). V závislosti na věku psů byla zjišťována nejnižší promořenost u psů do jednoho roku věku. Samostatné signifikantní titry byly prokazovány s leptospirami sérologické skupiny *Grippotyphosa*, *Icterohaemorrhagiae*, *Sejroe*, *Australis* (*L. bratislava*). Reakce s leptospirami ostatních skupin byly zjišťovány pouze v nízkých titrech, a to jako koaglutinace při současně vyšších titrech s leptospirami skupiny *Grippotyphosa* a *Icterohaemorrhagiae*.

sérologie; protilátky; titry; leptospiry

Leptospiróza je nákaza s přírodní ohniskovostí a zároveň významná zoonóza. Hlavním rezervoárem a zdrojem patogenních leptospir jsou volně žijící drobní obratlovci. Z domácích zvířat je přisuzována v mnoha státech významná úloha při šíření leptospirózy především psům, prasatům a skotu [Gratzl, 1957; Anjanin, 1971; Sosov, 1974 a jiní].

Byl to právě pes, u kterého byla leptospiróza poprvé popsána již v roce 1852. V dalších letech různé práce věnované problematice leptospirózy psa ukázaly, že pes — kromě toho, že je hlavním rezervoárem leptospir sérologické skupiny *Canicola* — se může infikovat i leptospirami jiných sérologických skupin, např. *Grippotyphosa*, *Icterohaemorrhagiae*, *Sejroe* aj. [Freudiger, 1955; Halaša aj., 1969; Wurst, 1975].

Vnímavost psa k leptospirám různých sérologických skupin, ale i jeho způsob života, tj. volný pohyb v přírodě ať již z hlediska pracovního nebo loveckého nasazení, jakož i vrozený pud lovit drobné savce a také pít vody z louží a rybníků, vytvářejí předpoklady, že se u psů budou zjišťovat protilátky proti leptospirám, které cirkulují v přírodních ohniscích sledované oblasti, jak uvádí Wurst [1975].

Zaměřili jsme se na zjištění etiologické struktury a výskytu protilátek proti leptospirám u psů přicházejících k ošetření do veterinární nemocnice z města Brna a blízkého okolí. Záměrem práce bylo ověřit

u většího souboru, zda existují rozdíly mezi promořeností u psů pocházejících z města a z okolí, zjistit, která plemena psů jsou nejvíce vystavena infekci a zda existuje větší expozice k infekci podle pohlaví a věkové struktury.

MATERIÁL A METODA

Vyšetření jsme prováděli ve spolupráci s pracovníky MěNV Brno a I. interní kliniky VŠV Brno. Krev byla získávána od psů, kteří přicházeli k různému ošetření na ambulantní provoz veterinární nemocnice a I. interní kliniky. Ani v jednom z uvedených případů nebylo podle klinických příznaků vysloveno podezření na leptospirozu.

Celkem bylo vyšetřeno 1272 krevních sér psů 44 plemen a kříženců. Psi 44 plemen byli pak rozděleni do pěti skupin podle jejich společenského využití. Rozdělení odpovídá klasifikaci uvedené v knize Atlas plemen psů z roku 1981. Z celkového počtu bylo 746 krevních sér psů a 526 krevních sér fen. Z brněnské aglomerace pocházelo 988 krevních sér a 284 pocházelo z mimobrněnské oblasti.

Na přítomnost protilátek proti leptospirám jsme vyšetřovali podle standardní metodiky (Šebek, 1979). K reakci aglutinace lýzy bylo použito 12 živých kmenů leptospir patřících k 12 sérologickým skupinám (tab. I). Séra reagující v základním ředění 1 : 100 byla vyšetřována s příslušným kmenem do titru.

VÝSLEDKY

Výsledky vyšetření jsou shrnuty v tab. II až IV a v obr. 1 až 2.

V tab. II jsou shrnuty výsledky celkového vyšetření a výsledky vyšetření podle pohlaví. Z tabulky je patrné, že specifické protilátky proti leptospirám byly prokázány při vyšetření ve 120 případech, tj. v 9,43 %. Nejčastěji byly protilátky proti leptospirám prokazovány u psů pracovních plemen, a to v 71 případech, tj. v 59,2 % z pozitivních. Při srovnání výskytu protilátek proti leptospirám s ohledem na pohlaví je zřejmá vyšší promořenost psů (10,99 %) než fen (7,22 %), ($p > 0,01$).

I. Sérologické skupiny, sérovary a kmeny leptospir použité v diagnostice — Serological groups, serovars and strains of the leptospira used in the diagnosis

Sérologická skupina	Sérologická varianta	Standardní kmen
I. <i>Grippytyphosa</i>	<i>L. grippytyphosa</i>	P 125
II. <i>Icterohaemorrhagiae</i>	<i>L. icterohaemorrhagiae</i>	Fryšava
III. <i>Sejroe</i>	<i>L. sejroe</i>	M 84
IV. <i>Canicola</i>	<i>L. canicola</i>	Canis 7
V. <i>Australis</i>	<i>L. bratislava</i>	Jež Bratislava
VI. <i>Pomona</i>	<i>L. pomona</i>	Šimon
VII. <i>Ballum</i>	<i>L. arboreae</i>	M 7
VIII. <i>Bataviae</i>	<i>L. bataviae</i>	Moldava
IX. <i>Autumnalis</i>	<i>L. bulgarica</i>	Nikolaev
X. <i>Javanica</i>	<i>L. sorex-jalna</i>	Sorex-Jalna
XI. <i>Tarassovi</i>	<i>L. tarassovi</i>	S 42
XII. <i>Pyrogenes</i>	<i>L. pyrogenes</i>	Salinem

II. Výsledky sérologického vyšetření krevních sér psů různých plemen na leptospirózu celkem a podle pohlaví — Results of a serological examination of the blood serums of dogs of different breeds for leptospirosis: total and in the two sexes

Plemena	♂			♀			Celkem		
	n	+	%	n	+	%	n	+	%
Pracovní plemena	334	52	15,56	193	19	9,84	527	71	13,47
Lovecká plemena	104	8	7,69	95	3	3,15	199	11	5,52
Společenská plemena	72	6	8,33	56	6	10,71	128	12	9,37
Teriéři	40	2	5,00	35	5	14,28	75	7	9,33
Chrti	7	0	0,00	6	0	0,00	13	0	0,00
Kříženci	189	14	7,40	141	5	3,54	330	19	5,75
Celkem	746	82	10,99	526	38	7,22	1272	120	9,43

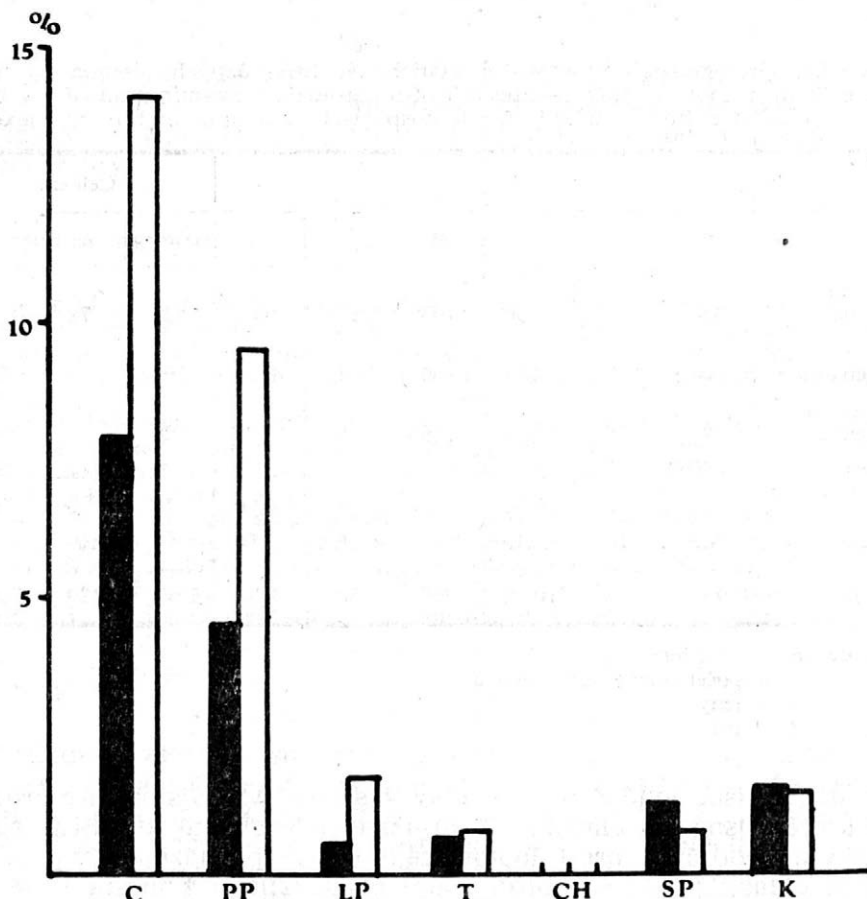
Vysvětlivky: n — vyšetřeno
 + — počet pozitivních výsledků
 ♀ — feny
 ♂ — psi

V tab. III jsou vyjádřeny výsledky vyšetření v závislosti na prostředí, ve kterém jsou psi chováni. Z dosažených výsledků je patrný rozdíl ve výskytu protilátek proti leptospirám u psů pocházejících z mimobrněnské oblasti (14,08 %) proti psům pocházejícím z města (7,69 %), ($p > 0,01$). Ještě výrazněji je tento rozdíl zřejmý z obr. 1, z něhož vyplývá, že výskyt protilátek proti leptospirám u psů z mimobrněnské lo-

III. Výsledky vyšetření krevních sér psů městské a mimoměstské aglomerace na přítomnost leptospirových protilátek — Results of the examination of blood serums for the presence of antibodies to the leptospira in dogs coming from the city and from the outskirts

Plemena	Město			Okolí		
	n	+	%	n	+	%
Pracovní plemena	395	44	11,13	132	27	20,45
Lovecká plemena	139	5	3,59	60	4	8,33
Společenská plemena	116	10	8,62	12	2	16,66
Teriéři	61	6	9,83	14	2	14,28
Chrti	9	0	0,00	4	0	0,00
Kříženci	268	15	5,59	62	4	6,45
Celkem	988	80	7,96	284	40	14,08

Vysvětlivky: n — vyšetřeno
 + — počet pozitivních výsledků

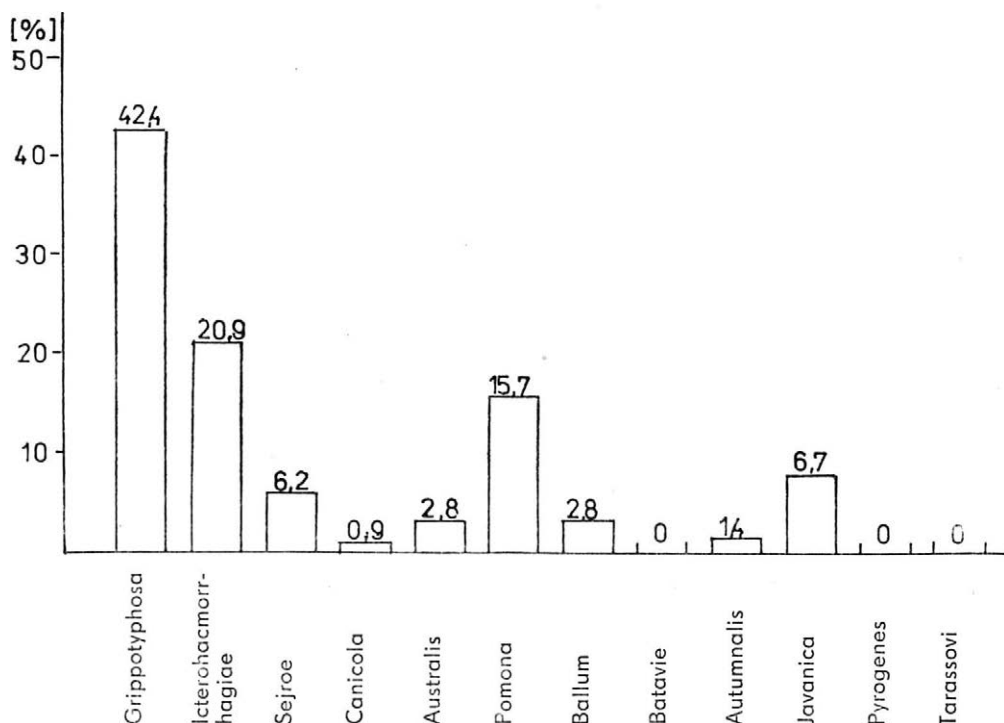


1. Výskyt sérologických reakcí při vyšetření na leptospirozu u psů městské a mimo-městské aglomerace (■ město, □ okolí, C — celkem, PP — pracovní plemena, LP — lovecká plemena, T — teriéři, CH — chrti, SP — společenská plemena, K — kříženci) — Occurrence of serological reactions during an examination for leptospirosis in dogs from the city and from the outskirts (■ city, □ outskirts, C — total, PP — service breeds, LP — sporting dogs, T — terriers, CH — greyhounds, SP — social breeds, K — crossbreds)

IV. Výskyt protilátek proti leptospirám v závislosti na věku psů — Occurrence of antibodies to the leptospira, as depending on the age of the dogs

Věk	n	+	%
Do 1 roku	254	10	3,93
1–2 roky	106	12	11,32
2–3 roky	124	13	10,48
3–4 roky	103	15	14,56
4–10 roků	412	49	11,89
Starší než 10 roků	273	21	7,69
Celkem	1272	120	9,43

Vysvětlivky: n — vyšetřeno
+ — počet pozitivních výsledků



2. Frekvence výskytu jednotlivých sérologických skupin leptospir při sérologickém vyšetření krevních sér psů na leptospirozu — Frequency of occurrence of the different serovars of leptospira as recorded during a serological examination of the blood serums of dogs for leptospirosis

kality je zhruba dvojnásobný proti výskytu u psů z města. Výrazné výsledky jsou prokazovány především u psů pracovních plemen (9,50 % proti 4,45 %), zatímco u ostatních skupin rozdíly ve výskytu protilátek tak výrazné nebyly. Při vyšetření nebyly prokázány protilátky proti leptospirám v krevních sérech chrtů.

Tab. IV shrnuje výsledky vyšetření krevních sér psů na přítomnost protilátek proti leptospirám vzhledem k jejich věkové struktuře. Z tabulky je patrné, že nejméně jsou leptospirózní infekci vystaveni psi do jednoho roku věku (3,93 %), zatímco v dalších věkových kategoriích již tak výrazné rozdíly nejsou pozorovány; výskyt protilátek byl zjišťován od 7,69 % u psů starších než deset let do 14,56 % u psů tříletých až čtyřletých.

Frekvence leptospir jednotlivých sérologických skupin podílejících se na prokazovaných reakcích je nejlépe patrna z obr. 2. Z obrázku je zřejmé, že dominantní postavení v reakcích mají protilátky proti leptospirám sérologické skupiny *Grippityphosa* (42,4 %) a *Icterohaemorrhagiae* (20,9 %), zatímco leptospiry ostatních sérologických skupin se na reakcích podílejí pouze ojediněle a velmi často dochází i ke koaglutinacím při současně vyšších titrech uvedených sérologických skupin leptospir. Je tomu tak např. při výskytu protilátek proti leptospirám sérologické skupiny *Pomona*, která koaglutinuje s leptospirami sérologické skupiny *Grippityphosa*, nebo leptospir skupiny *Javanica*, která koaglutinuje se skupinou *Icterohaemorrhagiae* apod. Tyto koaglutinace jsou

pravděpodobně vyvolány společnými parciálními antigeny, které se uplatňují v reakci především při nízkém ředění séra. U vyšetřovaných sér psů ani v jednom případě nebyly prokazovány specifické protilátky s leptospirami sérologických skupin *Bataviae*, *Tarassovi* a *Pyrogenes*.

Vyšetřovaná séra reagovala v rozmezí titru 100 až 6400. Nejvyšší procento reakcí bylo zaznamenáno v titru 100, kdy byly reakce zjištěny v 30,9 %. Ve vysokých titrech byly reakce prokazovány pouze ojediněle (1,4 %) a zjištěné protilátky byly proti leptospirám sérologické skupiny *Grippytyphosa* a *Icterohaemorrhagiae*.

DISKUSE

Zjišťovali jsme výskyt a etiologickou strukturu leptospirových protilátek v závislosti na věku a pohlaví psů pocházejících z městské aglomerace a mimoměstské lokality, kteří přicházeli za různým účelem ošetření do veterinární nemocnice v Brně.

V souboru vyšetřovaných psů jsme zjistili výskyt protilátek proti leptospirám devíti sérologických skupin ve 120 případech, tj. v 9,43 %. Signifikantní reakce byly prokazovány s leptospirami sérologické skupiny *Grippytyphosa* (42,4 %), *Icterohaemorrhagiae* (20,9 %), *Sejroe* (6,2 %) a *Australis* (*L. bratislava* — 2,8 %). Protilátky proti leptospirám ostatních sérologických skupin byly prokazovány v nízkých titrech pouze jako koaglutinace s uvedenými sérologickými skupinami leptospir. Zjištěný výskyt protilátek proti leptospirám u psů je obdobný s etiologií leptospirozy lidí, ale i ostatních druhů domácích zvířat v rámci ČSR (Pejšová, 1984; Šebek, 1984). Pes se tady stává pouze potencialem rezervoárem leptospir těchto sérologických skupin a pravděpodobně nemá podstatný význam při šíření nákazy. Jako hlavní rezervoáry leptospir uvedených sérologických skupin byli totiž u nás zjištěni volně žijící drobní obratlovci (Šebek, 1985). K infekci psů pak dochází pouze při vzájemném kontaktu s rezervoárovými zvířaty nebo jimi kontaminovaným prostředím. Tak si také můžeme vysvětlit i rozdíl zjištěný mezi vyšším výskytem protilátek proti leptospirám u psů mimoměstské lokality, u nichž je pravděpodobný kontakt s rezervoárovými zvířaty, a výskytem u psů pocházejících z města. V dřívějších letech již na tuto skutečnost poukazovali např. Borg-Petersen a Fennestad (1962) v Dánsku a Wurst (1975) u nás. Autoři upozorňují také na to, že frekvence a etiologická struktura prokazovaných leptospirových protilátek je přímo závislá na prostředí, ve kterém pes žije, a že mezi venkovskými a městskými psy je v promoření podstatný rozdíl.

Pokud jde o frekvenci výskytu protilátek proti leptospirám ve vztahu k pohlaví, byla tato problematika dříve sledována hlavně v souvislosti s infekcí leptospirami sérologické skupiny *Canicola*. Freudiger (1955), jakož i Anjanin a Karaseva (1961) uvádějí, že psi jsou infikováni častěji než feny. Vzhledem k tomu, že se infekce leptospirami skupiny *Canicola* v současné době na našem území nevyskytuje, nemůžeme k uvedenému poznatku zaujmout odpovídající stanovisko. Obdobná šetření, jako jsou naše, publikovali Šebek (1961) a Wurst (1975). Na rozdíl od nás neprokazovali tyto autoři podstatné rozdíly v promořenosti psů a fen. V našich šetřeních byl ve výskytu protilátek proti leptospirám u psů a fen prokázán rozdíl statisticky význam-

ný (psi 10,99 %, fený 7,22 %). Při hodnocení dosažených výsledků však musíme brát v úvahu, že značné procento námi vyšetřovaných fen pocházelo z městské aglomerace. Tím byla do značné míry omezena možnost kontaktu s rezervoárovými zvířaty v prostředí, a zřejmě proto je procentuální výskyt protilátek nižší.

Při sledování závislosti výskytu protilátek ve vztahu k věkové struktuře psů jsme prokázali, že frekvence výskytu leptospirových protilátek stoupá s narůstajícím věkem. Nejméně jsou vystaveni leptospirové infekci psi mladých věkových kategorií, a to především psi ve věku do jednoho roku. I zde patrně hraje důležitou úlohu závislost na prostředí. U psů mladších věkových kategorií nedochází k tak častému pobytu v zamořeném prostředí, aby se to negativně odrazilo v pozitivní protilátkové odezvě. Tyto výsledky korespondují s údaji, které již dříve publikovali někteří zahraniční i naši autoři (Borg-Petersen a Fennestad, 1962; Šebek, 1961 a jiní).

Při sledování výskytu protilátek proti leptospirám u psů lze konstatovat, že psi jsou vnímaví k infekci leptospirami různých sérologických skupin. Frekvence leptospirových protilátek stoupá s narůstajícím věkem a je přímo závislá na prostředí, ve kterém pes žije nebo do kterého je pracovní nasazen, a dále na přítomnosti rezervoárových zvířat v tomto prostředí.

Za podstatné také považujeme, že infekce uvedenými sérologickými skupinami leptospir nevyvolává v našich podmínkách u psů klinické projevy onemocnění. Na podkladě zjištěných výsledků sérologického vyšetření je však zřejmé, že leptospiroza jako samostatné onemocnění se vyskytuje častěji, než je klinicky diagnostikována. Na druhé straně ovšem není vhodné výsledky sérologických vyšetření přeceňovat. Jednorázové sérologické vyšetření nemůže být spolehlivým kritériem pro potvrzení diagnózy — akutní leptospiroza.

Klinická diagnostika onemocnění je velmi obtížná, s typickými příznaky se setkáváme snad jen při akutním průběhu onemocnění. Kromě toho jsou klinické projevy závislé i na mnoha dalších okolnostech, hlavně na věku a výživném stavu zvířete, ale i na množství a virulenci leptospir, které infekci vyvolávají. Proto se také např. můžeme setkávat s výskytem protilátek proti leptospirám skupiny *Icterohaemorrhagiae*, aniž bychom zjišťovali klinické projevy onemocnění, přestože je známo, že infekce leptospirami této sérologické skupiny vyvolává u zvířat a lidí nejvýraznější klinické projevy.

Literatura

- ANJANIN, V. V.: Leptospiroz lidí i životných. Moskva, Izd. Medicina 1971. 352 s.
ANJANIN, V. V. — KARASEVA, E. V.: Prirodnaja očagovost leptospirozov. Moskva 1961. 370 s.
BORG-PETERSEN, C. — FENNESTAD, K. L.: Incidence of canine leptospirosis in Denmark. Nord. Veter.-Med., 14, 1962, s. 609-619.
FREUDIGER, U.: Zur Leptospirose des Hundes. Epidemiologie, Serologie, pathologische Anatomie, Klinik und Pathogenese. [Habil.] Bern 1955. 121 s. — Schleiff. Univ.
GRATZL, E.: Beobachtungen über die Leptospirose bei Hunden in Wien. Zentbl. Veter.-Med., 4, 1957, s. 945-966.
HALAŠA, M. — PLEŠKO, I. — HRÚZIK, J.: Leptospirozy zvierat a ľudí. Bratislava, SVPL 1969. 175 s.

PEJŠOVÁ, M.: Surveillance leptospirozy. Surveillance antropozoonóz ČSR, 1984, s. 108-123.

SOSOV, R. F.: Leptospiroz. In: Infekcionnye bolezni krupnogo rogatogo skota. Moskva 1974, s. 294-309.

ŠEBEK, Z.: Standardní metoda laboratorní diagnostiky leptospirozy. Acta hyg. epidem. microbiol., příloha č. 2, 1979, 18 s.

ŠEBEK, Z.: Leptospiroza u psů na Českomoravské vysočině v letech 1956-1958. Vlastiv. Sbor. Vysočiny, Odd. Věd přír., 5, 1961, s. 151-159.

ŠEBEK, Z.: Surveillance leptospirozy. Surveillance antropozoonóz ČSR, 1984, s. 108-123.

ŠEBEK, Z.: Problematika přírodní ohniskovosti, epizootologie a epidemiologie leptospiroz v ČSR. Veterinářství, 35, 1985, s. 512-544.

WURST, Z.: Sérotypová etiologie leptospirozy psů v ČSR a možnost jejího využití jako indikátoru přírodní ohniskovosti leptospirozy. [Disertační práce.] Pardubice 1975, 100 s.

Došlo dne 19. 4. 1988

ТРЕМЛ, Ф. — ГЕЙЛИЧЕК, К. — СВОБОДА, М. — МАГЕЛКОВА, К. (Ветеринарный институт, Брно; Городская ветеринарная больница, Брно): Появление лептоспирозных антител у собак брненской и небрненской агломерации. Veter. Med. (Praha), 34, 1989 (2) : 121-128.

Серологически реакцией микроагглютинации бешенства с 12-ью штаммами лептоспир было обследовано 1272 кровяных сывороток собак, которые поступали в ветбольницу из-за разного амбулаторного лечения. В обследуемом наборе установили большую встречаемость у собак негородской агломерации (14,08 %), чем у собак городского происхождения (7,96 %). Большая встречаемость подтверждается у собак рабочих пород (13,47 %). Более частое появление устанавливается в зависимости от пола: кобели (10,99 %), суки (7,22 %). В зависимости от возраста собаки устанавливали самую низкую встречаемость у кобелей до одного года возраста. Самостоятельные значительные титры доказывали с лептоспирами серологические группы *Grippytyphosa*, *Icterohaemorrhagiae*, *Sejroe*, *Australis* (*L. bratislava*). Реакция с лептоспирами остальных групп устанавливались только в низких титрах. Причем в виде коагглютинации при одновременно более высоких титрах с лептоспирами группы *Grippytyphosa* и *Icterohaemorrhagiae*.

серология; антитела; титры; лептоспиры

TREML, F. — HEJLIČEK, K. — SVOBODA, M. — MAHELKOVÁ, K. (University of Veterinary Medicine, Brno; Municipal Veterinary Hospital, Brno): The Occurrence of *Leptospira* Antibodies in Dogs in the Brno Agglomeration and outside the City. Veter. Med. (Praha), 34, 1989 (2) : 121-128.

A serological examination by the microagglutination reaction of lysis (RMAL) was performed with 12 leptospira strains to investigate 1272 blood serums of dogs coming for various kinds of treatment to the outpatient ward of the veterinary hospital. The higher infestation rate was recorded in the dogs from outside the city (14.08 %) than in the city dogs (7.96 %). A considerably high infestation was found in the dogs of the service breeds (13.47 %). The males were infested more frequently (10.99 %) than the bitches (7.22 %). As for age, young dogs until the age of one year were found to be infested more frequently. Separate significant titres were demonstrated with the leptospira of the *Grippytyphosa*, *Icterohaemorrhagiae*, *Sejroe*, and *Australis* (*L. bratislava*) serological groups. Reactions with the leptospira of other groups were recorded only at low titres: they were as coagglutinations with parallel high-titre reactions with the leptospira of the *Grippytyphosa* and *Icterohaemorrhagiae* groups.

serology; antibodies; titres; leptospira

Adresy autorů:

Doc. MVDr. František Tremel, CSc., prof. MVDr. Karel Hejliček, DrSc., MVDr. Miroslav Svoboda, CSc., Vysoká škola veterinární, Palackého 1-3, 612 42 Brno

MVDr. Květoslava Mahelková, Ústřední státní veterinární nemocnice, Palackého 1-3, 612 00 Brno

CONTENTS

Bouška J., Klimeš J., Jagoš P., Minksová E.: Dynamics of the Clinico-biochemical Parameters of Cows with Ketonuria in the Dry Standing and Post-partum Period	65
Rajtová V., Odehnal F.: Ependymal Epithelium of the Infundibular Recession of the Males and a Hermaphrodite of Small Ruminants under Scanning Electron Microscope	79
Kriváňová M., Zelenák I.: RUSITEC — Fermentation Equipment for the Study of Digestion Processes in Ruminants	89
Rybníkář A., Chumela J., Vrzal V.: The Rise of Immunity after Cattle Vaccination against Trichophytosis	97
Mádr P., Tlaskalová-Hogenová H., Dvořák P.: Semiquantitative Determination of IgM Concentrations in Porcine Serum by the Dot Immunobinding Assay on Nitrocellulose	101
Tokošová M.: The Effect of Growth Promoters on the Contents of Microelements in the Organism of Chicks	107
Gliński Z., Chmielewski M.: <i>Ascosphaera apis</i> : Virulence, Biochemical and Serological Types	113
Treml F., Hejliček K., Svoboda M., Mahelková K.: The Occurrence of Leptospira Antibodies in Dogs in the Brno Agglomeration and outside the City	121

INHALT

Bouška J., Klimeš J., Jagoš P., Minksová E.: Dynamik klinisch-biochemischer Kennwerte bei Kühen mit Ketonurie im Zeitraum des Trockenstellens und nach dem Abkalben	65
Rajtová V., Odehnal F.: Ependymepithel des Infundibularrecessus männlicher Individuen und Hermaphroditismus kleiner Wiederkäuer im Elektronenrastermikroskop	79
Kriváňová M., Zelenák I.: RUSITEC — Fermentationsanlage zum Studium der Verdauungsprozesse bei Wiederkäuern	89
Rybníkář A., Chumela J., Vrzal V.: Ausbildung der Immunität nach Vakzination von Rindern gegen Trichophytose	97
Mádr P., Tlaskalová-Hogenová H., Dvořák P.: Semiquantitative Bestimmung des IgM-Niveaus im Serum von Schweinen mittels immunoenzymatischen Tröpfchentests auf Nitrozellulose	101
Tokošová M.: Einfluß von Wachstumsstimulatoren auf den Gehalt einiger Mikroelemente im Organismus von Kühen	107
Gliński Z., Chmielewski M.: <i>Ascosphaera apis</i> , Virulenz, biochemische und serologische Typen	113
Treml F., Hejliček K., Svoboda M., Mahelková K.: Vorkommen von Leptospiren-Antikörpern in der städtischen und außerstädtischen Agglomeration von Brno	121

Rukopisy odevzdány k tisku 7. 11. 1988 — Podepsáno k tisku 3. 1. 1989

Vědecký časopis VETERINÁRNÍ MEDICÍNA • Vydává Československá akademie zemědělská — Ústav vědeckotechnických informací pro zemědělství • Vychází měsíčně • Redaktorka ing. Jovanka Václavíková • 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 1989

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.