

VĚDECKÝ ČASOPIS



VETERINÁRNÍ MEDICÍNA

4

ROČNÍK 35 (LXIII)

PRAHA

DUBEN 1990

CENA 15 Kčs

CS ISSN 0375-8427

ČESKOSLOVENSKÁ AKADEMIE ZEMĚDĚLSKÁ
ÚSTAV VĚDECKOTECHNICKÝCH INFORMACÍ
PRO ZEMĚDĚLSTVÍ

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

Vedoucí redaktorka ing. Zdeňka Radošová

OBSAH

Mádr P., Benda V., Škardová O.: Stanovení protilátek proti zárodkům <i>Streptococcus agalactiae</i> v mléku dojníc testem ELISA	193
Nikitin V. F., Pavlásek I.: Nejdůležitější střevní parazitární nákazy telat a jejich role v etiologii průjemových onemocnění	201
Paulík Š., Vrzgula L., Bíreš J., Hojerová A., Nedvěd Z.: Úroveň fagocytární aktivity krvných leukocytov, koncentrácie sérových imunoglobulínov a albumínu po parenterálnej aplikácii zinku pri vakcinácii proti trichofytóze teliat	207
Kudweis M., Juliš I., Lojda Z., Vítovec J., Koudela B.: Morfo-metrická analýza aktivity alkalické fosfatázy v tenkém střevě selat infikovaných kokcií <i>Isospora suis</i>	217
Tokoš M., Tokošová M.: Vplyv ročného obdobia na ovariálnu odpoveď u oviec po podaní sérového gonadotropínu PMSG	231
Piskač A., Ruprich J., Halouzka R.: Účinek polychlorovaných bifenylů (PCB) na organismus kuřat: vliv krátkodobého příjmu vysokých dávek Deloru 103 na koncentraci thyroxinu, trijodthyroninu, sodíku, draslíku a vápníku v krevním séru	237
Rysińska J., Kołataj A., Stepkowska T., Świdorska G., Parkányi V., Rafay J.: Vplyv síranu horečnatého pri usmrtení králikov na aktivitu aldolázy v ich orgánoch	247
Sýkora J., Minář J., Petříková O., Vokoun P., Gojda M.: Výskyt protilátek proti borreliím u psů	251

СОДЕРЖАНИЕ

Мадр П., Бенда В., Шкардова О.: Назначение антител против зародышей <i>Streptococcus agalactiae</i> в молоке коров по тесту ЭЛИСА	193
Никитин В. Ф., Павласек И.: Важнейшие кишечные паразитарные заболевания телят и их роль в этиологии поносов	206
Паулик Ш., Врзгула Л., Биреш Й., Гоерова А., Недвед З.: Уровень фагоцитарной активности лейкоцитов крови, концентрация сывороточных иммуноглобулинов и альбумина после парентерального введения цинка с вакциной против трихофитоза телят	214
Кудвайс М., Юлиш И., Лойда З., Витовец Й., Коудела Б.: Морфометрический анализ активности щелочной фосфатазы в тощей кишке поросят, зараженных кокцидиями <i>Isospora suis</i>	227
Токош М., Токошова М.: Влияние времени года на овариальную реакцию овец после введения сывороточного гонадотропина PMSG	236
Пискач А., Руприх Й., Галоузка Р.: Воздействие полихлорированных бифенилов (PCB) на организм цыплят: влияние кратковременной дачи высоких доз Делора 103 на концентрацию тироксина, трийодтиронина, натрия, калия и кальция в сыворотке крови	245
Рысиньска Й., Колатай А., Степковска Г., Швидерска Г., Парканы В., Рафай Й.: Влияние сульфата магния при забое кроликов на активность альдолазы в их органах	250
Сыкора Я., Минарж Я., Петржикова О., Вокоун П., Гойда М.: Распространение антител против спирохетоза, вызванного боррелиями у собак	255

STANOVENÍ PROTILÁTEK PROTI ZÁRODKŮM *STREPTOCOCCUS AGALACTIAE* V MLÉKU DOJNIC TESTEM ELISA

P. Mádr, V. Benda, O. Škardová

MÁDR, P. — BENDA, V. — ŠKARDOVÁ, O. (Ústav fyziologie a genetiky hospodářských zvířat ČSAV, Praha-Uhřetěves; Ústřední státní veterinární ústav, Praha-Lysolaje): Stanovení protilátek proti zárodkům *Streptococcus agalactiae* v mléku dojníc testem ELISA. Veter. Med. (Praha), 35, 1990 (4) : 193-199.

S cílem rozšířit komplex metod určených pro diagnostiku mastitid jsme modifikovali citlivý čtyřvrstevný test ELISA pro stanovení protilátek proti zárodkům *Streptococcus agalactiae* v mléku dojníc. Antigen jsme vážali na pevnou fázi ve formě celých bakterií a mléko jsme testovali ředěné v poměru 1 : 10. Specifické protilátky navázané na antigen jsme označili prasečí protilátkou proti boviním imunoglobulinům a v další vrstvě králičí protilátkou proti prasečím imunoglobulinům konjugovanou s peroxidázou. Po vizualizaci testu a odečtení na fotometru jsme výsledky uvedli v procentech pozitivitu jako stonásobek podílu absorbance neznámého vzorku a pozitivní kontroly po odečtení negativní kontroly. Touto metodou jsme vyšetřili mléko celkem 36 dojníc ze tří různých chovů. Vzorky byly paralelně vyšetřovány bakteriologicky a cytologicky. V mléku dojníc s pozitivním nálezem *S. agalactiae* činila průměrná hladina protilátek, vyjádřená v procentech pozitivitu, 15,0 %, zatímco u bakteriologicky negativních zvířat pouze 6,2 %. Podle výsledků jednotlivých vyšetření jsme dojnice rozdělili do osmi skupin, které charakterizují různá stadia zánětů mléčné žlázy.

mastitida; test ELISA; *Streptococcus agalactiae*; protilátky; mléko

Infekční onemocnění mléčné žlázy u dojníc jsou pro svoji ekonomickou závažnost v centru pozornosti výzkumu v mnoha zemích. Jedná se o onemocnění multifaktoriální, zahrnující tři biosystémy: dojnici, infekční agens a vnější prostředí. Vznik mastitidy je tedy otázkou rovnováhy mezi přirozenými obrannými mechanismy mléčné žlázy a počtem a patogenitou mikroorganismů. Tato rovnováha může být narušena různými vnitřními a vnějšími faktory, např. vlivy ustájení, krmení, ošetřovatele, dojícího zařízení a dalšími (Klastrup, 1971). Poznání jednotlivých faktorů a jejich podílu na vzniku mastitid je podmínkou úspěšného tlumení tohoto onemocnění.

Jedním z významných původců mastitid u dojníc je *Streptococcus agalactiae*. Tento zárodek se množí v mléku a na epitelu mléčné žlázy, kde způsobuje především subakutní a chronické zánětlivé reakce s periodickými akutními vzplanutími. Incidence mastitid jím způsobených se zvyšuje s laktačním věkem dojníc (Jain, 1979). Vzhledem k tomu, že u chronicky postižených zvířat může být bakteriologické vyšetření negativní a počet somatických buněk nemusí překročit fyziologickou

hodnotu (Pearson aj., 1979), je složité zjistit skutečnou prevalenci tohoto onemocnění v chovu (Logan aj., 1982).

Za účelem spolehlivější diagnostiky mastitid se objevují snahy o průkaz specifických protilátek v mléku dojnic. Dříve používané sérologické metody pro hodnocení imunitní odpovědi na antigenní stimul v mléčné žláze byly relativně málo citlivé. Teprve zavedení imunoenzymatických testů překonává tento problém (Opdebeeck a Norcross, 1981, 1982). Logan aj. (1982) použili pro průkaz protilátek proti *S. agalactiae* v mléku dojnic čtyřvrstvenou metodu ELISA s několika násobně vyšší citlivostí než u dosud používaných metod a doporučil její použití, jako cenné diagnostické pomoci, v eradikačních programech. Opdebeeck a Norcross (1981) uplatnili tuto metodu při stanovení optimální koncentrace antigenu pro imunizaci dojnic. Logan aj. (1984) pomocí této metody monitorovali dynamiku imunitní odpovědi po intramamární infekci *S. agalactiae* u vakcinovaných a nevakcinovaných jalovic.

Naším cílem bylo modifikovat variantu tohoto testu pro naše podmínky, test zjednodušit a ověřit jeho případné použití v programu tlumení mastitid v ČSFR.

MATERIÁL A METODY

ZVÍŘATA

Do experimentu jsme náhodně vybrali 36 dojnic ze tří různých chovů. Chov A lze charakterizovat jako chov se špatnou úrovní hygieny, s 90% výskytem mastitid a s dojnicemi ve třetí nebo čtvrté laktaci. Pro chov B je typická dobrá úroveň péče o dojnice, 10% výskyt mastitid a dojnice jsou v první nebo druhé laktaci. Chov C má průměrnou úroveň hygieny, 25% výskyt mastitid a dojnice jsou v průměru ve druhé laktaci.

ODBĚR A ZPRACOVÁNÍ VZORKŮ

Vzorky mléka pro bakteriologické vyšetření jsme odebírali do sterilních zkumavek pět hodin po ranním dojení, po oddojení prvních stříků mléka, omytí vemene a ošetření hrotů struků éteralkoholem. Pro bakteriologické vyšetření jsme použili postupy, které stanovila Škardová (1983). Vzorky mléka pro cytologické a sérologické vyšetření jsme odebírali bezprostředně po odběru vzorků pro bakteriologické vyšetření.

Ke stanovení počtu somatických buněk v mléku jsme použili indol DNA filtr metodu (Urbanová aj., 1985).

Mléko v testu ELISA jsme použili naředěné v poměru 1:10 v PBS-T po odstranění tuku centrifugací.

V chovu A a B jsme k vyšetření odebírali čtvrtové vzorky, v chovu C vzorky směsné.

PŘÍPRAVA ANTIGENU

K přípravě antigenu byl použit kmen *S. agalactiae* izolovaný z mléka dojnice s klinickou mastitidou. Sérologickou typizací tohoto kmene byly vedle typového antigenu R zjištěny i kolonie netypovatelné běžnou sadou typových sér, doplněnou i o séra nových typů (IV, V, VI) a sérem kandidáta na nový typ 7271. Antigen byl připraven podobným způsobem, jaký popsali Logan aj. (1982). Kmen *S. agalactiae* byl kultivován v 5 ml Brain heart infusion (BHI, Difco) šest hodin při teplotě 37°C. Celý objem byl přenesen do 1000 ml BHI. Po 48hodinové inkubaci při teplotě 37°C byla bujónová kultura streptokoka devitalizována formalinem v konečné koncentraci 0,35% a potom odstředěna při 10 000x g po dobu 90 minut.

Získaný sediment byl resuspendován v 1000 ml 0,5M bikarbonátového pufru o pH 9,6. Antigen byl potom třikrát opakovaně zmrazován, rozmrazován a protřepáván. Po rozdělení do zkumavek po 1,5 ml jsme antigen skladovali při teplotě -20°C .

Jako kontrolní negativní antigeny pro test specifity jsme použili antigen *Brucella abortus* k pomalé aglutinaci (Bioveta, Ivanovice na Hané) a antigen *Erysipelothrix rhusiopathiae* z vakcíny Purakol (Bioveta Nitra).

METODA ELISA

V testu ELISA byly použity izolované prasečí imunoglobuliny proti bovinním imunoglobulinům (SWAB, ÚSOL Praha) a králičí imunoglobuliny proti prasečím imunoglobulinům, konjugované s peroxidázou (RASw-Px, ÚSOL Praha). K promývání a ředění nám sloužil fosfátový pufr s 0,05 % Tween 20 (PBS-T). Jako chromogen se nám osvědčil ortofenylendiamin (OPD, Lachema).

Pomocí boxové titrace jsme optimální ředění antigenu pro vazbu na pevnou fázi stanovili 1:100. Takto naředěný antigen v uhličitanovém pufru o pH 9,6 byl aplikován v množství 100 μl do jamek mikrotitračních destiček typ P (KOH-I-NOOR, Dalečín) a inkubován přes noc při teplotě 4°C . Jamky jsme potom třikrát promyli PBS-T a napipetovali do nich mléko naředěné v poměru 1:10 v množství 100 μl . Inkubace probíhala hodinu při teplotě 37°C . Po každé inkubaci jsme jamky pětikrát promyli PBS-T. Do promytých jamek bylo aplikováno 100 μl SwAB v koncentraci 0,5 mg $\cdot\text{ml}^{-1}$ na jednu hodinu při teplotě 20°C . Jako další vrstvu jsme do jamek přidali 100 μl RASw-Px v ředění 1:500 a nechali je navázat hodinu při teplotě 20°C . Test jsme vizualizovali 100 μl roztoku chromogenu OPD (0,5 mg $\cdot\text{ml}^{-1}$) se substrátem H_2O_2 v konečné koncentraci 0,03 %. Reakce probíhala ve tmě a po 15 minutách byla zastavena 100 μl roztoku H_2SO_4 . Absorbanci jsme měřili na spektrofotometru Uniskan Titertek II při 492 nm. Vzorky byly vyšetřovány v tripletech. Výsledky jsme interpretovali v procentech positivity podle vzorce

$$U-N : P-N \cdot 100 \%$$

kde: U — průměrná absorbance neznámého vzorku

P — absorbance pozitivní kontroly

N — absorbance negativní kontroly

Jako pozitivní kontrolu jsme použili sérum získané od dojnice infikované *S. agalactiae* bezprostředně po odeznění klinických příznaků. Nejvyšší ředění, při kterém sérum dávalo pozitivní reakci v testu ELISA, jsme stanovili na 1:4096. Jako negativní kontrola nám sloužilo sérum tříměsíčního telete. Obě kontroly jsme ředili v poměru 1:40.

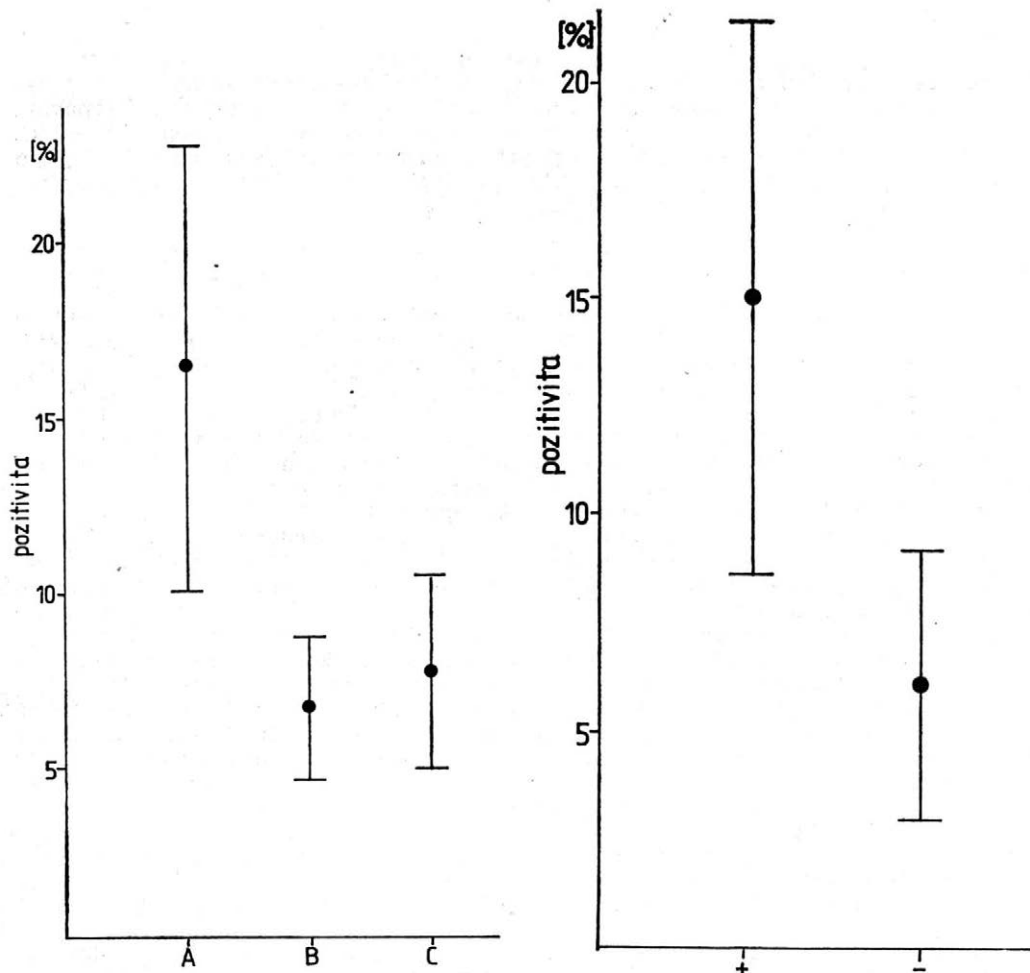
U jednotlivých skupin zvířat jsme vypočítali průměrné procento positivity s konfidenčními intervaly $\bar{x} \pm s\bar{x} \cdot t$ na hladině významnosti $p = 0,01$ a tyto hodnoty jsme znázornili graficky.

VÝSLEDKY

Specifita testu byla ověřena testem s negativními kontrolními antigeny. Pozitivní kontrola ani pozitivní vzorky mléka nereagovaly s kontrolními antigeny a absorbance v testu ELISA se nelišila od absorbance negativního séra kontroly s pozitivním antigenem.

Hodnoty absorbance pozitivní kontroly dosahovaly v průměru 1,25 a negativní kontroly 0,08. Hodnoty absorbance jednotlivých testovaných vzorků mléka se pohybovaly v rozmezí 0,07 až 0,082. V chovu A jsme vypočítali průměrnou pozitivitu 16,5 %, v chovu B 6,9 % a v chovu C 7,8 %. Tyto hodnoty s konfidenčními intervaly jsou znázorněny na obr. 1.

Dojnice ze všech tří chovů jsme podle bakteriologického vyšetření rozdělili na dvě skupiny. Průměrná pozitivita skupiny dojnic s nálezem *S. agalactiae* alespoň v jedné čtvrti je 15,0 % a u skupiny dojnic bez



1. Průměrné hladiny protilátek proti zárodkům *Streptococcus agalactiae* v mléku dojnic s konfidenčními intervaly ($p = 0,01$), vyjádřené v procentech positivity (chovy A, B, C) — Mean levels of antibodies against the pathogens of *Streptococcus agalactiae* in the dairy cows' milk with confidential intervals ($p = 0.01$), expressed in percent positivity (herds A, B, C)

2. Průměrné hladiny protilátek proti zárodkům *S. agalactiae* s konfidenčními intervaly ($p = 0,01$) v mléku dojnic s nálezem *S. agalactiae* alespoň v jedné čtvrti (+) a bez *S. agalactiae* (—), vyjádřené v procentech positivity — Mean levels of antibodies against the *S. agalactiae* pathogens with confidential intervals ($p = 0.01$) in the dairy cows' milk with *S. agalactiae* finding in one quarter (+) and without *S. agalactiae* (—) expressed in percent positivity

S. agalactiae 6,1 %. U dojnic z chovu A a B jsme k výpočtu použili průměr z jednotlivých čtvrtí. Vypočítané hodnoty jsou opět s konfidenčními intervaly znázorněny na obr. 2.

Kritériem positivity testu ELISA byla horní hranice konfidenčního intervalu $\bar{x} + s_{\bar{x}} \cdot t$ skupiny bez nálezu *S. agalactiae*. Tato hodnota činila 9,25 %. U počtu somatických buněk jsme za pozitivní považovali hodnotu vyšší než 250 000 v 1 ml. U dojnic chovu A a B jsme k výpočtu použili průměrnou hodnotu čtvrtěvých vzorků. Po zhodnocení výsledků jednotlivých parametrů jsme zvířata rozdělili v souladu s literárními údaji (Logan aj., 1982) a s ohledem na logickou posloupnost průběhu infekce do osmi skupin (tab. I).

I. Rozdělení dojníc do skupin podle parametrů (+ — somatické buňky > 250 000; ELISA > 9,25 %; bakteriologická kultivace *S. agalactiae*) — The division of dairy cows into 8 groups according to the parameters (+ — somatic cell count > 250 000; ELISA > 9.25 %; bacteriological cultivation *S. agalactiae*)

Skupina	1	2	3	4	5	6	7	8
Somatické buňky	—	—	+	+	+	—	—	+
<i>Streptococcus agalactiae</i>	—	+	+	+	—	—	+	—
ELISA	—	—	—	+	+	+	+	—
Četnost	12	1	2	11	1	3	2	4

Skupina 1 zahrnuje většinou mladší dojnice se všemi parametry negativními. Po infekci se začínají v mléku objevovat bakterie (skupina 2) a o několik hodin později se zvyšuje počet somatických buněk (skupina 3). Po určité době začíná tvorba specifických protilátek a všechny parametry jsou tedy pozitivní (skupina 4). Množení bakterií je potlačováno faktory přirozené i specifické imunity a bakterie se přestanou vylučovat v mléku (skupina 5). Po několika týdnech klesne i množství somatických buněk a zůstávají jen protilátky (skupina 6). Pokud je infekce latentní, mohou se v mléku vylučovat bakterie a protilátky se tvoří (skupina 7) nebo již vymizely (skupina 2). U subklinických nosičů mohou být všechny parametry pozitivní (skupina 4). Zvířata ze skupiny 4 a 7 mohou přecházet do skupiny 6. Do skupiny 8 jsou zařazeny dojnice s mastitidou vyvolanou zárodky jinými než *S. agalactiae*, tj. *Streptococcus dysgalactiae* a *Staphylococcus aureus*.

DISKUSE

Naše výsledky ukazují, že metoda ELISA pro detekci protilátek proti *S. agalactiae* je metodou specifickou a dostatečně citlivou. Většina dojníc s bakteriologickým nálezem jiným než *S. agalactiae* byla sérologicky negativní, kromě dvou, u nichž ovšem nelze vyloučit nedetekovanou nebo již odeznělou infekci streptokokem.

Výsledky testu ELISA v jednotlivých stádech odrážejí jejich celkovou charakteristiku. Nejvyšší procento positivity je podle očekávání v chovu A. Široký konfidenční interval ovšem odráží značné rozdíly mezi dojnicemi, které jsou dány různými stadii infekce. Mezi chovy B a C je pouze malý rozdíl v průměrné pozitivitě, ale zatímco chov B je poměrně vyrovnaný, v chovu C se vyskytují dojnice zcela negativní i vysoce pozitivní, což je opět patrné z konfidenčního intervalu.

Tab. I, sestavená z výsledků bakteriologického vyšetření, cytologického vyšetření a testu ELISA, charakterizuje jednotlivá stadia zánětu mléčné žlázy. Rozdíly v četnosti zvířat ve skupinách od údajů, které publikovali Logan aj. (1982), jsou dány výběrem souboru a podmínkami chovu. Skutečné zastoupení ve skupinách může přesněji ukázat pouze plošné vyšetření.

Metodou ELISA pro detekci protilátek proti *S. agalactiae* v mléku dojníc lze hodnotit jako možný doplněk v programu tlumení mastitid. Vzhledem k relativní nenáročnosti, rychlosti testu a možnosti testovat

velké soubory je ve srovnání s bakteriologickým vyšetřením vhodným prostředkem pro rychlé stanovení prevalence onemocnění v chovech. Tímto testem můžeme rovněž sledovat efektivnost postupu tlumení mastitid způsobených *S. agalactiae*. Nejlepší využití této metody se naskýtá v dalším studiu patogeneze a imunogeneze mastitid vyvolaných *S. agalactiae*.

Literatura

- JAIN, N. C.: Common mammary pathogens and factors in infection and mastitis. J. Dairy Sci., 62, 1979, s. 128-133.
- KLASTRUP, O. — BAKKEN, G. — BRAMLEY, J. — BUSHNELL, R.: Environmental influences on bovine mastitis. Bull. int. Dairy Fed., 1987, č. 217, s. 1-37.
- LOGAN, E. F. — MENEELY, D. J. — MACKIE, D. P.: Enzyme-linked immunosorbent assay for *Streptococcus agalactiae* antibodies in bovine milk. Veter. Rec., 110, 1982, s. 247-249.
- LOGAN, E. F. — MACKIE, D. P. — MENEELY, D. J.: Immunological features of consecutive intramammary infection with *Streptococcus agalactiae* in vaccinated and non-vaccinated heifers.
- OPDEBEECK, J. — NORCROSS, N. L.: Enzyme immunoassay for detection of antibodies specific for staphylococcal alpha haemolysin in bovine milk. Res. veter. Sci., 30, 1981, s. 83-86.
- OPDEBEECK, J. P. — NORCROSS, N. L.: Antibody response in lacteal secretion of cows after immunization with various concentrations of staphylococcal and streptococcal antigens. Amer. J. veter. Res. 43, 1982, s. 1770-1775.
- PEARSON, K. L. — POLLOCK, D. A. — GREER, D. O.: Factors affecting the frequency of isolating *Streptococcus agalactiae* from herd milk supplies and the control of the organism in the dairy herd. Brit. veter. J., 135, 1979, s. 119-129.
- ŠKARDOVÁ, O.: Mikrobiologické postupy při laboratorní diagnostice mastitid. Zpr. Ústř. st. veter. Úst., 1983, č. 2, 34 s.
- URBANOVÁ, E. — ŠEDINOVÁ, V. — ŠKARDA, J. — ŠKARDOVÁ, O. — JUKL, A.: Využití membránových filtrů synpor pro separaci a stanovení počtu somatických buněk mléka dojníc indol DNA filtr metodou. Veter. Med. (Praha), 30, 1985, s. 409-419.

Došlo dne 23. 3. 1989

МАДР, П. — БЕНДА, В. — ШКАРДОВА, О. (Институт физиологии и генетики скота при АН ЧССР, Прага-Угржиневес; Центральный государственный институт ветеринарии, Прага-Лысолае): Назначение антител против зародышей *Streptococcus agalactiae* в молоке коров по тесту ЭЛИСА. Veter. Med. (Praha), 35, 1990 (4) : 193-199.

В целях расширения комплекса методов, применяемых для диагностики маститов, модифицировали чувствительный 4-слойный тест ЭЛИСА для выявления упомянутых зародышей *Streptococcus agalactiae*. Мы уязывали антиген с твердой фазой в форме целых бактерий, а молоко тестировали в разбавлении 1:10. Связанные с антигеном специфические антитела метили свинным антителом против бычьих иммуноглобулинов, конъюгированным с пероксидазой. После глазомерной оценки и отсчета с фотометра мы вывели результаты в % позитивности в виде стократного увеличения доли абсорбции неизвестного образца, а позитивный контроль — при отсчете негативного. С помощью данного метода мы обследовали 36 коров из 3 разных разведений. Образцы исследовали в параллельном порядке бактериологически и цитологически. В молоке с положительным диагнозом *S. agalactiae* средний уровень антител (выраженный в % позитивности) = 15,0 %, а у бактериологически негативных животных — лишь 6,2 %. На основе этих результатов коров распределили на 8 групп, характеризующих разные стадии воспалений молочной железы.

мастит; тест ЭЛИСА; *Streptococcus agalactiae*; антитела; молоко

MÁDR, P. — BENDA, V. ŠKARDOVÁ, O. (Institute of Farm Animal Physiology and Genetics of the Czechoslovak Academy of Sciences, Praha-Uhřetěves; Central State Veterinary Institute, Praha-Lysolaje): *Determination of antibodies against embryos of Streptococcus agalactiae in milk of dairy cows by test ELISA*. Veter. Med. (Praha), 35, 1990 (4) : 193-199.

A sensitive 4-layers ELISA test for determination of antibodies against the pathogens of *Streptococcus agalactiae* in cows' milk was used for diagnosis of mastitis, with the aim to broaden these methods. Antigen was linked on the solid phase in the form of the whole bacteria, and milk was tested, diluted in the ratio of 1 : 10. Antigen bound-specific antibodies were labelled with pig antibodies against bovine immunoglobulins and in the next layer with rabbit antibody conjugated with peroxidases against pig immunoglobulins. After test visualisation and reading on the photometre, the results were given in the positivity per cent as a 100-multiple of the proportion of absorbance of the unknown sample and the positive control after subtraction of the negative control. Milk was examined in 36 dairy cows from three various breeding herds by that method. The samples were parallelly examined bacteriologically and cytologically. In the milk of dairy cows with positive *S. agalactiae* finding, the main level of antibodies expressed as positivity per cent, was 15.0 %, while in bacteriologically negative animals it was only 6.2 %. The dairy cows were divided into 8 groups, characterizing various stages of mastitis, according to the results of the individual treatments.

mastitis; ELISA test; *Streptococcus agalactiae*; antibodies; milk

MÁDR, P. — BENDA, V. — ŠKARDOVÁ, O. (Institut für Physiologie und Genetik der Nutztiere der Tschechoslowakischen Akademie der Wissenschaften, Praha - Uhřetěves; Staatliches Zentralveterinärinstitut, Praha - Lysolaje): *Bestimmung der Antikörper gegen die Keime von Streptococcus agalactiae in der Kuhmilch mittels des ELISA-Test*. Veter. Med. (Praha), 35, 1990 (4) : 193-199.

Mit dem Ziel, den Komplex von Methoden für die Diagnostik der Mastitiden zu erweitern, modifizierten wir den empfindlichen vierschichtigen Test ELISA für die Bestimmung der Antikörper gegen die Keime von *Streptococcus agalactiae* in der Kuhmilch. Das Antigen wurde an die feste Phase in Form von Ganzbakterien gebunden und die Milch wurde dann, verdünnt im Verhältnis von 1 : 10, getestet. Die an das Antigen gebundenen spezifischen Antikörper wurden mit einem Schweineantikörper gegen bovine Immunoglobuline und in der weiteren Schicht mit einem Kaninchenantikörper gegen Schweineimmunoglobuline, der mit Peroxidase konjugiert worden war, gekennzeichnet. Nach der Visualisierung des Tests und nach dem Ablesen am Fotometer wurden die Ergebnisse in Prozenten der Positivität als das Hundertfache des Anteils der Absorbenz einer unbekannten Probe und der positiven Kontrolle nach dem Ablesen der negativen Kontrolle angeführt. Mit dieser Methode untersuchten wir die Milch von 36 Kühen aus drei verschiedenen Zuchten. Die Proben wurden parallel bakteriologisch und zytologisch untersucht. In der Milch von Kühen mit einem positiven Befund von *S. agalactiae* betrug der durchschnittliche in Positivitätsprozenten ausgedrückte Spiegel von Antikörpern 15,0 %, bei den bakteriologisch negativen Tieren nur 6,2 %. Entsprechend den einzelnen Untersuchungsergebnissen unterteilten wir die Milchkühe in acht Gruppen, die für verschiedene Stadien der Mastitiden charakteristisch sind.

Mastitide; ELISA-Test; *Streptococcus agalactiae*; Antikörper; Milch

Adresy autorů:

MVDr. Pavel Mádr, MVDr. Vladimír Benda, CSc., Ústav fyziologie a genetiky hospodářských zvířat ČSAV, 104 00 Praha-Uhřetěves

MVDr. Olga Škardová, Ústřední státní veterinární ústav, Sídliště 156, 165 03 Praha 6 — Lysolaje

MASTITIDY?

Rychle a spolehlivě je léčí intramamární přípravky SPOFÀ

CHRONICIN FOAM — široké antibakteriální spektrum chlo-ramfenikolu zahrnuje většinu zárodků způsobujících infekční zánět mléčné žlázy

NESTREPINA FOAM — kombinace streptomycinu a neomycinu zajišťuje vysokou účinnost především na *E. coli*, *Klebsiella* sp., *Corynebacterium pyog.*

OXACLEN FOAM — přípravek z řady polosyntetických penicilínů — oxacilin — působí především na stafylokoky a zárodky rezistentní vůči PNC

DUON FOAM — kombinace sulfadimidinu a trimethoprimu je vysoce účinná na většinu zárodků vyvolávajících akutní mastitidy

- Pěnová aplikační forma umožňuje proniknutí účinné látky ke každé buňce parenchymu mléčné žlázy
- Široká škála nabízených přípravků představuje účinný zásah proti původcům mastitid podle zjištěné citlivosti
- Aplikace v době stání na sucho omezuje výskyt mastitid v poporodním období a snižuje náklady na léčbu

NEJDŮLEŽITĚJŠÍ STŘEVNÍ PARAZITÁRNÍ NÁKAZY TELAT A JEJICH ROLE V ETIOLOGII PRŮJMOVÝCH ONEMOCNĚNÍ

V. F. Nikitin, I. Pavlásek

NIKITIN, V. F. — PAVLÁSEK, I. (Všesvazový vědecko-výzkumný helmintologický ústav K. I. Skrabina, Moskva; Parazitologický ústav ČSAV, České Budějovice): *Nejdůležitější střevní parazitární nákazy telat a jejich role v etiologii průjmových onemocnění*. Veter. Med. (Praha), 35, 1990 (4) : 201-206.

Vyšetřování telat v různých chovech SSSR na přítomnost endoparazitů prokázala, že kokcidie rodu *Cryptosporidium* se vyskytují ve věku od tří až čtyř dnů do jednoho měsíce, ojediněle i u starších telat. Kokcidiemi *C. parvum* jsou nejčastěji nakažena čtrnáctidenní až patnáctidenní zvířata. Kokcidie rodu *Eimeria* a střevní hlístice *Strongyloides papillosus* jsou u telat sporadicky registrovány ve věku 13 až 15 dnů, nejčastěji se objevují ve věku od jednoho do dvou měsíců a později. Z celkového počtu vyšetřovaných telat (do 20 dnů věku) nakažených kryptosporidiemi mělo 77,7 až 89,8 % průjem. Při polyinfekcích různými druhy kokcií rodu *Eimeria* a *S. papillosus* byly průjmy zaznamenány u 31,2 % měsíčních až dvouměsíčních telat, při monoinfekcích kokcidiemi rodu *Eimeria* u 15,8 % a při napadení střevní hlísticí *S. papillosus* u 9,1 % telat.

telata; průjmová onemocnění; endoparaziti; kokcidie rodu *Eimeria* a *Cryptosporidium*; *Strongyloides papillosus*; monoinfekce; polyinfekce

Ve většině chovů, včetně těch, v nichž se v současné době využívá nových průmyslových technologií odchovu, jsou pozorovány časté případy onemocnění telat. Tak např. v komplexech na výrobu hovězího masa, ve kterých jsou dodržovány normy krmení a vysoká úroveň zoohygieny, dosahují ztráty telat vlivem úhynů a nutných porážek v jednotlivých věkových kategoriích 10 % i více. Ztráty telat 5 až 6 % jsou v chovech považovány za normu. I ty však představují značné sumy, vezme-li v úvahu pouze to, že v důsledku úhynů telat nezískáváme předpokládanou produkci masa.

Onemocnění telat probíhá většinou s příznaky gastroenteritid. Existují práce, ve kterých se uvádí, že poruchy trávicího ústrojí jsou způsobeny kokcidiemi, strongyloidy (Eršov, 1937; Kolabskij a Paškin, 1977; Bedrník aj., 1979 a další) nebo spojením těchto parazitů (Šapovalov, 1971, 1973; Kondratěv a Sominskaja, 1975). Uvedení autoři informují o vysokém procentu napadených zvířat i jinými infekčními patogeny bakteriálního a virového původu.

V období let 1981 až 1983 jsme v rámci plnění plánu vědecké spolupráce mezi VNIIGIS (Všesvazový vědeckovýzkumný helmintologický ústav K. I. Skrabina, Moskva) a Parazitologickým ústavem ČSAV v Českých Budějovicích uskutečnili společný výzkum zaměřený na porovnání

výskytu endoparazitů u telat v chovech s průmyslovými technologiemi v SSSR a ČSFR. Zjistili jsme časté případy nákaz telat kokcidiemi a helminty v asociacích. Přitom byly poprvé v SSSR v různých chovech prokázány u telat kokcidie rodu *Cryptosporidium* (Pavlásek a Nikitin, 1983; Nikitin a Pavlásek, 1983). V posledním období se objevilo mnoho publikací o tom, že kryptosporidie jsou příčinou enterokolitid v období mléčné výživy, které probíhají s klinickými příznaky průjemových onemocnění (Sanford a Josephson, 1982; Pavlásek aj., 1983; Viring aj., 1985).

Úkolem této práce je informovat o výsledcích společných studií výskytu kokciidií a strongyloidů u telat, zejména raného věku, a to jak z hlediska rozšíření těchto endoparazitů v monoinfekcích a v asociacích, tak i z hlediska jejich úlohy v etiologii průjemových onemocnění.

MATERIÁL A METODA

V období let 1983 až 1985 jsme v různých chovech SSSR vyšetřili 1039 telat s klinickými příznaky průjmů i bez nich na přítomnost kokciidií rodu *Cryptosporidium* a *Eimeria* a střevní hlístici *Strongyloides papillosus*. Oocysty kokciidií a vajíčka strongyloidů jsme zjišťovali v trusu koprologickou, flotačně-centrifugační metodou, kterou stanovil Breza (1957). Invazní larvy *S. papillosus* jsme získávali po kultivaci trusu metodou námi vyvinutou a laboratorní pomůckou nazývanou izolační hvězdička (Nikitin a Pavlásek, 1985).

Rídké výkaly s příměsí kleny, krve a odloupanou střevní sliznicí jsme vyšetřovali na přítomnost oocyst, popř. i různých vývojových stadií kryptosporidií metodou roztěrů fixovaných metanolem a barvených podle Giemsy. Stejnou metodou jsme vyšetřovali roztěry střevních sliznic u uhynulých telat.

VÝSLEDKY

Kokcidie rodu *Cryptosporidium* jsme našli u telat ve věku tří dnů až dvou měsíců v několika chovech RSFSR, Běloruské SSR a Kazašské SSR. Nákaza tímto prvokem byla u telat sledována v rozsahu od 17,6 do 80 %. Kryptosporidie jsme registrovali nejčastěji u telat ve věku od 5 do 20 dnů. Tyto parazity jsme nezjistili při vyšetřování telat ve dvou chovech Krasnojarského kraje, Novosibírské oblasti. Podle těchto údajů však není možné usuzovat na to, že se kryptosporidie v Sibiři nevyskytují, neboť v posledním období se podařilo jednomu z autorů této práce (Nikitin) s aspirantkou L. N. Ivanovou prokázat *C. parvum* v řídkých výkalech telat v jednom z deseti sledovaných chovů v Jakutské ASSR.

Dvoutýdenní až třítydenní — a zejména jednoměsíční — telata byla nakažena kokcidiemi rodu *Eimeria*. Nejčastěji se vyskytovaly druhy *E. bovis*, *E. zuernii*, *E. ellipsoidalis*, *E. auburnensis*, *E. subspherica*, méně často *E. cylindrica*, *E. alabamensis* a *E. bukidnonensis*. Oocysty kokciidií jsme častěji nacházeli u telat s příznaky poruch zažívacího ústrojí v chovech s nízkou úrovní zoohygieny. Většinou byla telata nakažena současně dvěma až třemi i více druhy kokciidií. Společně s kokcidiemi jsme nacházeli z helmintů pouze *S. papillosus*. Tyto smíšené parazitární nákazy jsou však velmi rozšířené i v chovech s průmyslovou technologií a v podmínkách s vysokou úrovní zoohygieny. Výsledky vyšetřování telat v jednom komplexu v SSSR specializovaném na výkrm skotu jsou z hlediska této problematiky uvedeny v tab. I.

I. Invadovanost telat hlísticemi *S. papillosus* a kokciemi rodu *Eimeria* v jednom komplexu v SSSR — The calves invaded by round worms *S. papillosus* and coccidias of *Eimerias* genus in one complex in the USSR

Věk telat [dny]	Celkem vyšetřeno [ks]	Extenzita infekce [%]			
		všemi parazity	<i>S. papillosus</i>	kokcidie rodu <i>Eimeria</i>	<i>S. papillosus</i> + kokcidie současně
20—30	134	85,8	3,5	75,7	20,9
31—90	94	70,2	3,0	78,8	18,2
91—180	119	80,7	0	84,4	15,6
Celkem	347	79,8	2,2	79,4	18,4

Z tab. I je zřejmé, že již 20denní až 30denní telata, to je v období prvních několika málo dnů po jejich příjmu z mateřských farem do komplexu, byla značně nakažena endoparazity (85,8 %). U tříměsíčních telat se sice výskyt parazitů snížil (o 15 %), ale u starších telat se celková extenzita nákazy opět zvýšila (o 10,5 %), a to zejména nákaza kokciemi.

Telata byla nejčastěji nakažena různými druhy kokcií rodu *Eimeria* (75,7 až 84,4 %) v polyinfekcích druhů *E. ellipsoidalis*, *E. bovis*,

II. Údaje o naze telat endoparazity ve vztahu k výskytu průjmů — The data about infection of calves by endoparasites in respect to occurrence of diarrhoe

Věk telat [dny]	Celkový počet vyšetřených telat [ks]	Naka			
		Počet pozitivních telat [ks]	Procento nakažených telat [%]	Počet telat s příznaky průjmů [ks]	Procento telat s příznaky průjmů [%]
Kokciemi rodu <i>Cryptosporidium</i>					
2–10	111	49	44,1	44	89,8
11–15	89	64	71,9	55	85,9
16–20	68	36	52,9	28	77,7
21–30	106	29	27,4	15	51,7
Kokciemi rodu <i>Eimeria</i>					
31–60	106	57	53,7	9	15,8
Střevní hlísticí <i>Strongyloides papillosus</i>					
31–60	106	33	31,2	3	9,1
Kokciemi rodu <i>Eimeria</i> + <i>S. papillosus</i>					
31–60	106	16	15,1	5	31,2

E. zuernii, *E. auburnensis* a *E. subspherica*. Druhé místo z hlediska nejčastější frekvence výskytu zaujímaly smíšené parazitózy *S. papillosus* společně s kokciemi rodu *Eimeria* (15,6 až 20,9 %). Monoinfekce telat hlísticí *S. papillosus* byly jen velmi sporadické a pohybovaly se maximálně do 3,5 %.

Značný praktický význam má klinický průběh onemocnění telat a příznaky průjmů způsobených kokciemi a strongyloidy. K řešení této problematiky jsme parazitologicky vyšetřovali telata různého věku, u kterých byly pozorovány poruchy trávení, především průjmy (tab. II).

U mnoha telat jsme zjistili příznaky průjmového onemocnění v prvních dnech jejich postnatálního života. Téměř u každého telete se v určitém období jeho života vyskytoval průjem. Vyšetření na přítomnost endoparazitů u těchto zvířat v současných průmyslových komplexech i v chovech s tradičními technologiemi ukázala, že průjmová onemocnění (tab. II) jsou nezhledná doprovázena nákazami vyvolanými kokciemi a *S. papillosus*.

Z výsledků uvedených v tab. II je tedy zřejmé, že nejvyšší procento klinických příznaků průjmového onemocnění (51,7 až 89,9 %) bylo u telat ve věku 2 až 30 dnů, u nichž jsme detekovali *C. parvum*. Přitom čím byla telata mladší, tím častěji byl těsnější vztah nákazy kryptosporidii s výskytem průjmů. Tento fakt je zákonitý, mladá telata jsou k naze nejvímavější. S narůstajícím věkem se u nich v důsledku postupného uplatňování mechanismů získané imunity vytvářejí jakési rovnovážné hostitelsko-parazitické vztahy, naze odeznívá a velmi často přechází v subklinické formy onemocnění. Kryptosporidie byly registrovány nejčastěji u telat s průjmy do věku 20 dnů (77,7 až 89,8 %). Také intenzita vylučovaných oocyst *C. parvum* byla v tomto věku nejvyšší, průjem probíhal v těžké formě, často s příměsí krve ve výkalech řídké, hlenovité až vodnaté konzistence.

Z celkového počtu 106 vyšetřovaných telat ve věku od jednoho do dvou měsíců jsme kokcidie rodu *Eimeria* prokázali u 57 telat (53,7 %) a pouze u devíti telat (15,8 %) byl zjištěn průjem, převážně ve slabé formě.

U telat spontánně nakažených pouze *S. papillosus* jsme klinické příznaky průjmového onemocnění zjistili jen velmi ojediněle, a to pouze u tří telat (9,1 %) ze 33 pozitivních kusů. Průjem se však vyskytoval častěji u těch telat, která byla napadena současně jak kokciemi rodu *Eimeria*, tak i *S. papillosus*, tj. u 31,2 % telat.

DISKUSE

Při tradiční i průmyslové technologii odchovu jsou telata nejčastěji nakažena kokciemi rodů *Cryptosporidium* a *Eimeria*. Poprvé bylo prokázáno, že *C. parvum* je v SSSR podobně jako i v jiných zemích světa (Pavlásek aj., 1983; Viring aj., 1985), velmi častým parazitem zejména u telat v prvních dvou týdnech jejich života. Jen velmi ojedinělé jsou nálezy tohoto prvoka u telat starších než jeden měsíc. Kokcidie rodu *Eimeria* a střevní hlístice *S. papillosus* byly zaregistrovány u telat ve věku 13 až 15 dnů, ale zejména u telat starších než jeden měsíc.

Průjmová onemocnění se u telat většinou objevují druhý až třetí den po narození (po mlezivovém období) a potom téměř u všech zvířat

do věku 20 dnů. Zjistili jsme, že v tomto období jsou průjemová onemocnění v úzkém vztahu s výskytem *C. parvum*. Tyto údaje tedy dovolují přiřadit tohoto prvoka k mnoha jiným původcům onemocnění telat, které narušují normální funkci jejich trávení.

Časté případy komplikovaných průjemových onemocnění telat různé etiologie během prvních 20 dnů jejich života upozorňují na potřebu přehodnotit vhodnost optimálního věku telat pro příjem do komplexů průmyslového typu, ale i do jiných chovů. V této souvislosti se maximální pozornost musí soustředit především na výběr telat z mateřských farem, neboť zde jsou telata nakažena kryptosporidii 100%, jak vyplývá v současné době nejen z našich, ale i z mnoha jiných zahraničních literárních pramenů. Skutečnost, že kryptosporidiové nákazy značně oslabují organismus, svým patogenním působením umožňují rozvoj jiných mikroorganismů apod., je dnes rovněž všeobecně uznávána.

Výskyt průjemových onemocnění u jednoměsíčních až tříměsíčních telat při spontánních smíšených parazitózách vyvolaných kokciidii rodu *Eimeria* a hlísticí *S. papillosus*, které ve většině případů probíhají v subklinických formách, svědčí o vysoké patogenitě zjištěných endoparazitů. Dosažené výsledky studia rozšíření a vlivu nejvýznamnějších střevních parazitárních nákaz telat v etiologii průjemových onemocnění podtrhují účelnost takových nových metod prevence a léčení, které by byly efektivní současně jak proti protozoárním a helmintózním nákazám, tak i proti patogenům bakteriálního a virového původu, které se společně podílejí na vysoké nemocnosti telat v podmínkách velkochovů.

Literatura

- BEDRNÍK, P. — JURKOVIC, P. — ŠEVČÍK, B. — PAVLÁSEK, I. — CROUST, K. — FIRMANOVÁ, A.: Control of coccidiosis of calves in large-scale calf houses. In: XXI. World Veterinary Congress, Moscow, 2, 1979, s. 21-22.
- BREZA, M.: Niekoľko praktických poznatkov a námetov k helminto-koprologickéj diagnostike. *Helmintológia*, 1957, č. 1, s. 57-63.
- ERŠOV, V. S.: K voprosu o borbe s strongyloidozom teljat, jagňat, porosjat i že-rebajat. In: Raboty po gelmintologii Moskva, VASCHNIL 1937, s. 155-159.
- KOLABSKIJ, N. A. — PAŠKIN, P. I.: Kokcidiozy sel'skochozajstvennyh životnyh. Moskva, KOLOS 1974, s. 24-39.
- KONDRATĚV, M. E. — SOMINSKAJA, E. E.: Borba s invazionnymi boleznyami sel'skochozajstvennyh životnyh. Moskva, UFA 1975, s. 65-68.
- NIKITIN, V. F. — PAVLÁSEK, I.: Asociacija gelmintov i kokcidij u teljat v promyšlennych kompleksach. In: II. Vsesojuznyj sjezd parazitocenologov, Kijev, 1983, s. 235-236.
- NIKITIN, V. F. — PAVLÁSEK, I.: Metodičeskiye ukazaniya po primeneniju ustrojenstva „zvezdočka“ dlja diagnostiki strongyloidoza i stronkyljatozov životnyh. Moskva, GOSAGROPROM 1985.
- PAVLÁSEK, I. — NIKITIN, V. F.: Finding of *Cryptosporidium* sp. in calves in the USSR. *Folia parasit.* (Praha), 30, 1983, s. 4.
- PAVLÁSEK, I. — ZIKMUND, B. — KLÍMA, F.: Vliv různého způsobu ustájení telat po narození na výskyt *Cryptosporidium* sp. *Veter. Med.* (Praha), 28, 1983, č. 1, s. 31-36.
- SANFORD, S. E. — JOSEPHSON, G. K. A.: Bovine cryptosporidiosis: clinical and pathological findings in forty-two scouring neonatal calves. *Can. veter. J.*, 23, 1982, č. 2, s. 343-347.
- ŠAPOVALOV, V. V.: Kliničeskoje tečenie zabolevanija i ekonomičeskij uščerb pri sovmeštnom parazitirovaniji *Strongyloides papillosus* i kokcidij v organisme ovec. In: II. Vsesojuznaja konferencija molodyh učenyh po veterinarii. Tez. dokladov, Moskva, 1971, s. 72-73.

ŠAPOVALOV, V. V.: Profilaktika zaraznych i nezaraznych zaboлевanij životnych v Sibiri. In.: Materialy naučnoj konferencii, Omsk, 1973, s. 241-243.

VIRING, S. — BORNSTEIN, S. — JACOBSSON, S. O. — STRÖM, C. H.: Cryptosporidier pavisade vid ett besättningsulbrott av kalvdiaree. Sven. Veter.-Tidn., 37; 1985, č. 1, s. 24-26.

Došlo dne 21. 9. 1988

НИКИТИН, В. Ф. — ПАВЛАСЕК, И. (Всесоюзный НИ гельминтологический институт им. К. И. Скрябина, Москва; Паразитологический институт при АН ЧССР, Ч. Будейовице): Важнейшие кишечные паразитарные заболевания телят и их роль в этиологии поносов. Veter. Med. (Praha), 35, 1990 (4) : 201-206.

Как показали исследования телят в разных разведениях СССР на наличие эндопаразитов, кокцидии рода *Cryptosporidium* встречаются в возрасте 3—4 дней и до месяца, лишь в отдельных случаях у старших телят. *C. parvum* чаще всего установлены у 14—15-дневных, а сем. *Eimeria* и кишечные глисты *Strongyloides papillosus* — 13—15-дневных телят спорадически, но чаще всего у 1—2-месячных и старших. В общем количестве зараженных криптоспоридиями телят (до 20 дней жизни) у 77,7—89,9 % поносы. В результате полиинфекций разными видами кокцидий сем. *Eimeria* и *S. papillosus* поносы отмечались у 31,2 % телят 1—2-месячного возраста, при моноинфекциях сем. *Eimeria* — у 15,8 %, а при поражении глистами *S. papillosus* — у 9,1 % телят.

телята; поносы; эндопаразиты; кокцидии рода *Eimeria* и *Cryptosporidium*; *Strongyloides papillosus*; моноинфекция; полиинфекция

NIKITIN, V. F. — PAVLÁSEK, I. (N. I. Skriabin All-Union Scientific and Research Institute of Helminthology, Moskva; Parasitologic Institute of Czechoslovak Academy of Sciences, České Budějovice): The main intestinal parasitic infections in calves and its role in etiology of diarrhoeic diseases. Veter. Med. (Praha), 35, 1990 (4) : 201-206.

Various stock breeding herds in the USSR were examined for the presence of endoparasites. Coccidia of *Cryptosporidium* genus occurred in calves at the age of 3 to 4 days to one month, individually in older calves, too. Coccidia *C. parvum* infected the animals aged 14—15 days most frequently. Coccidia of *Eimeria* genus and intestinal round worm *Strongyloides papillosus* were registered sporadically in calves aged 13—15 days; most frequently they occurred in calves aged 1—2 months and older. Of the total number of the examined calves (aged 20 days), which were infected by *Cryptosporidium*, 77.7 resp. 89.8 % were diarrhoeic. In cases of polyinfections with various species of coccidia of the *Eimeria* genus and *S. papillosus*, diarrhoea was recorded in 31.2 % of one- to two-month-old calves. In cases of monoinfection with coccidia of the *Eimeria* genus diarrhoea was recorded in 15.8 % of the calves, and in cases of infection with the intestinal worm *S. papillosus* in 9.1 % of the calves.

calves; scours; endoparasites; coccidia of the genera *Eimeria* and *Cryptosporidium*; *Strongyloides papillosus*; monoinfection; polyinfection

Adresy autorů:

Dr. V. F. Nikitin, DrSc., Věšvazový vědecko-výzkumný helmintologický ústav K. I. Skrabina, Moskva
Ing. Ivan Pavlásek, CSc., Parazitologický ústav ČSAV, Branišovská 31, 370 06 České Budějovice

ÚROVEŇ FAGOCYTÁRNEJ AKTIVITY KRVNÝCH LEUKOCYTOV, KONCENTRÁCIE SÉROVÝCH IMUNOGLOBULÍNŮV A ALBUMÍNU PO PARENTERÁLNEJ APLIKÁCIÍ ZINKU PRI VAKCINÁCIÍ PROTI TRICHOPHYTÓZE TELIAT

Š. Paulík, L. Vrzgula, J. Bíreš, A. Hojerová, Z. Nedvěd

PAULÍK, Š. — VRZGULA, L. — BÍREŠ, J. — HOJEROVÁ, A. — NEDVĚD, Z. (Mestská veterinárna správa, Košice; Vysoká škola veterinárska, Košice; Ústav experimentálnej veterinárnej medicíny, Košice; Okresná veterinárna správa, Svidník): *Úroveň fagocytárnej aktivity krvných leukocytov, koncentrácie sérových imunoglobulínov a albumínu po parenterálnej aplikácii zinku pri vakcinácii proti trichofytóze teliat*. Veter. Med. (Praha), 35, 1990 (4) : 207-215.

Práca sa zaoberá posúdením úrovne celkových sérových imunoglobulínov (CS-Ig), sérového albumínu a fagocytárnej aktivity krvných leukocytov u päťmesačných trichofytických teliat v závislosti od podaní (revakcinácie) živej avirulentnej vakcíny proti trichofytóze (skupina teliat R) a jej súčasnej aplikácie s injekčným prípravkom na báze zinku (skupina teliat ZnR). U teliat skupiny ZnR (5 mg Zn.kg⁻¹ ž.h.) bol preukázaný potencionujúci vplyv na percentuálne zastúpenie potenciálnych krvných fagocytov (k úrovni pred aplikáciou: $P < 0,01$ v prvom dni, $P < 0,05$ v 3., 8. a 30. dni; v porovnaní so skupinou teliat R: $P < 0,01$ v 24-hodinovom experimentu) a percento fagocytujúcich buniek (k úrovni pred aplikáciou: $P < 0,05$ v 1. a 30. dni; v porovnaní so skupinou teliat R: $P < 0,05$ v 24-hodinovom experimentu). Účinnosť na index fagocytárnej aktivity nebola pozorovaná. Úroveň CS-Ig preukázala pozitívnu štatistickú významnosť u oboch skupín v porovnaní k hodnote pred aplikáciou (v 8., 15., 30. a 60. dni sledovania, $P < 0,05$, resp. 0,01), ale nie pri hodnotení skupín navzájom. U sérového albumínu bol zistený signifikantný vzostup ($P < 0,05$) koncentrácie v 15. dni sledovania v rámci každej skupiny teliat. Jeho nižšia koncentrácia u teliat ZnR na začiatku experimentu dosiahla na záver sledovania úroveň skupiny R.

trichofytóza; vakcinácia; zinok; teľatá; fagocytóza; sérové imunoglobulíny; sérový albumín

Trichofytóza hovädzieho dobytku je jednou z najdôležitejších antro-pozoonózných plesňových ochorení. U tohto druhu je vyvolávaná predovšetkým *Trichophyton verrucosum* (Kachnič a Tkáčik, 1963; Pavlas a i., 1979). Najcitlivejšie sú teľatá vo veku tri až šesť mesiacov s incidenciou 40 % (Slanina a i., 1977).

Zinok je súčasťou mnohých metaloenzýmov, čím sa stáva esenciálnym pre život všetkých prokaryotických a eukaryotických buniek (Blazsek a Mathe, 1984). Jeho karencia má vážne dôsledky na funkcie rozličných systémov v organizme. O jeho klinickom a biologickom význame pre prežúvavcov sa zmieňujú Bíreš a Vrzgula (1985). Okrajová deprivácia tohto esenciálneho stopového prvku môže

signifikantne alterovať imunitné funkcie, čo zoširoka dokumentujú v prehľadných príspevkoch Poleník (1987), Bíreš a Vrzgula (1988).

Úlohou práce bolo posúdiť účinok zinku podaného pri revakcinácii avirulentnou živou vakcínou proti trichofytóze u klinicky postihnutých teliat na úroveň celkových sérových imunoglobulínov CS-Ig, sérového albumínu a na fagocytárnu aktivitu krvných leukocytov.

MATERIÁL A METÓDA

EXPERIMENTÁLNE ZVIERATÁ

V sledovaní bolo desať päťmesačných teliat s klinicky rozvinutou krustóznou formou trichofýcie. U teliat prvej skupiny (ZnR, $n = 5$) bol súčasne s revakcináciou (avirulentná živá vakcína proti trichofytóze — Bioveta, Ivanovice na Hané) aplikovaný (i. m.) vývojový prípravok na báze zinku ($5 \text{ mg Zn} \cdot \text{kg}^{-1} \text{ ž. h.}$). Teľatá druhej skupiny (R, $n = 5$) boli len revakcinované uvedenou vakcínou. Teľatá boli ustajnené v adaptovanom teľatníku so značnou incidenciou trichofytózy. Kŕmenie bolo zabezpečené MKZ (dvakrát denne), lúčnym senom a TKŠ (*ad libitum*).

ODBER VZORIEK

Teľatá boli sledované 60 dní. Krv k laboratórnym analýzám bola odoberaná z *vena jugularis* pred aplikáciou, v 1., 8., 15., 30. a 60. dni.

POZOROVANÉ UKAZATELE

Celkové sérové Ig (CS-Ig) boli sledované metódou turbidimetrie, ktorú stanovili Mc Ewan a i. (1970). Sérový albumín (SA) bol vyšetrovaný fluorometricky (JASCO FP 550). Fagocytárnu aktivitu krvných leukocytov (percento fagocytujúcich buniek — FB a index fagocytárnej aktivity — IFA), percento potenciálnych fagocytov — PF (neutrofily, eozinofily a monocyty) a celkový počet leukocytov (Le) sme hodnotili metódou, ktorú sme uviedli v predošlej práci (Paulík a i., 1987). Ukazovatele fagocytárnej aktivity a percento PF je počítané z 200 buniek.

STATISTICKÉ HODNOTENIE

Štatistická významnosť bola hodnotená *t*-testom pre párované hodnoty (*Pt*-test) a Studentovým *t*-testom (*St*-test) (Poláček, 1984).

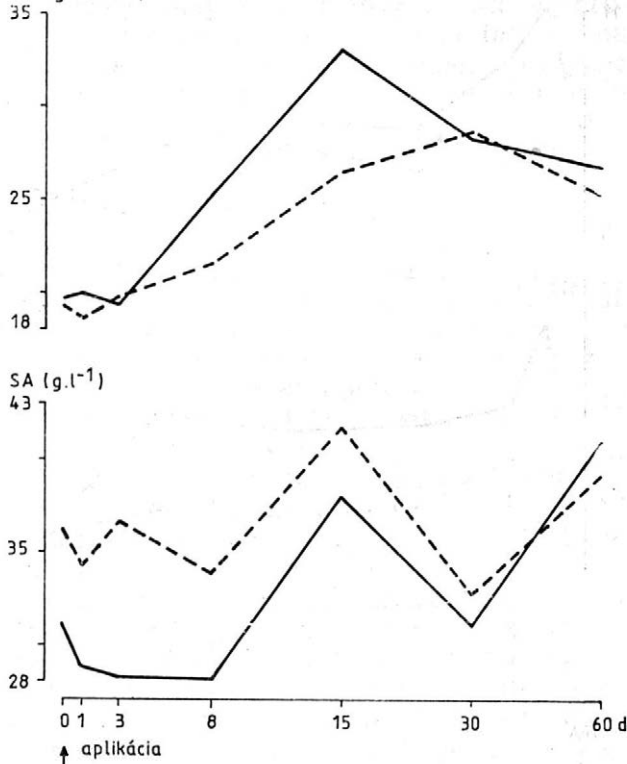
VÝSLEDKY

Priemerná koncentrácia CS-Ig sa počas prvých troch dní sledovania u porovnávaných skupín teliat takmer nemenila. Následný vzostup vrcholil u teliat ZnR skôr (v 15. dni) ako u teliat R (v 30. dni experimentu), s vyššou úrovňou od 3. do 15. dňa pre teľatá prvej skupiny. Aj napriek poklesu v ďalšom období presahovala koncentrácia u oboch skupín teliat ešte aj v 60. dni úroveň pred aplikáciou. Štatistická významnosť hodnotenými testami bola zistená len *Pt*-testom, a to v 8., 15., 30. a 60. dni ($P < 0,05$, resp. $0,01$) u oboch skupín teliat (obr. 1).

Dynamika koncentrácie sérového albumínu (SA) preukázala u teliat prvej a druhej skupiny zhodný trend. V rámci prvých ôsmich dní sa jeho hladina viac-menej nemenila. V ďalšom období sme zaznamenali dvojfázový vzostup s vrcholmi v 15. dni (*Pt*-test, $P < 0,05$) a v 60. dni.

1. Koncentrácia celkových sérových imunoglobulínov (CS-Ig) a sérového albumínu (SA) u trichofytických teliat (— po aplikácii vakcíny a zinku, — — — po aplikácii vakcíny) — Concentration of the total serum immunoglobulin (CS-Ig) and serum albumin (SA) in trichophytosis affected calves (— after administration of vaccine and zinc, — — — after administration of vaccine)

CS-Ig (U ZST)



Aj napriek jeho nižšej úrovni počas prvých ôsmich dní u teliat ZnR (*St*-test, $P < 0,05$) sa jeho koncentrácia na konci sledovania u porovnávaných skupín vyrovnala (obr. 1).

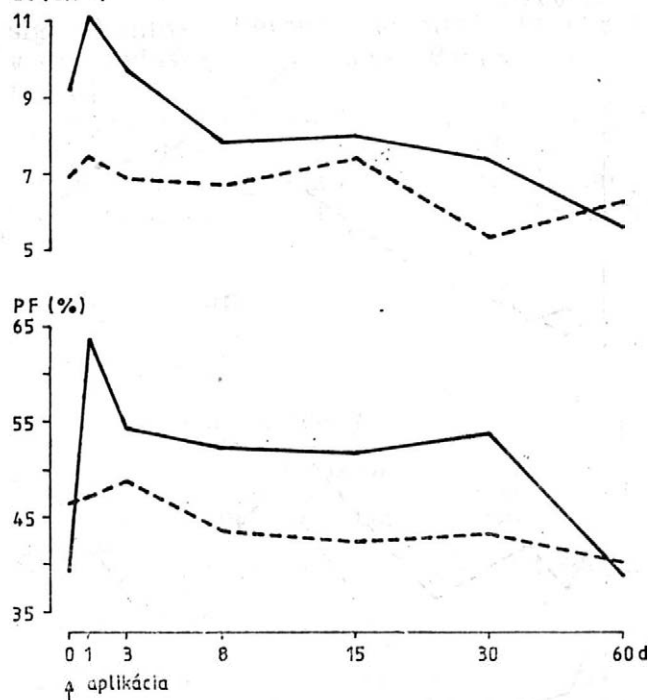
Pri hodnotení celkového počtu leukocytov (Le) sme zaznamenali pri porovnaní skupín viac-menej tú istú tendenciu. Vzostup v 24. hodine po aplikácii (výraznejšia intenzita u prvej skupiny, $P > 0,05$) bol vystriedaný poklesom do hodnôt nižších ako na začiatku experimentu. Porovnanie skupín navzájom odhalilo signifikantný rozdiel priemerných hodnôt ($P < 0,05$) len v 24. hodine v prospech teliat skupiny ZnR (obr. 2).

Percentuálne zastúpenie potenciálnych fagocytov (PF) preukázalo signifikantný nárast oproti východzej hodnote len u teliat ZnR ($P < 0,01$ v 1. dni; $P < 0,05$ v 3., 8. a 30. dni), pričom prevyšovalo úroveň u teliat skupiny R od 1. do 30. dňa experimentu ($P < 0,01$ v 1. dni sledovania). V dynamike percenta PF sme u teliat R zistili tendenciu poklesu pod počiatočnú hodnotu už od ôsmeho dňa pozorovania (obr. 2).

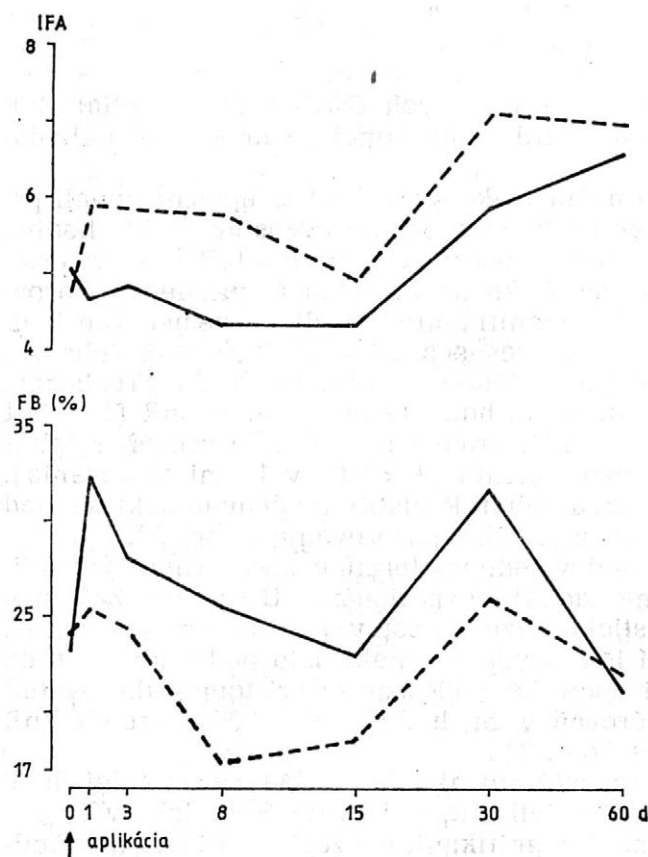
Percento FB u teliat R ani v jednom termíne sledovania výraznejšie nepresahovalo hodnotu na začiatku experimentu. U skupiny ZnR sme *Pt*-testom zaznamenali štatistickú významnosť v 1. a 30. dni ($P < 0,05$), pričom počas prvých 30 dní ich zastúpenie neklesalo pod hodnotu pred aplikáciou. Podobne ako pri počte Le a PF sme aj pri tomto ukazovateli zistili signifikantne vyššiu úroveň v 24. hodine ($P < 0,05$) u teliat ZnR v porovnaní k druhej skupine (obr. 3).

Vyššia úroveň indexu fagocytárnej aktivity (IFA) počas celej doby experimentu bola zaznamenaná u teliat R, avšak bez štatisticky významnej rozdielnosti. *Pt*-test odhalil signifikantný vzostup priemernej hod-

Lc ($G.l^{-1}$)



2. Dynamika celkového počtu leukocytov (Lc) a percenta potenciálnych krvných fagocytov (PF) u trichofytických teliat (značenie ako u obr. 1) — Dynamic of the total number of leucocytes (Lc) and the percent of potential blood phagocytosis (PF) in trichophytosis — affected calves (marking as in the figure 1)



3. Úroveň percentuálneho zastúpenia fagocytujúcich krvných leukocytov (FB) a hodnot indexu fagocytárnej aktivity (IFA) u trichofytických teliat (značenie ako u obr. 1) — The level of the percentual proportion of phagocytic blood leucocytes (FB) and values of index of phagocytic activity (IFA) in trichophytosis — affected calves (marking as in the figure 1)

noty tohto ukazovateľa len v prípade skupiny R, a to v 30. dni pozorovania. U teliat ZnR sa IFA počas prvých 15 dní udržiaval takmer na počiatočnej úrovni, s následným nesignifikantným vzostupom približne do rovnakých hodnôt ako u teliat skupiny R v 60. dni experimentu (obr. 3).

DISKUSIA

Pri teľatách existuje veková dynamika v koncentrácii CS-Ig. Počiatočná hladina CS-Ig (závislá od množstva prijatých kolostrálnych Ig; Paulík a i., 1984) je vystriedaná kritickým obdobím v obsahu Ig (v priebehu štvrtého týždňa života) a následným vzostupom do fyziologických hodnôt (Paulík a i., 1983). U teliat obidvoch sledovaných skupín možno hladinu CS-Ig pred aplikáciou (t. j. vo veku piatich mesiacov) považovať za nižšiu (19 až 19,5 U ZST), než je norma (26 až 46 U ZST; Slanina a Beseda, 1979), pretože v tomto veku by ich úroveň mala dosiahnuť hladiny dospelých zvierat (Mc Guire a i., 1976; Bouda, 1986). Na začiatku experimentu bola u teliat obidvoch skupín zistená okrajová hypozinkémia (8,89, resp. 6,88 $\mu\text{mol.l}^{-1}$; Bíreš a i., v tlači), pri ktorej behom rastu, vývoja a ochorenia môžu byť zreteľne alterované obranné mechanizmy organizmu (Poleník, 1987). Cunningham — Rundles a i. (1980) zaznamenali u pacientov so zníženou hladinou zinku aj pokles koncentrácie IgG. Pretože táto trieda Ig je v sére teliat a kráv kvantitatívne najviac zastúpená a jej koncentrácia u teliat signifikantne koreluje s hladinou CS-Ig (Paulík, 1983), je možné zaznamenanú počiatočnú hypogamaglobulinémiu pripísať najmä jej ovplyvnením. Od ôsmeho dňa experimentu (revakcinácie) bol u obidvoch skupín teliat *Pt*-testom preukázaný signifikantný vzostup koncentrácie CS-Ig (s vrcholom v 15. dni), čo možno charakterizovať ako sekundárnu imunitnú odpoveď sprostredkovanú pamäťovými lymfocytmi bunkami (Wilkie, 1974). Úroveň CS-Ig bola u teliat ZnR v období od 3. do 30. dňa sledovania vyššia ($P < 0,05$) než u teliat R. V tomto časovom období bola pri sérovom zinku zaznamenaná štatisticky významná rozdielnosť hodnôt ($P < 0,01$) v prospech teliat ZnR, pričom jeho hladina u teliat R poukazovala počas celého experimentu na okrajovú hypozinkémiu (Bíreš a i., 1989). Závislosť v tvorbe protilátok u experimentálnych zvierat s adekvátnym a nízkym príjmom zinku po následnej vakcinácii proti listerióze pozorovali Mc Murray a i. (1986).

Gershwin a i. (1983) zistili u pacientov pri podávaní zinku zvýšenú koncentráciu albumínu a jeho transportnú schopnosť pre zinok. U nami sledovaných skupín teliat sme na konci pozorovacieho obdobia zistili vyrovnanie úrovne sérového albumínu, hoci u teliat ZnR bola jeho koncentrácia nižšia, hlavne počas prvých ôsmich dní experimentu.

Prehľad o účinku stresových faktorov (napr. teplota, transport, manipulácia so zvieratami a pod.) na odolnosť zvierat proti ochoreniu a na alteráciu celulárnych a humorálnych obranných dejov podáva Kelley (1980). Pre stresované teľatá je charakteristická leukocytóza, neutrofilia, zvýšená fagocytárna aktivita neutrofilov, pokles počtu *T* lymfocytov a redukcia ich blastogenézy (Murata a i., 1985a, b; 1987). U teliat skupiny ZnR a R (menej intenzívne) sa zvýšil počet potenciálnych fa-

gocytov (pričom ide hlavne o neutrofilu) a následne aj fagocytujúcich buniek. Vplyv stresu na túto zmenu vylučuje tak štatisticky preukazné (*St-test*, $P < 0,01$, resp. $0,05$) vyššie zastúpenie uvedených ukazovateľov u teliat ZnR v 24. hodine po aplikácii, ako aj ich vyššiu úroveň (*St-test*, $P > 0,05$) až do 30. dňa experimentu, v porovnaní ku skupine R. Fra-ker a i. (1986) zistili signifikantné zníženie fagocytárnej schopnosti makrofágov a mikrofágov pri karencii zinku, ktorú však reštaurovali po jeho aplikácii. Pozitívny vplyv orálnej suplementácie zinku na aktivitu fagocytov zaznamenali aj Sommer a i. (1975), ktorí podobne ako Chandra a Puri (1985) poukazujú na dôležitosť podaného množstva zinku. Homeostatická kontrola produkcie fagocytov je riadená úrovňou GM-CSF (granulocyte-macrophage colony stimulating factor). Pre akútne stavy je charakteristické uvoľňovanie (najmä z makrofágov a lymfocytov) veľkého množstva tohto faktora, prostredníctvom ktorého sa z CFU-GM (granulocyte-macrophage colony forming cells) vyvíjajú hlavne granulocyty (Mayer, 1984). Zvýšenie potenciálnych fagocytov a následne fagocytujúcich buniek v našom experimente je možno predpokladať aj z akútnej záťaže organizmu teliat (aplikácia živého antigénu, resp. aj zinku chorým teľatám), hlavne pri kombinovanej aplikácii, t. j. po podaní vakcíny a zinku.

Nižšie hodnoty indexu fagocytárnej aktivity u teliat ZnR v porovnaní k teľatám R vysvetľujeme tým, že v teste fagocytózy je množstvo dodávaných partikul stále konštantné, takže pri výraznejšom vzostupe percenta potenciálnych fagocytov a fagocytujúcich buniek je znížená možnosť ingescie väčšieho počtu častíc každou fagocytózy schopnou bunkou. Podobné sledovanie pri testovaní fagocytárnej aktivity *in vitro* u teliat zaznamenali aj La Motte a Eberhart (1976) a Paulík a i. (1987).

Toman a i. (1985) poukazujú na vekovú závislosť fagocytárnej aktivity krvných leukocytov. V našom predošlom sledovaní (Paulík a i., 1987) sme u tri a poltýždňových teliat zistili 24,5 % fagocytujúcich buniek s indexom fagocytárnej aktivity o hodnote 6,0, čo je porovnateľné s počiatočnými hodnotami FB (23 až 24 %) a IFA (4,8 až 5,0) u teliat v tomto experimente, ale vyššie od hodnôt, ktoré zistili Toman a i. (1985) u trojtýždňových (17,2 % FB s IFA 1,6) i trojmesačných (18,6 % FB s IFA 7,1) teliat, okrem IFA u teliat starších.

Na rozdiel od doterajších pozorovaní (Toman a Pšikal, 1985; Toman a i., 1985; Paulík a i., 1987) sme zaznamenali ingesciu partikul nielen neutrofilami a monocytami, ale aj eozinofilami.

Literatúra

- BÍREŠ, J. — VRZGULA, L.: Klinický a biologický význam zinku pre prežúvavce. *Veterinárství*, 35, 1985, č. 2, s. 62-64.
- BÍREŠ, J. — VRZGULA, L.: Zinok ako imunomodulátor u prežúvavcov a ošipáných. *Veterinárství*, 38, 1988, č. 2, s. 62-64.
- BÍREŠ, J. — VRZGULA, L. — PAULÍK, Š. — HOJEROVÁ, A. — NEDVĚD, Z.: Parenterálna aplikácia zinku vo vzťahu k vývoju klinických zmien pri trochofytóze teliat. *Veterinárství*, 39, 1989, č. 9, s. 411-414.
- BLAZSEK, I. — MATHE, G.: Zinc and immunity. *Biomed. Pharmacother.*, 38, 1984, s. 187-193.
- BOUDA, J.: Studium klinicko-biochemických ukazateľov u teliat ve vzťahu matka

a mládě a jejich využití v diagnostice a prevenci onemocnění telat. [Doktorská dizertace.] Brno 1986. 235 s. — Vysoká škola veterinární.

CUNNINGHAM—RUNDLES, S. — DUPONT, C. — GOOD, G.: New findings on the role of zinc as a biological response modifier. Clin. Immunol. Immunopath., 16, 1980, s. 115.

FRAKER, P. J. — JORDIEW, P. — WIRTH, J.: The immunopathological consequences of zinc deficiency. Nutritional disease: Research directions in comparative pathobiology. Alan R. Liss, Inc., 1986, s. 197-213.

GERSHWIN, M. E. — BEACH, R. — HURLEY, L.: Trace metals, aging and immunity. J. Amer. geriatr. Soc., 31, 1983, č. 6, s. 374-378.

CHANDRA, R. K. — PURI, S.: Trace element modulation of immune responses and susceptibility to infection. In: Trace elements in nutrition of children.

CHANDRA, R. K. E(d.). New York, Vevey/Raven Press 1985, s. 87-101.

KACHNIČ, M. — TKÁČIK, Š.: Výsledky mykologického vyšetrovania trichofýcie hovädzieho dobytku z hľadiska dermatomykóz u pracovníkov v poľnohospodárstve. Českoslov. Dermatol., 38, 1963, č. 1, s. 43-46.

KELLEY, K. W.: Stress and immune function: a bibliographic review. Ann. Rech. vétér., 11, 1980, č. 4, s. 445-478.

LA MOTTE, G. B. — EBERHART, R. J.: Blood leucocytes, neutrophil phagocytosis and plasma corticosteroids in colostrum — fed and colostrum — deprived calves. Amer. J. veter. Res., 37, 1976, č. 10, s. 1189-1193.

MAYER, P.: Die Rolle von Makrophagen in der Abwehr von Infektionskrankheiten. Wien. tierärztl. Mschr., 71, 1984, č. 12, s. 345-352.

Mc EWAN, A. D. — FISHER, E. W. — SELMAN, I. E. — PENHALE, W. J.: A turbidity test for the estimation of immune globulin levels in neonatal calf serum. Clin. chim. Acta, 27, 1970, s. 155-163.

Mc GUIRE, T. C. — PFEIFER, N. E. — WEIKEL, J. M. — BARTSCH, R. C.: Failure of colostral immunoglobulin transfer in calves dying from infectious disease. J. Amer. veter. med. Assoc., 169, 1976, č. 7, s. 713-718.

Mc MURRAY, D. N. — CARLOMAGNO, M. A. — POWANDA, M. C.: Effect of dietary zinc and pulmonary listeriosis on biochemical indicators of infection. Nutr. Rep. int., 33, 1986, č. 1, s. 5-11.

MURATA, H. — TOKAHASHI, H. — MATSUMOTO, H.: Influence of truck transportation of calves on their cellular immune function. Jap. J. veter. Sci., 47, 1985a, č. 5, s. 823-827.

MURATA, H. — TAKAHASHI, H. — MATSUMOTO, H.: NBT reduction activity of peripheral blood phagocytes in calves untreated or exposed to some stressors. Bull. nat. Inst. anim. Hlth, 88, 1985b, s. 17-24.

MURATA, H. — TAKAHASHI, H. — MATSUMOTO, H.: The effects of road transportation on peripheral blood lymphocyte subpopulations, lymphocyte blastogenesis and neutrophil function in calves. Brit. veter. J., 143, 1987, č. 2, s. 166-174.

PAULÍK, Š.: Štúdium prirodzenej a získanej odolnosti teliat v priemyselných podmienkach chovu. [Kandidátska dizertácia.] Košice 1983. 209 s. — Vysoká škola veterinárska.

PAULÍK, Š. — SLANINA, L. — BOMBA, A. — POLÁČEK, M.: Imunobiologický profil teliat v zdravotne extrémnych podmienkach. Veter. Med. (Praha), 28, 1983, č. 11, s. 669-678.

PAULÍK, Š. — SLANINA, L. — MALOVEC, B. — POLÁČEK, M.: Absorpcia koľostrálnych imunoglobulínov a jej závislosti. Veter. Med. (Praha), 29, 1984, č. 3, s. 137-149.

PAULÍK, Š. — SLANINA, L. — DUBAJ, J. — SKOTNICKÝ, J. — GEDEON, V.: Fagocytóza teliat a jej dynamika po experimentálnom zásahu. Veter. Med. (Praha), 32, 1987, č. 2, s. 93-104.

PAVLAS, M. — WILLOMITZER, J. — MRVA, V. — PATLOKOVÁ, V. — PROCHÁZKA, F.: Preventivní léčebná účinnost vakcíny proti trichofytóze u skotu. Veter. Med. (Praha), 24, 1979, č. 4, s. 209-216.

POLÁČEK, M.: Základy biometriky pre veterinárnych lekárov. Bratislava, Príroda 1984. 100 s.

POLENÍK, P.: Zinek jako imunomodulátor. Prakt. Lékař, 67, 1987, č. 8, s. 283-285.

SLANINA, L. a kol.: Zdravie a chorobnosť teliat v priemyselnej produkcii. Bratislava, Príroda 1977. 335 s.

SLANINA, L. — BESEDA, I.: Metabolický profil hovädzieho dobytku vo vzťahu k zdraviu a úžitkovosti. Bratislava, ÚVIO ŠVS MPVŽ SSR 1979. 150 s.

SOMMER, E. — ZALEWSKA, E. — CAKALA, S.: The effect of zinc on some immune parameters in beef calves. Bull. veter. Inst. Pulawy, 19, 1975, č. 1-2, s. 32-37.

TOMAN, M. — PŠIKAL, I.: Test fagocytární aktivity krevních leukocytů telat. Veter. Med. (Praha), 30, 1985, č. 7, s. 393-400.

TOMAN, M. — PŠIKAL, I. — MENŠIK, J.: Fagocytární aktivita krevních leukocytů telat od narození do věku tří měsíců. Veter. Med. (Praha), 30, 1985, č. 7, s. 401-408.

WILKEI, B. N.: Review of bovine immunology for the veterinary practitioner. Can. veter. J., 15, 1974, č. 9, s. 243-248.

Došlo dňa 23. 3. 1989

ПАУЛИК, Ш. — ВРЗГУЛА, Л. — БИРЕШ, Й. — ГОЕРОВА, А. — НЕДВЕД, З. (Местное ветуправление, Кошице; Институт ветеринарии, Кошице; Институт эксперим. ветеринарии, Кошице; Районное ветуправление, Свидник): **Уровень фагоцитарной активности лейкоцитов крови, концентрация сывороточных иммуноглобулинов и альбумина после парентерального введения цинка с вакциной против трихофитоза телят.** Veter. Med. (Praha), 35, 1990 (4) : 207-215.

Рассматривается уровень всех иммуноглобулинов сыворотки (CS-Ig), альбумина сыворотки и фагоцитарной активности лейкоцитов крови 5-месячных трихофитозных телят в зависимости от (новой) прививки живой неvirulentной вакцины против трихофитоза (группе R) и ее одновременном применении с инъекционным препаратом на базе цинка (группа ZnR). У второй группы (5 мг Zn.kg⁻¹ ж.в.) отметили достоверное воздействие на % содержание потенциальных фагоцитов в крови (к уровню до введения: $P < 0,01$ на 1-й день, $P < 0,05$ на 3-й, 8-й и 30-й дни) в сравнении с группой R: $P < 0,01$ за 24 часа и % фагоцитарных клеток (к уровню до введения: $P < 0,05$ на 1-й и 30-й дни; в сравнении с группой R: $P < 0,05$ за 24 часа). Воздействия на индекс фагоцитарной активности не отмечены. Уровень CS-Ig положительно достоверен у обеих групп в сравнении с величиной до введения (на 8-й, 15-й, 30-й и 60-й дни определения, $P < 0,05$ и $0,01$), но не при взаимной оценке групп. У альбумина значимо возросла ($P < 0,05$) концентрация на 15-й день в обеих группах. Первоначально более низкая концентрация в группе ZnR в начале эксперимента в конце достигла уровня группы R.

трихофитоз; вакцинация; цинк; телята; фагоцитоз; иммуноглобулины сыворотки; сывороточный альбумин

PAULÍK, Š. — VRZGULA, L. — BÍREŠ, J. — HOJEROVÁ, A. — NEDVĚD, Z. (Municipal Veterinary Administration; Košice; University School of Veterinary Medicine, Košice; Institute of Experimental Veterinary Medicine, Košice; District Veterinary Administration, Svidník): *The level of activity of phagocytosis of blood leucocytes, the concentrations of serum immunoglobulins and albumin after parenteral administration of zinc during antitrichophytosis vaccination in calves.* Veter. Med., (Praha), 35, 1990 (4) : 207-215.

The study dealt with the evaluation of the contents of the total serum immunoglobulins (CS-Ig), serum albumin, and with the phagocytic activity of blood leucocytes in trichophytosis-affected calves (aged 4 months), in dependence on the doses (revaccination) of the live avirulent vaccine against trichophytosis (the calf group R) and its administration with a zinc based-injection preparation (calf group ZnR). In calf group ZnR (5 mg Zn.kg⁻¹ l. w.) there was a potentiating effect on the percentual proportion of potential blood phagocytes (compared with data before administration: $P < 0.01$ on the first day, $P < 0.05$ on the third, eighth and thirtieth day; in comparison with the group of calves R: $P < 0.01$ during a 24h experiment) and on the percentage of phagocytic cells (compared with data before administration: $P < 0.05$ the first and 30th day; compared with calf group R: $P < 0.05$ in a 24h experiment. No effect on the index of phagocytic activity was observed.

In both groups positive statistical significance was stated in the level of CS-Ig, as compared with the value before administration (on the 8th, 15th, 30th and 60th day of investigation, $P < 0.05$, resp. 0.01), but there was no significance when the groups were compared with each other. Significant increase was stated in serum immunoglobulin concentration on the 15th day of examination within each group of calves. Its concentration in calf group ZnR was lower at the beginning of the experiment and at the end of the experiment it was almost exactly the same as in calf group R.

trichophytosis; vaccination; zinc; calves; phagocytosis; serum immunoglobulin; serum albumin

PAULÍK, Š. — VRZGULA, L. — BÍREŠ, J. — HOJEROVÁ, A. — NEDVĚD, Z. (Städtische Veterinärverwaltung, Košice; Hochschule für Veterinärmedizin, Košice; Institut für experimentelle Veterinärmedizin, Košice; Kreisveterinärverwaltung, Svidník): *Niveau der phagozytären Aktivität der Leukozyten, der Konzentration von Serumimmunoglobulinen und von Albumin nach parenteraler Zn-Applikation bei der Impfung gegen die Trichophytose der Kälber*. Veter. Med. (Praha), 35, 1990 (4) : 207-215.

Die vorliegende Arbeit beurteilt das Niveau der gesamten Serumimmunoglobuline (CS-Ig), des Serumalbumins als auch der phagozytären Aktivität der Leukozyten bei fünfmonatigen trichophytischen Kälbern in Abhängigkeit von der Verabreichung (Revakzination) der vitalen avirulenten Vakzine gegen die Trichophytose (Kälbergruppe R) und ihrer gleichzeitigen Applikation mit einem Impfstoff auf der Grundlage von Zn (Kälbergruppe ZnR). Bei der ZnR-Kälbergruppe (5 mg Zn $\cdot$ kg⁻¹ Lebendgewicht) wurde eine potentielle Wirkung auf die prozentuelle Vertretung der potentiellen Futterphagozyten (zum Niveau vor der Applikation: $P < 0,01$ am ersten Tag, $P < 0,05$ am 3., 8., 30. Tag) im Vergleich zur Kälbergruppe R: $P < 0,01$ in einem 24stündigen Versuch) und den Prozentsatz der phagozytierenden Zellen (zum Niveau vor der Applikation: $P < 0,05$ am 1. und 30. Tag; im Vergleich zur Kälbergruppe R: $P < 0,05$ in einem 24stündigen Versuch) ermittelt. Es konnte keine Wirkung auf den Index der phagozytären Aktivität nachgewiesen werden. Das Cs-Ig-Niveau wies eine positive statistische Signifikanz bei den beiden Gruppen im Vergleich zum Wert vor der Applikation (am 8., 15., 30 und am 60. Untersuchungstag, $P < 0,05$ bzw. 0,01), keinesfalls aber bei der gegenseitigen Bewertung der Gruppen auf. Beim Serumalbumin konnte ein signifikanter Anstieg ($P < 0,05$) der Konzentration am 15. Untersuchungstag im Rahmen einer jeden Kälbergruppe beobachtet werden. Seine niedrigere Konzentration bei den ZnR-Kälbern zu Versuchsbeginn erreichte am Ende unserer Untersuchungen das Niveau der Gruppe R.

Trichophytose; Vakzination; Zink; Kälber; Phagozytose; Serumimmunoglobuline; Serumalbumin

Adresy autorov:

MVDr. Štefan Paulík, CSc., prof. MVDr. Leopold Vrzgula, DrSc., Vysoká škola veterinárska, Komenského 73, 041 81 Košice

MVDr. Andrea Hojerová, Mestská veterinární správa, Komenského 73, 041 81 Košice

MVDr. Jozef Bíreš, CSc., Ústav experimentálnej veterinárnej medicíny, Dukelských hrdinov 1/A, 041 81 Košice

MVDr. Zdenek Nedvěd, Okresná veterinárna správa, Letná 2, 089 01 Svidník

SLOVAR VETERINARNYCH GISTOLOGICKÝCH TERMINOV

SLOVNÍK VETERINÁRNÍCH HISTOLOGICKÝCH TERMÍNŮ

Ju. T. Tehver

Rosagropromizdat, Moskva 1989, 126 s.

Publikace je koncipována jako slovník vysvětlující, obsahující více jak 700 termínů a hesel. Na rozdíl od dřívějších nomenklatur zatížených mnoha eponymy a nezfídka i synonymy, použil autor a důsledně dodržuje Nomina histologica veterinaria, schválená a přijatá jako oficiální mezinárodní histologické názvosloví na Světovém kongresu veterinárních anatomů v Mexiku v roce 1980.

Profesor Ju. T. Tehver přednášel dlouhá léta histologii a embryologii nejen na veterinární, ale i na lékařské fakultě v Tartu. Jeho mimořádné didaktické schopnosti spolu s dlouholetou pedagogickou činností se zákonitě projeví v jasném, precizním a přitom stručném, i když individuálně podle povahy hesla různě rozsáhlém, popisu. Zahrnuty jsou nejnovější poznatky jak světelné tak elektronové mikroskopie a histochemie. Kromě látky z cytologie, histologie a mikroskopické anatomie jsou v příslušných souvislostech zařazeny též některé pojmy z embryologie a anatomie. I zde jsou důsledně dodržovány internacionální nomenklatury — Nomina embryologica (1970) a Nomina anatomica veterinaria (1973). Je třeba zdůraznit, že tyto nomenklatury se od dřívějších verzí neliší jen formálně, ale nezřídka zcela novým pojetím a vyjádřením struktur na základě nových vědních poznatků.

Termíny, resp. hesla, jsou ve slovníku seřazeny abecedně. Uvedeny jsou nejprve ruský, pak latinský, resp. řecký v latinské transkripci. Složitější pojmy jsou tvaroslovně rozloženy a objasněny s ruskými ekvivalenty. Základní termín je, jak bývá ve slovnících zvykem, v nominativu singuláru, s koncovkou genitivu a vyjádřením rodem.

Publikace bude nepochybně bohatě využívána nejen v oblasti základních disciplin veterinární medicíny (morfologie, fyziologie, patofyziologie a patomorfologie), ale i v řadě dalších oborů, klinické nevyjímaje; v neposlední řadě i v dalších biologických oborech, které v různém stupni přicházejí do kontaktu s cytologickou, histologickou a mikroanatomickou problematikou. Informace obsažené ve slovníku jsou plně na současné vědecké úrovni. Podle charakteru a závažnosti hesla je vysvětlující text různě rozsáhlý. Nejednou poskytuje o dané struktuře i více termínů než základní oficiální nomenklatura.

Histologický slovník od prof. Tehvera je sice knížka útlá, je však rozhodně výrazným přínosem nejen pro zkvalitnění a usnadnění odborných překladů, ale i pro každého, kdo se setká s problematikou rusko-latinské histologické terminologie. Jeho vydání ocení především všichni ti, kteří znají svízele se specializovanými odbornými překlady. Většinu ve slovníku uvedených pojmů lze těžko najít v běžných i sebeobjemnějších slovnících a některé, zejména ty, jež vyplynuly z nejnovějších vědeckých poznatků, nenajdeme ani ve slovnících specializovaných. Neměl by chybět nejen v knihovnách veterinárních a zootechnických fakult, výzkumných a vědeckých ústavů biologického zaměření, ale především v osobní knihovně pracovníků těchto institucí jako pohotový pramen k získání jak nových faktů, tak k racionální kontrole a rekapitulaci vědomostí již dříve si osvojených.

Doc. MVDr. Jiří K a m a n, CSc., Vysoká škola veterinární, Palackého 1—3, 612 42 Brno

MORFOMETRICKÁ ANALÝZA AKTIVITY ALKALICKÉ FOSFATÁZY V TENKÉM STŘEVĚ SELAT INFIKOVANÝCH KOKCIDII

ISOSPORA SUIIS

M. Kudweis, I. Juliš, Z. Lojda, J. Vítovec, B. Koudela

KUDWEIS, M. — JULIŠ, I. — LOJDA, Z. — VÍTOVEC, J. — KOUDELA, B. (Parazitologický ústav ČSAV, České Budějovice; Laboratoř pro histochemii při lékařské fakultě Univerzity Karlovy, Praha): *Morfometrická analýza aktivity alkalické fosfatázy v tenkém střevě selat infikovaných kokcií Isospora suis*. Veter. Med. (Praha), 35, 1990 (4) : 217-229.

U gnotobiotických selat infikovaných první den po porodu (dále DPP) dávkou 100 000 oocyst kokcie *Isospora suis* a utracených třetí až jedenáctý den po infekci (dále DPI) jsme provedli morfometrickou analýzu aktivity alkalické fosfatázy (EC 3.1.3.1.) v oblasti mikrovilózní zóny tenkého střeva. U kontrolních zvířat dva až sedm dnů starých jsme zjistili, že tenké střevo není rovnoměrně vybaveno alkalickou fosfatázou. V duodenu dosahovala aktivita 88,37 % aktivní délky absorpčního povrchu (dále %LAac), ve středním jejunu 95,98 %LAac, v zadním jejunu 78,63 %LAac a v ileu 90,55 %LAac. Šířka aktivní plochy měla rovnoměrnější hodnoty a pohybovala se od 5,003 μ m v ileu do 6,129 μ m v zadním jejunu. U infikovaných gnotobiotických selat byla zjištěna nejnížší aktivita 3. až 4. DPI s dalším výraznějším poklesem 9. DPI. 3. DPI jsme zjistili rozmezí od 25,99 do 40,50 %LAac s minimem v duodenu a s maximum v ileu. Střední a zadní jejunum mělo aktivitu téměř shodnou (28,34 a 27,69 %LAac). 4. DPI nastal mírný vzestup až na 47,13 %LAac v zadním jejunu, s výjimkou ilea, ve kterém aktivita alkalické fosfatázy klesla na 24,96 %LAac. 9. DPI byla aktivita alkalické fosfatázy téměř shodná v celém tenkém střevě (od 55,70 do 60,01 %LAac) s maximum ve středním jejunu. U šířky reakčního produktu se projevovала přímá závislost na celkové aktivitě alkalické fosfatázy pouze v úseku středního a zadního jejunu a v ileu, ale pouze v období 3. až 4. DPI. Nejnížší hodnoty jsme naměřili ve středním jejunu (0,982 μ m 3. DPI a 0,709 μ m 4. DPI). 9. DPI jsme závislost celkové aktivity a šířky reakčního produktu neprokázali. Do konce sledovaného období, tj. do 11. DPI, celková stabilizace aktivity alkalické fosfatázy nenastala.

experimentální infekce; *Isospora suis*; morfometrická analýza; alkalická fosfatáza; gnotobiotická selata

Kokcii *Isospora suis* popsali Biester a Murray (1934), dlouho se jí však nepřikládal žádný praktický význam. Za významného enteropatogena je považována až v posledním desetiletí (Eustis a Nelson, 1981). Uplatňuje se v komplexu s ostatními agens nebo individuálně jako původce průjemového onemocnění sajících selat. Patologií a patogenezí experimentálních infekcí kokcií *I. suis* se zabývali Stuart aj. (1982), Robinson aj. (1983), Harleman a Meyer (1984–1985) a Vítovec a Koudela (1990). Patologické změny při experimentální infekci kokcií *I. suis* se mohou vyskytovat v celém tenkém střevě, těžší jsou však nálezy ve středním a zadním jejunu a v ileu (Sanford, 1983; Jones aj., 1985).

Změněný histologický obraz sliznice tenkého střeva má za následek různé funkční poruchy, které výrazně ovlivňují nástup a rychlost regeneračních a reparativních procesů. Významnou součástí sliznice tenkého střeva je mikrovilózní zóna, ve které jsou různé enzymy [Lojda, 1974]. Pro posouzení funkčního stavu mikrovilózní zóny má zásadní význam aktivita alkalické fosfatázy [Lojda, 1967]. Studium její aktivity a morfometrické analýze sliznice tenkého střeva se za různých patologických a infekčních stavů věnovalo již více autorů. U selat se topochemií alkalické fosfatázy zabývali Holman a Padalíková (1964), histochemií a morfologické vyhodnocení sliznice tenkého střeva selat studovali Hornich aj. (1973, 1974, 1977). U telat se touto problematikou zabývali Landsverk (1981), Stiglmair — Herbová aj. (1986); Stiglmair — Herbová a Pospischil (1986) a Pospischil aj. (1986). Histochemií a funkční stav sliznice tenkého střeva u konvenčních a gnotobiotických selat infikovaných kokcií *I. suis* studovali Kudweis aj. (1989a—d, 1990).

Smyslem naší práce je objektivní metodou průkazu aktivity alkalické fosfatázy posoudit funkční stav sliznice tenkého střeva a přesně určit lokalizaci nejvážnější destrukce mikrovilózní zóny a celého patologického procesu.

MATERIÁL A METODA

Pro morfometrickou analýzu aktivity alkalické fosfatázy jsme použili fixovaný materiál, který pocházel od gnotobiotických selat infikovaných dávkou 100 000 oocyst kokcií *I. suis* a který byl charakterizován již dříve (Kudweis aj., 1989b, 1990). Pro přehlednost je zpracovaný materiál a počet vyšetřených zvířat uveden v tab. I. Vzorky tenkého střeva byly odebrány stejným způsobem, který uvádějí Kudweis aj. (1989b). Pro tuto práci byly z bločků, které byly zalaty zkráceným

I. Přehled zpracovaného materiálu (* infekční dávka 100 000 oocyst kokcií *I. suis*; ** kontrolní gnotobiotická selata) — Review of processed material (* the infective dose of 100 000 oocysts coccidia *I. suis*; ** the control gnotobiotical piglets)

Skupina	Sele	Infekce v DPP	Utracení v DPI	Věk
I*	ISG19	1	3	4
	ISG20	1	3	4
	ISG23	1	4	5
	ISG11	1	5	6
	ISG24	1	5	6
	ISG25	1	6	7
	ISG26	1	6	7
	ISG12	1	7	8
	ISG13	1	8	9
	ISG15	1	9	10
	ISG17	1	10	11
	ISG21	1	11	12
II**	K1—K4	0	0	2—7

1. Přehled morfometrických údajů při použití T.A.S. (Texture Analysis System) — Review of the morphometric data using T.A.S.

		area μm^2
		délka absorpčního povrchu [LA] μm
		délka aktivního absorpčního povrchu [LAac] μm
		celkový podíl aktivní délky absorpčního povrchu [% LAac] $(n + n + n + \dots) \%$
		aktivní šířka [W] μm

způsobem, pořízeny řezy o tloušťce od 5 do 7 μm . Po odparafinování byly řezy inkubovány. Jako substrátu jsme použili Naphthol-AS-MX-Phosphat fy Fluka a stabilní diazoniové soli Fast Blue BB. pH pracovního prostředí bylo 9,2 a doba inkubace nepřesáhla 60 minut. Teplota během inkubace byla 37 °C (Lojda aj., 1979).

Pro analýzu aktivity alkalické fosfatázy jsme použili T.A.S. (Texture Analysis System fy Leitz, NSR). Mikroskop Orthoplan byl vybaven počítačem řízeným průběžným interferenčním filtrem, který umožňuje kontinuální analýzu spektrální charakteristiky výsledného reakčního produktu. Optimální vlnová délka použitá při analýze byla 480 nm a bylo při ní dosaženo maximální absorpce reakčního produktu. Po celou dobu pozorování jsme používali objektiv 20X. Z každého úseku tenkého střeva jednotlivých selat jsme vyhodnotili 20 řezů a výsledky jsme zpracovali v průměrných hodnotách do statistického přehledu. Šířku reakčního produktu jsme určili z údajů deseti měření na jednom slizničním klku. Na každém řezu bylo hodnoceno až deset klků (s ohledem na destrukci tkáně). Pro vyhodnocení výsledků jsme stanovovali plochu aktivního pole (area), celkovou délku absorpčního povrchu (LA), aktivní délku absorpčního povrchu (LAac), šířku deponovaného reakčního produktu (W) a tyto údaje jsme doplnili výpočtem procentuálního podílu aktivní délky absorpčního povrchu (% LAac). K objektivnímu vyhodnocení aktivity alkalické fosfatázy jsme zvolili % LAac a W (obr. 1). Součástí analýzy bylo stanovení extinkce, která vyjadřuje průměrnou optickou densitu reakčního produktu (Ext).

VÝSLEDKY

U kontrolních selat ve věku dva až sedm dnů jsme zjistili nepravdělné rozložení aktivity alkalické fosfatázy. Největší aktivita byla nalezena ve středním jejunu (95,98 % LAac) a v ileu (90,55 % LAac). V duodenu byla aktivní délka alkalické fosfatázy 88,37 % LAac, v zadním jejunu byla její hodnota nejnižší (78,63 % LAac). Šířka reakčního produktu byla s výjimkou zadního jejunu (6,129 μm) značně vyrovnaná v průběhu celého tenkého střeva a pohybovala se v rozmezí 5,003 až 5,395 μm . Tomu odpovídaly i naměřené hodnoty extinkce. V úsecích s poměrně vyrovnanou šířkou reakčního produktu (duodenum, střední jejunum a ileum) byla densita rovněž značně stabilní (od 1,523 do 1,947). V zadním jejunu byla densita přes značnou šíři reakčního produktu nižší (0,945), což svědčí o poměrně nízké koncentraci alkalické fosfatázy na jednotku plochy. Lze uzavřít, že u kontrolních selat je alkalickou fosfatázou nejméně vybavena sliznice zadního jejunu.

U experimentálně infikovaných selat jsme zjistili několik shodných údajů. Všechny oddíly tenkého střeva prodělávají dvojstupňovitý pokles aktivity alkalické fosfatázy o různé intenzitě. První je patrný 3. den po infekci — DPI (u duodena, středního a zadního jejunu) a 4. DPI (u ileu). 3. DPI je nejnižší aktivita v duodenu (25,99 % LAac); ve středním a zadním jejunu je snížení aktivity nepatrně extenzivnější (28,34 a 27,69 % LAac). 3. DPI dosahuje aktivita v ileu hodnoty 40,50 % LAac, která se však 4. DPI značně snižuje (na 24,96 % LAac). Denzita směrem kauzálním 3. a 4. DPI s výjimkou středního jejunu klesá. Pokles aktivity alkalické fosfatázy je v ileu o jeden den opožděný. 5. DPI a další dny je patrný vzestup aktivity alkalické fosfatázy. Vrchol tohoto nárůstu je 7. DPI u zadního jejunu a ileu a 8. DPI u duodena a středního jejunu. V této době (od 5. do 8. DPI) je šířka reakčního produktu značně variabilní s výjimkou středního jejunu. Extinkce je v celém tenkém střevě poměrně stabilizována. V době mezi poklesy (5.—7. DPI, resp. 8. DPI) se v duodenu, zadním jejunu a ileu zvýšila aktivita alkalické fosfatázy nad fyziologickou úroveň. Zvýšení aktivity nastalo v zadním jejunu a ileu 7. DPI, v duodenu jsme nárůst zjistili 8. DPI. 9. DPI nastává v celém sledovaném úseku značný pokles aktivity alkalické fosfatázy na 55,70 % LAac (v ileu) až 60,01 % LAac (ve středním jejunu). Šířka reakčního produktu dosahuje poměrně vysokých hodnot (od 3,810 μm do 7,149 μm), ovšem s ohledem na nízkou extinkci (maximálně 0,761 v zadním jejunu) je možné předpokládat pouze nízkou koncentraci alka-

II. Duodenum — morfometrická analýza aktivity alkalické fosfatázy (DPP_{in} — infekce ve dnech po porodu; DPI_u — utracení ve dnech po infekci; ¹plocha aktivního pole; ²extinkce; ³celková délka absorpčního povrchu (LA); aktivní délka absorpčního povrchu (LAac); šířka reakčního produktu (W); ⁴procentuální podíl aktivní délky na celkové délce absorpčního povrchu) — Duodenum — morphometric analyse of the activity of alkaline phosphatase (DPP_{in} — infection after parturition day; DPI_u — kill days after infection; ¹the area of active field; ²extinction; ³the total length of absorptive surface (LA); active length of absorptive surface (LAac); width of reactive product (W); percentual proportion of the active length on the total length of absorptive surface)

DPP _{in}	DPI _u	Sele	Area ¹	Ext ²	LA ³	LAac ³	W ³	% LAac ⁴	Jednotky
1	3	ISG19	$\bar{x}$ 423	1,049	627	163	2,603	25,99	1 area μm^2
		ISG20							
1	4	ISG23	$\bar{x}$ 356	0,843	573	234	1,520	40,84	2 Ext v absolutních číslech
1	5	ISG11	$\bar{x}$ 2506	1,194	1077	630	3,977	58,49	
		ISG24							
1	6	ISG25	$\bar{x}$ 1273	0,705	1133	766	1,662	67,61	3 LA, LAac, W μm
		ISG26							
1	7	ISG12	$\bar{x}$ 3122	0,642	991	685	4,558	69,12	
1	8	ISG13	$\bar{x}$ 1707	0,703	759	714	2,391	94,07	
1	9	ISG15	$\bar{x}$ 5771	0,646	1444	807	7,149	55,88	4 % LAac %
1	10	ISG17	$\bar{x}$ 5691	0,927	1309	1290	4,411	98,54	
1	11	ISG21	$\bar{x}$ 4940	0,927	1640	1471	3,888	89,69	
0	0	K1—K4	$\bar{x}$ 8264	1,947	1917	1694	5,184	88,37	

III. Střední jejunum — morfometrická analýza aktivity alkalické fosfatázy — Middle jejunum — morphometric analysis of alkaline phosphatase activity

DPP _{in}	DPI _u	Sele	Area	Ext	LA	LAac	W	% LAac
1	3	ISG19	$\bar{x}$ 260	1,295	935	265	0,982	28,34
		ISG20						
1	4	ISG23	$\bar{x}$ 315	0,622	830	349	0,709	42,05
1	5	ISG11	$\bar{x}$ 2947	1,084	1415	779	3,783	55,05
		ISG24						
1	6	ISG25	$\bar{x}$ 4503	0,744	1812	1677	2,685	92,54
		ISG26						
1	7	ISG12	$\bar{x}$ 3010	0,620	1546	1289	2,341	83,18
1	8	ISG13	$\bar{x}$ 3813	1,067	1426	1324	2,880	92,84
1	9	ISG15	$\bar{x}$ 4271	0,762	1868	1121	3,810	60,01
1	10	ISG17	$\bar{x}$ 4211	1,150	1848	1395	3,019	75,48
1	11	ISG21	$\bar{x}$ 6559	0,912	1772	1374	4,772	77,54
0	0	K1—K4	$\bar{x}$ 10319	1,523	1993	1913	5,395	95,98

IV. Zadní jejunum — morfometrická analýza aktivity alkalické fosfatázy — Dorsal jejunum — morphometric analysis of alkaline phosphatase activity

DPP _{in}	DPI _u	Sele	Area	Ext	LA	LAac	W	% LAac
1	3	ISG19	$\bar{x}$ 547	0,993	1300	360	1,519	27,69
		ISG20						
1	4	ISG23	$\bar{x}$ 423	0,889	976	460	1,139	47,13
1	5	ISG11	$\bar{x}$ 2702	0,732	1479	697	3,875	47,12
		ISG24						
1	6	ISG25	$\bar{x}$ 3326	0,736	1400	1114	2,985	79,57
		ISG26						
1	7	ISG12	$\bar{x}$ 3416	0,753	1542	1399	2,441	90,73
1	8	ISG13	$\bar{x}$ 5361	1,101	1744	1511	3,548	86,64
1	9	ISG15	$\bar{x}$ 4179	0,761	1684	943	4,433	55,99
1	10	ISG17	$\bar{x}$ 5836	1,028	2118	1416	4,121	66,85
1	11	ISG21	$\bar{x}$ 8989	0,867	2101	1724	5,213	82,15
0	0	K1—K4	$\bar{x}$ 7668	0,945	1591	1251	6,129	78,63

lické fosfatázy na jednotku plochy v průběhu celého tenkého střeva. 10. DPI nastává v celém střevě vzestup aktivity alkalické fosfatázy a hodnoty se začínají upravovat na fyziologickou úroveň. Trvalou stabilizaci aktivity však nelze prokázat ani 11. DPI s ohledem na pokračující výkyvy hodnot procentuálního podílu aktivní délky (zejména v duodenu a ileu). 10. DPI v ileu a duodenu a 11. DPI v duodenu a zadním jejunu aktivita alkalické fosfatázy opět přesáhla fyziologické hodnoty.

DPP _{in}	DPI _n	Sele	Area	Ext	LA	LAac	W	% LAac
1	3	ISG19	$\bar{x}$ 1131	0,914	1037	420	2,690	40,50
		ISG20						
1	4	ISG23	$\bar{x}$ 378	0,821	1226	306	1,234	24,96
1	5	ISG11	$\bar{x}$ 3484	0,988	1603	939	3,708	58,39
		ISG24						
1	6	ISG25	$\bar{x}$ 3326	0,719	1415	860	3,868	60,77
		ISG26						
1	7	ISG12	$\bar{x}$ 6082	0,472	1821	1670	3,641	91,71
1	8	ISG13	$\bar{x}$ 5871	1,019	1857	1135	5,174	61,12
1	9	ISG15	$\bar{x}$ 2813	0,723	1052	586	4,798	55,70
1	10	ISG17	$\bar{x}$ 5137	0,932	1420	1290	3,981	90,84
1	11	ISG21	$\bar{x}$ 5567	0,843	2099	1598	3,982	76,13
0	0	K1—K4	$\bar{x}$ 8154	1,932	1715	1553	5,003	90,55

VI. Vývoj procentuálního podílu aktivní délky absorpčního povrchu v tenkém střevě během experimentální infekce kokcií *Isospora suis* — The development of percentual proportion of the active length of absorptive surface in the small intestine during experimental infection of coccidia *Isospora suis*

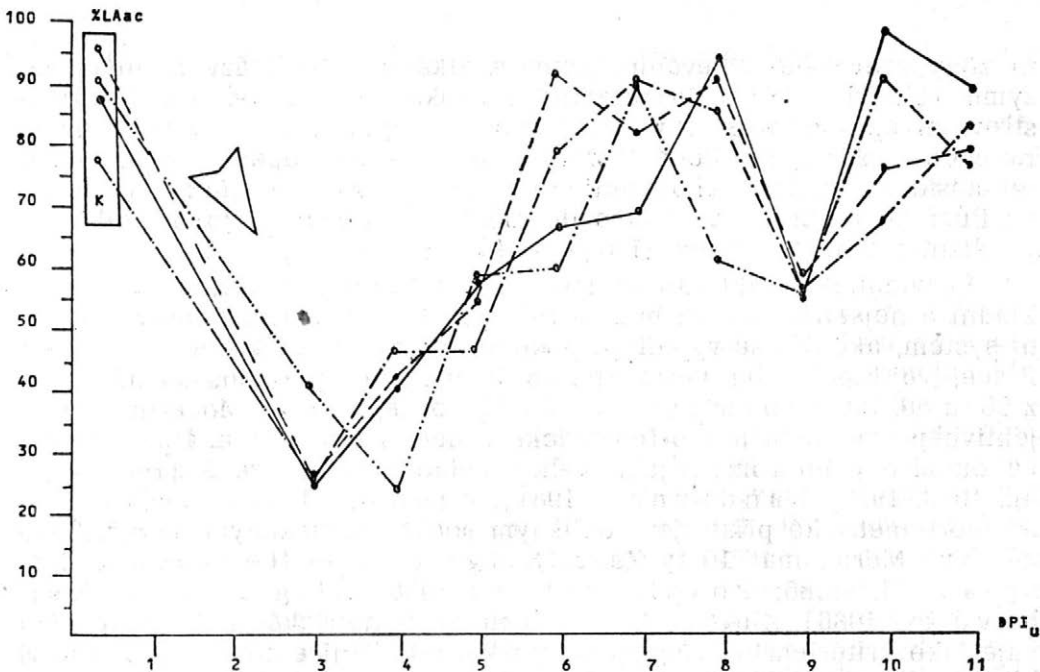
*Střevo	DPI3	DPI4	DPI5	DPI6	DPI7	DPI8	DPI9	DPI10	DPI11	K1-K4
D	25,99	40,84	58,49	67,61	69,12	94,07	55,88	98,54	89,69	88,37
J ₁	28,34	42,05	55,05	92,54	83,18	92,84	60,01	75,48	77,54	95,98
J ₂	27,69	47,13	47,12	79,57	90,73	86,64	55,99	66,85	82,15	78,63
I	40,50	24,96	58,39	60,77	91,71	61,12	55,50	90,84	76,13	90,55
$\bar{x}$	30,63	38,74	54,76	75,12	83,68	83,66	56,89	82,92	81,37	88,38

* D — duodenum; J₁ — střední jejunum; J₂ — zadní jejunum; I — ileum

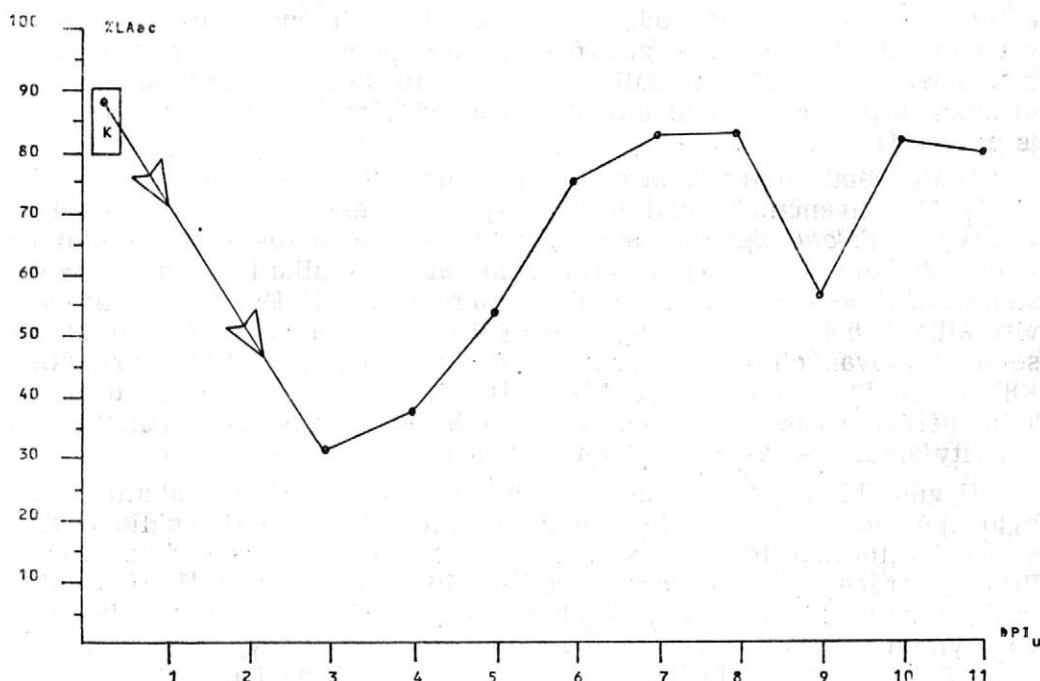
Aktivitu alkalické fosfatázy v jednotlivých úsecích tenkého střeva a průměrné hodnoty % LAac ve sledovaném období udávají tab. II až VI. Celkové porovnání našich výsledků je vyjádřeno na obr. 2 a 3. U selat utracených 3., 5. a 6. DPI jsme nezjistili podstatné rozdíly, a proto ve statistických přehledech uvádíme pouze průměrné hodnoty a nikoliv údaje zjištěné u jednotlivých selat.

DISKUSE

Enterocyty vznikají, stejně jako ostatní buňky sliznice, z enteroblastu. Enteroblast je nediferencovaná buňka krypt. Při posunu na klky dochází k jeho diferenciaci, která je skončena při přechodu z krypty na bázi klku [Lojda, 1967]. Dochází při ní k různým morfologickým a biochemickým změnám, z nichž nejdůležitější je vytvoření mikrovilóz-



2. Vývoj aktivity alkalické fosfatázy v tenkém střevě; K — výchozí hodnoty zjištěné u kontrolních zvířat — duodenum, — — — střední jejunum, — · — · — zadní jejunum, · · · · · ileum — The development of alkaline phosphatase activity in small intestine; K — starting values investigated with control animals; — duodenum, — — — middle jejunum, — · — · posterior jejunum, · · · · · ileum



3. Vývoj průměrných hodnot procentuálního podílu aktivní délky absorpčního povrchu (% LAac) v tenkém střevě selat infikovaných *Isospora suis* — The development of the mean values of the percentual proportion of active length of absorptive surface (% LAac) in the small intestine of piglets infected by *Isospora suis*

ní zóny provázené objevením aktivity alkalické fosfatázy a jiných enzymů (Lojda, 1983). První zmínku o lokalizaci alkalické fosfatázy ve střevním epitelu prasete v raném postnatálním období uvádí Konopacka (1955). Alkalická fosfatáza je vedle aminopeptidázy a alfa-D-glukosidázy enzym, jehož aktivita a její průkaz umožňuje detailnější studium funkčního stavu mikrovilózní zóny a úroveň fyziologického stavu sliznice tenkého střeva (Lojda, 1967).

Enzymatickou aktivitu je možné vyhodnotit několika způsoby. Základní a nejstarší formou hodnocení aktivity enzymů je remikvantitativní systém, aktivita se vyjadřuje počtem křížků (zpravidla + až ++++). Práce, ve kterých je tento způsob hodnocení uplatněn, pocházejí již z 50. a 60. let (Holman a Padalíková, 1964). Modernější a objektivnější metodou je morfometrické vyhodnocení obrazu. Hojně se užívá okulárový mikrometr jako velice jednoduché zařízení (Hornich aj., 1973, 1977; Landsverk, 1981). V poslední době se používají různé morfometrické přístroje s odlišným spektrem získaných údajů. Často se užívá Morphomat 10 fy Zeiss (Stiglmaier — Herbová a Pospischil, 1986; Pospischil aj., 1986; Stiglmaier — Herbová aj., 1986). Z uvedených způsobů morfometrické analýzy se stanovuje jako kritérium patologického poškození sliznice střevní výška klků, hloubka krypt a jejich vzájemný poměr a mitotický index. Uvádí se i počet intraepiteliálních lymfocytů jako ukazatel aktivity zánětlivého procesu v postižené tkáni (Pospischil aj., 1986).

V naší studii jsme použili zařízení, které se užívá pouze omezeně v lidské patologii při analýze nádorů (Juliš aj., 1988a; Julišová a Juliš, 1988) a při hodnocení ortopedických onemocnění (Skřivánková aj., 1986). V gastroenterologii poprvé u nás tento způsob morfometrické analýzy použili Juliš aj. (1988b). Naše hodnocení střevní sliznice při protozoární infekci hospodářských zvířat tímto zařízením je prioritní.

Histochemii tenkého střeva selat studovali Hornich aj. (1974, 1977). U konvenčních selat infikovaných ve věku 1 až 25 dnů různým sérotypem *E. coli* zjistili pokles aktivity alkalické fosfatázy u selat až kolem 20. dne věku. U zdravých selat aktivita alkalické fosfatázy ve sledovaném období mírně stoupala (Hornich aj., 1974). Zvýšení aktivity alkalické fosfatázy zaregistrovali v duodenu a ileu gnotobiotických selat infikovaných enteropatogenním 3272 a 3252 *E. coli* 0147: K89, K83 a K? (Hornich aj., 1977). U konvenčních selat infikovaných TGE (Transmissible Gastroenteritis Virus) virem zjistili výrazný pokles aktivity alkalické fosfatázy v jejunu a ileu.

U gnotobiotických a konvenčních selat infikovaných kokcií *I. suis* bylo zjištěno minimálně devítidenní trvání patogeneze kokcidie *I. suis* s dvojí alternací tenkého střeva (Vítovec a Koudela, 1990). První alterace byla nalezena 3. až 4. DPI a druhá fáze alternativních změn 8. až 9. DPI. Na obě fáze alterativních změn sliznice tenkého střeva plynule navazují reparativní a regenerační procesy, které probíhají 5. až 7. DPI a 10. až 12. DPI (Vítovec a Koudela, 1990). Těžiště protozoární infekce a patologických změn v celém tenkém střevě se v průběhu patogeneze posunuje směrem kraniálním. V první fázi infekce (3. až 7. DPI, resp. 8. DPI) jsou nejtěžší patologické změny v oblasti zadního jejunu. Ve druhé fázi izosporové infekce (8. DPI, resp.

9. až 12. DPI) jsou nejvýznamnější změny v středním jejunu (Vítovec a Koudela, 1990).

V průběhu celé experimentální infekce selat kokcií *I. suis* probíhá sliznice tenkého střeva rozsáhlé histochemické a morfologické změny. U experimentálně infikovaných konvenčních a gnotobiotických selat kokcií *I. suis* zjistili Kudweis aj. (1989c) značně narušený numerický poměr enterocytů a pohárkových buněk. Ve sliznici tenkého střeva je změněná syntéza mukosubstancí (Kudweis aj., 1989a) a sliznice není rovnoměrně aktivní na alkalickou fosfatázu (Kudweis aj., 1989d). Enterocyty se plně nediferencují a jsou vybaveny pouze omezeně mitochondriálními dehydrogenázami a monoaminoxidázou (Kudweis aj., 1989b). Naše výsledky svědčí o tom, že aktivita alkalické fosfatázy není na sliznici tenkého střeva rozložena pravidelně. Prokázali jsme však téměř shodnou šířku reakčního produktu a poměrně stabilní koncentraci. Hornich aj. (1974) vybavení jednotlivých úseků tenkého střeva alkalickou fosfatázou neuvádí. Bez možnosti srovnání se domníváme, že nejméně je alkalickou fosfatázou vybaveno zadní jejunum. Zjistili jsme, že shodně s projevem patologického procesu vyvolaným experimentální infekcí kokcií *I. suis* se mění i aktivita alkalické fosfatázy. První výrazný pokles jsme zaznamenali 3. DPI v duodenu a středním a zadním jejunu. V ileu bylo snížení aktivity opožděno o jeden den. Naše výsledky tedy souhlasně s nálezy, které popsali Vítovec a Koudela (1990), časově ohraničují první fázi alterativních procesů sliznice tenkého střeva. Koncentrace směrem kaudálním v období 3. až 4. DPI klesá, což dokumentuje skutečnost, že v době první alterativní fáze je alkalickou fosfatázou nejvíce vybaveno duodenum a střední jejunum a nejméně ileum (zejména 4. DPI). Zde se naše výsledky shodují s nálezy, které uveřejnili Hornich aj. (1977) u konvenčních selat infikovaných TGE virem.

5. až 7. DPI, resp. 8. DPI jsme zjistili nárůst aktivity alkalické fosfatázy v celém tenkém střevě. Toto období se shoduje s první fází reparativních a regeneračních procesů, které popsali Vítovec a Koudela (1990). Koncentrace reakčního produktu byla v tomto období stabilní, což svědčí o kvantitativní normalizaci syntézy alkalické fosfatázy, která dokonce 7. DPI v zadním jejunu a ileu a 8. DPI v duodenu je tak intenzivní, že aktivita alkalické fosfatázy převyšuje fyziologické hodnoty. 9. DPI jsme zjistili náhlý pokles aktivity v celém tenkém střevu. Tyto výsledky potvrzují nález druhé etapy alterativních změn 9. DPI (Vítovec a Koudela, 1990). Podstatně se snížila i koncentrace zbytkového reakčního produktu. Druhé fázi reparativních a regeneračních procesů odpovídá i naše další zjištění v období 10. DPI a dnů následujících. Nastal výrazný vzestup aktivity alkalické fosfatázy v celém tenkém střevě. 10. DPI v duodenu a ileu a 11. DPI v duodenu a zadním jejunu se aktivita zvýšila nad fyziologickou úroveň. Ve srovnání obou regeneračních a reparativních fází je zřetelný posun aktivnější syntézy alkalické fosfatázy směrem kaudálním. Jestliže se patologické změny posouvají kraniálně (Vítovec a Koudela, 1990), pak je tento nález významným doplňujícím zjištěním. Naše výsledky doplňují současné znalosti při použití moderních objektivních analytických metod o patogenezi a patologii kokcidie *I. suis* při experimentální infekci.

Přes známou lokalizaci patologického procesu při infekci gnotobiotických a konvenčních selat kokcií *I. suis* můžeme konstatovat, že funkční stav sliznice tenkého střeva je onemocněním porušen zejména 3. DPI v duodenu, středním a zadním jejunu a 4. DPI, v ileu a dále 9. DPI v celém tenkém střevě. V období 4. DPI, resp. 5. až 8. DPI, probíhá v tenkém střevě různě intenzivní syntéza s poměrně nízkou koncentrací deponované alkalické fosfatázy v mikrovilózní zóně. Od 10. DPI se tato nepravidelná syntéza opakuje a převažuje v zadních partiích tenkého střeva. Naše výsledky a dřívější zjištění (Kudweis aj., 1990) doplňují nálezy, které uveřejnili Vítovec a Koudela (1990). Experimentální infekce selat kokcií *I. suis* není onemocněním pouze jejunu a ileu, ale celého tenkého střeva.

Poděkování

Autoři děkují pracovníkům Výzkumného ústavu veterinárního lékařství v Brně za to, že jim umožnili uskutečnit experimentální část práce na gnotobiologických selatech v prostorách ústavu. Současně děkují za velmi pečlivé technické zpracování materiálu Markétě Mederové, pracovníci Parazitologického ústavu ČSAV v Českých Budějovicích.

Literatura

- BIESTER, H. E. — MURRAY, C.: Studies in infectious enteritis of swine. VIII. *Isospora suis* n. sp. in swine. J. Amer. veter. Med. Assoc., 85, 1934, s. 207-219.
- EUSTIS, S. L. — NELSON, D. T.: Lesions associated with coccidiosis in nursing piglets. Veter. Path., 18, 1981, s. 21-28.
- HARLEMAN, J. H. — MEYER, R. C.: Life cycle of *Isospora suis* in gnotobiotic and conventionalized piglets. Veter. Parasit., 17, 1984-1985, s. 27-39.
- HOLMAN, J. — PADALÍKOVÁ, D.: Histopatochemie alkalické fosfatázy ve střevním epitelu selat chovaných na semisyntetické vysokokalorické dietě v prvním měsíci života. Veter. Med. (Praha), 9, 1964, s. 399-408.
- HORNICH, M. — SALAJKA, E. — ŠTĚPÁNEK, J.: Malabsorption in newborn piglets with diarrhoeic *Escherichia coli* infection and transmissible gastro-enteritis. Zbl. Veter. Med., R. B., 24, 1977, s. 75-86.
- HORNICH, M. — SALAJKA, E. — ULMANN, L.: Enteric *Escherichia coli* infections. Morphological findings in the intestinal mucosa of healthy and diseased piglets. Veter. Path., 10, 1973, s. 484-500.
- HORNICH, M. — SALAJKA, E. — ULMANN, L. — ŠARMANOVÁ, Z.: Enteric *Escherichia coli* infection in piglets. Enzyme histochemical activity in the small intestine of healthy and diarrhoeic piglets. Acta Veter. (Brno), 43, 1974, s. 335-346.
- JONES, G. W. — PARKER, R. J. — PARKE, C. R.: Coccidia associated with enteritis in grower pigs. Austral. veter. J., 62, 1985, s. 319.
- JULISOVÁ, I. — JULIŠ, I.: Kvantitativní mikroskopická analýza dětských mozkových nádorů. Českoslov. Patol., 24, 1988, s. 1-9.
- JULIŠ, I. — JULISOVÁ, I. — BENEŠ, V.: Kvantitativní mikroskopická analýza pilocytických astrocytomů optické dráhy u dětí. Sbor. lék., 90, 1988a, s. 26-29.
- JULIŠ, I. — LOJDA, Z. — MIKEŠ, J.: Computer-aided microscopy and histochemistry of hte brush border enzymes in human enterobiopsies. In: Fifth Internat. Symp. Morphometry in morphological diagnosis. Abstr. book. Ancona (Italy) 1988b, s. 157.
- KONOPACKA, B.: Fosfatasa w nablonku jelitowym zarodkow swini. Folia morphol. (Warszawa), 6, 1955, s. 193.
- KUDWEIS, M. — LOJDA, Z. — KOUDELA, B. — VÍTOVEC, J.: Syntéza hlenu pohárkových buněk tenkého střeva při experimentální infekci selat kokcií *Isospora suis*. Veter. Med. (Praha), 34, 1989a, s. 727-734.
- KUDWEIS, M. — LOJDA, Z. — VÍTOVEC, J. — KOUDELA, B.: Aktivita vybraných dehydrogenáz a monoaminoxidáz v tenkém střevě gnotobiotických selat infikovaných kokcií *Isospora suis*. Veter. Med. (Praha), 34, 1989b, s. 287-296.

- KUDWEIS, M. — LOJDA, Z. — VÍTOVEC, J. — KOUDELA, B. — ŠTĚRBA, J.: Poměr enterocytů a pohárkových buněk ve sliznici tenkého střeva při experimentální infekci selat kokciidii *Isospora suis*. Veter. Med. (Praha), 34, 1989c, s. 33-38.
- KUDWEIS, M. — LOJDA, Z. — VÍTOVEC, J. — KOUDELA, B. — ŠTĚRBA, J.: Úroveň aktivity alkalické fosfatázy během infekce kokciidii *Isospora suis* selat. Veter. Med. (Praha), 34, 1989d, s. 159-164.
- KUDWEIS, M. — LOJDA, Z. — VÍTOVEC, J. — KOUDELA, B.: Aktivita mukosubstancí a počet pohárkových buněk v tlustém střevě selat infikovaných kokciidii *Isospora suis*. Veter. Med. (Praha), 35, 1990 s. 21-29.
- LANDSVEKR, T.: Peyer's patches and the follicle-associated epithelium in diarrheic calves. Pathomorphology, morphometry and acid phosphatase histochemistry. Acta veter. scand., 22, 1981, s. 459-471.
- LOJDA, Z.: Cytochemie lidské jejunální sliznice. [Habilitační práce.] Praha 1967. s. 1-138. — Univerzita Karlova. Fakulta všeobecného lékařství.
- LOJDA, Z.: Cytochemistry of enterocytes and of other cells in the mucous membrane of the small intestine. In: SMYTH, D. H.: Intestinal absorption. London — New York, Plenum Press 1974, s. 43-122.
- LOJDA, Z.: Patologie trávicího traktu. In: BEDNÁŘ, B.: Patologie II. Praha, Avicenum 1983, s. 986-1032.
- LOJDA, Z. — GOSSRAU, R. — SCHIEBLER, T. H.: Enzyme histochemistry. A laboratory manual. Berlin — Heidelberg — New York, Springer Verlag 1979, s. 1-339.
- POSPISCHIL, A. — HESS, R. G. — BACHMANN, P. A. — BALJER, G.: Experimental infection of caesarean derived, colostrum deprived calves with bovine rotaviruses and enterotoxigenic *Escherichia coli* (ETEC): A histological, electromicroscopic, and morphometric investigation. J. veter. Med., B, 33, 1986, s. 196-205.
- ROBINSON, Y. — MORIN, M. — GIRARD, C. — HIGGINS, R.: Experimental transmission of intestinal coccidiosis to piglets: Clinical, parasitological and pathological findings. Can. comp. Med., 47, 1983, s. 401-407.
- SANFORD, S. E.: Porcine neonatal coccidiosis: Clinical, pathological, epidemiological, and diagnostic feature. Calif. Veter., 37, 1983, 26-30.
- SKŘIVÁNKOVÁ, B. — JULIŠ, I. — TRNAVSKÝ, K. — GRIMOVÁ, J.: Kvantitativní mikroskopická analýza DNK v lymfocytech krys s adjuvantní artritidou. Fysiatr. Věst., 64, 1986, s. 37-46.
- STIGLMAIR-HERBOVÁ, M. I. — POSPISCHIL, A.: A new method for the analysis of intestinal enzyme histochemistry in diarrhoeic and non-diarrhoeic calves. Anim. Res. Dev., 24, 1986, s. 68-84.
- STIGLMAIR-HERBOVÁ, M. I. — POSPISCHIL, A. — HESS, R. G. — BACHMANN, P. A. — BALJER, G.: Enzyme histochemistry of the small intestinal mucosa in experimental infections of calves with rotavirus and enterotoxigenic *Escherichia coli*. Veter. Path., 23, 1986, s. 125-131.
- STUART, B. P. — BEDELL, D. M. — LINDSAY, D. S.: A search for extraintestinal stages of *Isospora suis*. Veter. Rec., 110, 1982, s. 82-83.
- VÍTOVEC, J. — KOUDELA, B.: Double alteration of small intestine in *Isospora suis* infection in conventional and gnotobiotic piglets. Folia parasit. (Praha), 37, 1990, s. 21-33.

Došlo dne 31. 3. 1989

КУДВАЙС, М. — ЮЛИШ, И. — ЛОЙДА, З. — ВИТОВЕЦ, Й. — КОУДЕЛА, Б. (Паразитологический институт при АН ЧССР, Ч. Будейовице; Лаборатория по гистохимии при медицинском факультете Карлова университета, Прага): Морфометрический анализ активности щелочной фосфатазы в тощей кишке поросят, зараженных кокцидиями *Isospora suis*. Veter. Med. (Praha), 35, 1990 (4) : 217-229.

У гнотобиотических поросят, зараженных в первый день рождения (DPP) дозой 100 000 ооцит кокцидии *Isospora suis* и забитых на 3—11-й дни после заражения (DPI), проводили морфометрический анализ активности щелочной фосфатазы (ЕС 3.1.3.1.) в области микровилезной зоны тощей кишки. У контрольных 2—7-дневных поросят установили, что тощая кишка не снабжается равномерно щелочной фосфатазой. В дуодене активность составляла 88,37 % активной длины абсорбц. поверхности (далее %LAac), в средней тощей кишке 95,98 %LAac, в задней 78,63 %, а в илеусе 90,55 %. Ширина активной площади равномернее: от 5,003 м в илеусе и до 6,129 м в задней тощей кишке. У унифицированных гнотобиотических поросят самая низкая активность отмечена на 3—4-й DPI с последующей убылью на 9-й DPI. На 3-й DPI

диапазон составил 25,99—40,50 %LAac с минимумом в дуодене и с максимумом в илеусе. Активность средней и задней тощей кишки почти одинакова (28,34 и 27,69 %LAac), но на 4-й DPI она возросла до 47,13 %LAac в задней кишке за исключения илеуса, где она составила 24,96 %LAac. На 9-й DPI эта активность была схожа во всей тощей кишке (от 55,70 до 60,01 %LAac) с максимумом в средней кишке. Ширина же продукта реакции прямо пропорциональна общей активности щелочной фосфатазы лишь на участках средней и задней тощей кишки и только в период 3—4-го DPI. Ее самые низкие величины замерены в средней кишке (0,982 μ m на 3-й DPI и 0,709 μ m на 4-й. На 9-й же DPI зависимость общей активности и ширины продукта реакции не была доказана. До конца прослеживаемого периода, т. е. до 11-го DPI эта активность не упрочилась.

экспериментальное заражение; *Isoospora suis*; морфометрический анализ; щелочная фосфатаза; гнотобиотические поросята

KUDWEIS, M. — JULIŠ, I. — LOJDA, Z. — VÍTOVEC, J. — KOUDELA, B. (Parasitological Institute of Czechoslovak Academy of Sciences, České Budějovice; Laboratory of Histochemistry at Faculty of Medicine of UK, Praha): *Morphometric analysis of alkaline phosphatase in piglets' small intestine infected with coccidia Isoospora suis*. Veter. Med., (Praha), 35, 1990 (4) : 217-229.

Gnotobiotical one-day-old piglets were infected with 100 000 *Isoospora suis* coccidia oocysts, and were immediately killed. In piglets killed on the 3rd to 11th day after infection (DAI), the morphometric analysis of alkaline phosphatase activity was performed in the area of the microvillus zone of small intestine. In the control 2—7 days old animals, the small intestine was not equally supplied with alkaline phosphatase. In duodenum the activity reached 88.37 per cent of the active length of absorbent surface (%LAac), in the middle jejunum 95.98 per cent LAac, in the dorsal jejunum 78.63 % LAac and the ileum 90.55 % LAac. The width of the active area was more balanced and ranged from 5.003 μ m in the ileum to 6.129 μ m in the dorsal jejunum. In infected gnotobiotical piglets the lowest activity was found out on the 3rd to 4th DAI, with a greater decline on the 9th day after infection. The range from 25.99 to 40.50 per cent LAac with minimum in the duodenum and maximum in the ileum was observed on the 3rd DAI. In the middle and dorsal ileum the activity was nearly equal (28.34 and 27.69 per cent LAac). In the dorsal jejunum a moderate increasing was up to 47.13 % LAac on the 4th DAI, with the exception of the ileum, where the activity of alkaline phosphatase decreased to 24.96 %LAac. On the 9th DAI the activity of alkaline phosphatase was nearly equal in the whole small intestine (from 55.70 to 60.01 % LAac) with the maximum in the middle jejunum. In the width of the reaction product a direct dependence on the total activity of alkaline phosphatase was evident only in the segment of the middle and dorsal jejunum and ileum, but merely on the period of the 3rd to 4th DAI. The lowest values were measured in the middle jejunum (0.982 μ m on the 3rd DAI and 0.709 μ m on the 4th DAI). No dependence was observed between the total activity and the reaction product in the middle jejunum (0.982 μ m on the 3rd DAI and 0.709 μ m on the 4th DAI). there was no general stabilisation of the activity of alkaline phosphatase.

experimental infection; *Isoospora suis*; morphometrical analyses; alkaline phosphatase; gnotobiotical piglets;

KUDWEIS, M. — JULIŠ, I. — LOJDA, Z. — VÍTOVEC, J. — KOUDELA, B. (Parasitologisches Institut der Tschechoslowakischen Akademie der Wissenschaften, České Budějovice; Laboratorium für Histochemie der medizinischen Fakultät der Karls-Universität, Praha): *Morphometrische Analysen der Aktivität der alkalischen Phosphatase im Dünndarm der mit Kokzidien von Isoospora suis infizierten Ferkel*. Veter. Med. (Praha), 35, 1990 (4) : 217-229.

Bei am ersten Tag nach der Geburt mit 100 000 Oozysten der Kokzidie *Isoospora suis* infizierten und am dritten bis elften Tag nach der Infektion geschlachteten gnotobiotischen Ferkeln führten wir eine morphometrische Analyse der Aktivität der alkalischen Phosphatase (EC 3.1.3.1.) in der Gegend der mikrovillosen Dünndarmzone durch. Bei zwei bis sieben Tage alten Kontrolltieren stellten wir fest,

dass der Dünndarm nicht regelmässig mit der alkalischen Phosphatase ausgestattet ist. Im Duodenum erreichte die Aktivität 88,37 % der aktiven Länge der Absorptionsoberfläche, im Mittelleerdarm 95,98 %, im Hinterleerdarm 78,63 und im Ileus 90,55 % der aktiven Länge der Absorptionsoberfläche. Die Breite der aktiven Fläche wies regelmässige Werte auf und schwankte von 5,003 m im Ileus bis 6,129 m im Hinterleerdarm. Bei den infizierten gnotobiotischen Ferkeln stellten wir die niedrigste Aktivität am 3. bis 4. Tag nach der Infektion mit einem bedeutenderen Abfall am 9. Tag nach der Infektion fest. Am 3. Tag nach der Infektion stellten wir eine Schwankung von 25,99 bis 40,50 % der aktiven Länge der Absorptionsoberfläche mit dem Minimum im Duodenum und dem Maximum im Ileus fest. Der Mittel- und Hinterleerdarm wies fast die gleiche Aktivität (28,34 bzw. 27,69 % der Aktivlänge der Absorptionsoberfläche) auf. Am 4. Tag nach der Infektion trat ein mässiger Anstieg bis auf 47,13 % der aktiven Länge der Absorptionsoberfläche im Hinterleerdarm mit Ausnahme von Ileus ein, wo die Aktivität der alkalischen Phosphatase auf 24,96 % der aktiven Länge der Absorptionsoberfläche abgefallen war. Am 9. Tag nach der Infektion entsprach die Aktivität der alkalischen Phosphatase im gesamten Dünndarm fast vollkommen (von 55,70 bis 60,01 % der aktiven Länge der Absorptionsoberfläche) dem Maximum im Mittelleerdarm. Bei der Breite des Reaktionsproduktes konnte eine direkte Abhängigkeit von der Gesamtaktivität der alkalischen Phosphatase nur im Mittel- und Hinterleerdarm und im Ileus, aber nur im Zeitraum vom 3. bis 4. Tag nach der Infektion beobachtet werden. Die niedrigsten Werte wurden im Mittelleerdarm (0,982 um am 3. Tag nach der Infektion bzw. 0,709 um am 4. Tag nach der Infektion) gemessen. Am 9. Tag nach der Infektion konnten wir keine Abhängigkeit der Gesamtaktivität von der Breite des Reaktionsproduktes nachweisen. Bis zum Ende der untersuchten Zeitperiode, d. h. zum 11. Tag, nach der Infektion, trat keine Gesamtstabilisation der Aktivität der alkalischen Phosphatase ein.

experimentelle Infektion; *Isospora suis*; morphometrische Analyse; alkalische Phosphatase; gnotobiotische Ferkel

Adresy autorů:

MVDr. Miloš Kudweis, CSs., MVDr. Jiří Vítovec, CSc., MVDr. Břetislav Koudela, CSc., Parazitologický ústav ČSAV, Branišovská 31, 370 05 České Budějovice

Prof. MUDr. Zdeněk Lojda, člen koresp. ČSAV, MUDr. Ivan Juliš, Laboratoř pro histochemii, lékařská fakulta UK, Studničkova 2, 128 00 Praha 2

Upozorňujeme čtenáře, že v čísle 5/90 časopisu

VETERINÁRNÍ MEDICÍNA

mají být uveřejněny tyto příspěvky:

- M. Šťavíková, L. Lojda, M. Žáková, P. Mach, S. Příkryl, J. Pospíšil: Genetický podíl krav na prevalenci mastitid v následující generaci
- F. Mazura: Zjišťování produkce laktamázy u kmenů *Staphylococcus aureus* izolovaných z mléka krav
- M. Kudweis, Z. Lojda, I. Juliš, J. Vítovec, B. Koudela: Aktivita alkalické fosfatázy v pohárkových buňkách tenkého střeva selat experimentálně infikovaných kokcií *Isospora suis*
- M. Tokoš, M. Tokošová: Vyvolanie superovulácie u oviec použitím PMSG
- V. Rajtová: Ependymová výstelka eminentia mediana u kozy
- R. Halouzka, J. Ruprich, A. Piskač: Účinek polychlorovaných bifenylov na organizmus kuřat: patologické změny orgánů po krátkodobém a dlouhodobém příjmu De-loru 103
- M. Prašovská, P. Turek, J. Pleva, J. Pažáková: Mikrobiológia hovädzieho separovaného mäsa
- J. Mátl: Analýza nádorů mléčné žlázy psů v Jihočeském kraji

VPLYV ROČNÉHO OBDOBIA NA OVARIÁLNU ODPOVEĎ U OVIEC PO PODANÍ SÉROVÉHO GONADOTROPÍNU PMSG

M. Tokoš, M. Tokošová

TOKOŠ, M. — TOKOŠOVÁ, M. (Vysoká škola veterinárska, Košice): *Vplyv ročného obdobia na ovariálnu odpoveď u oviec po podaní sérového gonadotropínu PMSG*. Veter. Med. (Praha), 35, 1990 (4) : 231-236.

V jesennom pripúšťacom období sme u 20 oviec plemena slovenské merino synchronizovali ruju 125 µg PGF₂alfa (Oestrophan inj. Spofa), následne sme podali 750 a 1000 m.j. PMSG (Antex Leo, Denmark) a 50 000 m.j. vitamínu A (Axerophthol Spofa). V období anestrusu sme u 23 oviec ruju synchronizovali instiláciou nitravaginálnych hubiek s 20 mg chlórsuperlitínu (Agelín Spofa) po dobu 12 dní a po ich vybratí sme ovciam podali 750 a 1000 m.j. PMSG (Antex Leo, Denmark). Sledovali sme odpoveď vaječníkov a možnosť získať vajčička z pohlavných orgánov oviec po synchronizácii ruje a superovulácii v estrickom období. Vyššie hodnoty celkovej folikulárnej odpovede (CFO) a priemerného počtu ovulácií (PO) po podaní rovnakých dávok PMSG sme zistili tak u oviec v anestrickom období (CFO $6,62 \pm 4,24$; PO $4,25 \pm 4,52$), ako u oviec v pripúšťacom období (CFO $2,70 \pm 2,10$; PO $2,60 \pm 1,74$; resp. CFO $2,80 \pm 1,83$; PO $3,4 \pm 3,0$), ak sme spolu s PMSG podali vitamín A. U oviec v anestrickom období sme po výplachu pohlavných orgánov získali v priemere viac vajčiek uvoľnených pri ovulácii (3,0 až 5,0) ako v pripúšťacom období (1,67 až 3,75). V oboch pokusoch sme získali od oviec pokusných skupín rovnaký pomer z množstva uvoľnených vajčiek (83 až 88 % z celkového počtu). Po vypláchnutí vajčiek z pohlavných orgánov sme zistili u oviec pokusných skupín väčšinu vajčiek v isthmálnej časti vajcovodu (36 až 60 %). Na základe dosiahnutých výsledkov usudzujeme na výraznejšiu ovariálnu odpoveď u oviec so synchronizovanou rujou na podanie PMSG v anestrickom období, ako v jesennom pripúšťacom období.

synchronizovaná ruja; PGF₂alfa; vitamín A; ovariálna odpoveď; počet vajčiek; ovce

Synchronizácia ruje u oviec v estrickom a anestrickom období je jedným zo základných biotechnických spôsobov riadenia reprodukčných procesov, ktorý umožňuje zvýšiť početný stav oviec dosiahnutím troch pôrodov za dva roky (Kačmárik a i., 1982). V estrickom období sa na synchronizáciu ruje u oviec používajú najčastejšie progestagény (Thompson a Wales, 1987), progestagény v kombinácii s prostaglandínmi (Acritopoulou — Fourcroy a i., 1982), alebo samotné prostaglandíny podané v dvoch dávkach v rozpätí 8 až 11 dní (Greyling a Westhuysen, 1980; Fukui a Roberts, 1981). V anestrickom období sa na synchronizáciu ruje používajú progestagény (Lofsted a Eness, 1982). Na vyvolanie superovulácie sa v oboch ročných obdobiach používa PMSG (Langford, 1982; Walker a i., 1986), ktoré zvyšuje počet ovulácií v závislosti od použitej dávky a znižuje variabilnosť intervalu medzi odstránením hubiek a ovuláciou.

V práci sme sa zamerali na hodnotenie celkovej ovariálnej odpo-

vede u oviec plemena slovenské merino na podanie PMSG počas synchronizovanej ruje v estrickom a anestrickom období. Zároveň sme sledovali možnosť získať vajčká z pohlavných orgánov oviec.

MATERIÁL A METÓDA

Pokus č. 1: Do pokusu v jesennom pripúšťacom období sme zaradili 20 oviec plemena slovenské merino a rovnomerne ($n = 5$) sme ich rozdelili do kontrolnej a troch pokusných skupín. U všetkých oviec sme synchronizovali ruju i. m. podaním PGF α 2a (Oesterophan inj., Spofa) v dávke 125 μ g dvakrát v rozpätí 11 dní. V 9. dni pokusu sme ovciam druhej a štvrtej skupiny i. m. podali PMSG (Antex Leo, Denmark) v dávke 1000 m. j., ovciam tretej skupiny v dávke 750 m. j. Ovciam tretej a štvrtej skupiny sme spolu s PMSG podali 50 000 m. j. vitamínu A (Axerophthol, Spofa). Ovce sme zabíjali v piatom dni po podaní PMSG, resp. v treťom dni po druhej injekcii PGF α 2a.

Pokus č. 2: Do pokusu v anestrickom období sme zaradili 23 oviec plemena slovenské merino a rozdelili sme ich do kontrolnej skupiny (7 ks) a dvoch pokusných skupín (po 8 ks). U všetkých oviec sme synchronizovali ruju podaním intravaginálnych hubiek s obsahom 20 mg chlórsuperlutínu (Agelin, Spofa) po dobu 12 dní. V deň vybratia hubiek sme ovciam druhej skupiny podali po 750 m. j. PMSG (Antex Leo, Denmark), ovciam tretej skupiny po 1000 m. j. PMSG. Pokusné ovce sme zabíjali v druhom dni po objavení sa ruje (štvrtý deň po podaní PMSG), alebo v piatom dni po podaní PMSG. Ovce kontrolnej skupiny sme zabíjali v šiestom dni po vybratí hubiek.

V priebehu obidvoch pokusov boli pokusné zvieratá (pochádzajúce zo školského majetku v Zemlínске Teplici) po veterinárnej prehliadke a parazitologickom vyšetrení chované v experimentálnych podmienkach s obmedzenou možnosťou výbehu. Boli kŕmené dávkou zimného typu a neboli dojené.

V obidvoch pokusoch sme u oviec po zabíí vybrali pohlavné orgány. Na vaječníkoch sme určili počet ovulácií a celkovú folikulárnu odpoveď (CFO = celkový počet ovulácií, novovytvorených žltých teliesok a folikulov s priemerom nad 2 mm). Pohlavné orgány sme anatomicky rozdelili na lievik vajcovodu, isthmálnu časť vajcovodu, rohy a telo maternice. Za účelom získania vajčiek uvoľnených pri ovulácii sme vajcovody prepláchli 10 ml fyziologického roztoku, rohy a telo maternice 25 ml fyziologického roztoku (Whyman a Moore, 1980). Prítomnosť vajčiek v roztoku sme zisťovali pomocou projekčného mikroskopu PM 3. Vaječníky sme po histologickom spracovaní ofarbili hematoxylin-eozínom a stanovili sme na nich celkový počet terciárnych folikulov.

VÝSLEDKY

Priemerné hodnoty CFO a počtu ovulácií uvádzame v tab. I. V pripúšťacom období sme ovuláciu zistili u všetkých oviec prvej a druhej skupiny, u oviec tretej a štvrtej skupiny sme v piatom dni po podaní PMSG ovuláciu zistili u 60 %, resp. 80 % oviec. V anestrickom období sme ovuláciu zistili u 87,5 % oviec po podaní PMSG v dávke 750 m. j. a u 75 % oviec po podaní 1000 m. j. PMSG. U oviec kontrolnej skupiny sme v šiestom dni po vybratí hubiek ovuláciu nezistili. Po podaní PMSG v anestrickom období sme zistili hodnoty CFO a priemerného počtu ovulácií u oviec pokusných skupín vyššie ako po podaní tých istých dávok PMSG v estrickom období.

V obidvoch pokusoch sme výplachom pohlavných orgánov oviec pokusných skupín získali rovnaký pomer vajčiek z počtu uvoľnených pri ovulácii (83 až 88 % — tab. II), i keď priemerný počet vajčiek získaných od jednej ovulujúcej ovce bol v anestrickom období vyšší (3,0 až 5,0) ako v pripúšťacom období (1,76 až 3,75). Priemerný počet terciárnych folikulov u oviec pokusných skupín sme zistili v anestrickom období vyšší (15,43 až 17,66) ako v pripúšťacom období (13,5 až 14,5). U kontrolných oviec sme vyšší počet terciárnych folikulov zistili v estric-

I. Priemerné hodnoty celkovej folikulárnej odpovede, počtu ovulácií a celkový počet ovulácií — Mean values of total follicular response, ovulation number and total number of ovulations

Pokus	Skupina	n	Percento ovulovaných oviec zo skupiny	Celková folikulárna odpoveď	Celkový počet ovulácií	Priemerný počet ovulácií ks
1	1	5	100,00	1,60 ± 0,80	9	1,80 ± 0,40
	2	5	100,00	2,70 ± 2,10	13	2,60 ± 1,74
	3	5	60,00	1,50 ± 0,67	6	1,20 ± 0,97
	4	5	80,00	2,80 ± 1,83	17	3,40 ± 3,00
2	1	7	0,00	3,57 ± 2,06	0	0
	2	8	87,50	4,87 ± 2,57	25	3,12 ± 2,08
	3	8	75,00	6,62 ± 4,24	34	4,25 ± 4,52

II. Priemerný počet vajíčok na ovulujúcu ovcu, percento ich zisku z počtu uvoľnených vajíčok a priemerný počet terciárnych folikulov na ovcu — Average number of ovula on the ovulating owe, percentage of its gains from the number of ova release and veareage number of tertiary follicles per ewe.

Pokus	Skupina	n	Celkový počet získaných vajíčok	Priemerný počet vajíčok na ovulujúcu ovcu	Percento získaných vajíčok z počtu uvoľnených	Priemerný počet terciárnych folikulov na ovcu
1	1	5	5	1,25 ± 0,43	55,55	18,87 ± 8,49
	2	5	11	2,20 ± 0,97	84,61	14,50 ± 7,00
	3	5	5	1,67 ± 0,47	83,33	13,50 ± 3,25
	4	5	15	3,75 ± 1,92	88,23	14,33 ± 7,60
2	1	7	0	0	0	15,45 ± 5,56
	2	8	21	3,00 ± 1,51	84,00	15,43 ± 5,30
	3	8	30	5,00 ± 3,82	88,23	17,66 ± 8,23

III. Počet vajíčok získaných z jednotlivých častí pohlavných orgánov oviec a ich percentuálne zastúpenie — The number of ova obtained from individual parts of genital organs in ewes and their percentual representation

Pokus	Skupina	n	Počet a percento získaných vajíčok z jednotlivých častí pohlavných orgánov oviec							
			lievik		isthmus		rohy maternice		telo maternice	
1	1	5	3	60,00	1	20,00	1	20,00	0	0,00
	2	5	8	72,73	1	9,09	2	18,18	0	0,00
	3	5	2	40,00	3	60,00	0	0,00	0	0,00
	4	5	5	33,33	7	46,67	3	20,00	0	0,00
2	1	7	0	0,00	0	0,00	0	0,00	0	0,00
	2	8	4	19,05	9	42,86	4	19,05	4	19,05
	3	8	7	23,33	11	36,67	8	26,67	4	13,33

kom období ($18,87 \pm 8,49$; $15,45 \pm 5,56$ u oviec v anestríckom období).

V tab. III uvádzame počet a percento vajíčok získaných výplachom z jednotlivých častí pohlavných orgánov. U oviec pokusných skupín v estríckom a anestríckom období sme najviac vajíčok získali z isthmálnej časti vajcovodu (36,67 až 60 %), s výnimkou oviec druhej skupiny v pripúšťacom období po podaní 1000 m. j. PMSG, u ktorých sme najviac vajíčok získali v lieviku vajcovodu (72,73 %). U kontrolných oviec v estríckom období sme najviac vajíčok získali tiež z lieviku vajcovodu (60 %).

DISKUSIA

Vplyv PMSG na početnosť ovulácií u oviec v rôznom ročnom období sledovali Gherardi a Lindsay (1980) a Bindon (1984). Najvyššiu odpoveď vaječníkov zistili v jarných mesiacoch a najnižšiu začiatkom jesene, kedy sa u oviec prejavuje zmena v citlivosti hypotalamu na pôsobenie estradiolu cestou negatívneho spätnoväzebného mechanizmu.

Na základe dosiahnutých výsledkov sa domnievame, že zmeny citlivosti vaječníkov na gonadotropíny môžu byť rozhodujúcim faktorom, ktorý kontroluje sezónnu ovariálnu aktivitu u oviec. Podobný názor zastávajú i Lamond, 1962; Monniaux a i. (1983) a Wubishet a i. (1986).

Thimonier (1981) uvádza, že podanie PMSG v estríckom období v dávke 500 až 1250 m. j. jeden až dva dni pred druhou injekciou PGF₂alfa zvyšuje počet ovulácií v závislosti od použitej dávky PMSG a zároveň zvyšuje podiel oviec, ktoré vykážu príznaky ruje v rozsahu 36 hodín po podaní PGF₂alfa. Závislosť počtu ovulácií od dávky PMSG sledovali Elečko a i. (1987); Roberts a Hafez (1969) zistili ich pozitívny vzťah. Po podaní PMSG v dávke 500 m. j. zistili v priemere 2,77 ovulácií na ovcu, po podaní 1000 m. j. až 4,42 ovulácií. Po podaní podobných dávok PMSG sme zistili porovnateľné výsledky v počte ovulácií, ktoré boli vyššie v anestríckom období.

Urýchlenie času ovulácie u oviec v porovnaní s normálnym priebehom až o 15 hodín od začiatku ruje po podaní PMSG uvádzajú Winterberger (1953) a Boshoff a i. (1973). Tieto zistenia potvrdzujú vo svojej práci Whyman a Moore (1980), ktorí zistili rýchlejší transport vajíčok u oviec, ktorým podali PMSG samotný alebo v kombinácii s PGF₂alfa. Ak ovciam podali samotný PGF₂alfa, postup vajíčok bol pomalší. Na základe získania vajíčok z jednotlivých častí pohlavných orgánov oviec v estríckom a anestríckom období usudzujeme taktiež o ich rýchlejšom postupe po podaní PMSG v porovnaní s ovcami kontrolnej skupiny. Whyman a Moore (1980) podobne ako Walker a i. (1986) sa domnievajú, že práve urýchlenie času ovulácie v relácii k objaveniu sa ruje môže byť určujúcim faktorom urýchľujúcim postup vajíčok do maternice.

Vitamín A spolu s PMSG u oviec v estríckom období sme podali za účelom odstránenia prípadných nepravidelností reprodukčného cyklu oviec, ktoré popisujú Lotthammer a i. (1978) a Ascarelli a i. (1985) u kráv. Pri porovnávaní oviec pokusných skupín s rovnakou dávkou PMSG (1000 m. j.) a podaním vitamínu A sme potvrdili jeho priaznivý účinok na ovariálnu odpoveď u oviec. Zistili sme tiež výraz-

nejší účinok PMSG na celkovú ovariálnu odpoveď u oviec po synchronizácii ruje v anestríckom období ako pri jeho podaní v estríckom období.

Literatúra

- ACRITOPOULOU - FOURCROY, S. — PAPPAS, V. — PECLARIS, G. — ZERVAS, N.: Synchronization of oestrus in ewes with Provera sponges/PMSG, prostaglandin F₂alpha or hte prostaglandin analogue, ICI 80 996, and fertility following natural mating or artificial insemination. *Reprod. Nutr. Dévelop.*, 1982, s. 345-354.
- ASCARELLI, I. — EDELMAN, Z. — ROSENBERG, M. — FOLMAN, V.: Affect of dietary carotene on fertility of high-yielding dairy cows. *Anim. Prod.*, 40, 1985, s. 1249-1255.
- BINDON, B. M.: Reproductive biology of the Booroola Merino sheep. *Aust. J. biol. Sci.*, 37, 1984, s. 163-189.
- BOSHOF, D. A. — van NIEKERK, C. H. — MORGENTHAL, J. C.: Time of ovulations in the Karakul following synchronization of oestrus. *S. Afr. J. anim. Sci.*, 3, 1973, s. 13-17.
- ELEČKO, J. — MARÁČEK, I. — HENDRICHOVSKÝ, V.: Využitie prostaglandínov v reprodukcií oviec. *Veterinár*, 1, 1987, s. 14-22.
- FUKUI, Y. — ROBERTS, E. M.: Relationship between doses of prostaglandin F₂alpha and stages of the breeding season for synchronization of estrus and ovulation in ewes. *Theriogenology*, 16, 1981, s. 105-117.
- GHERRARDI, P. B. — LINDSAY, D. R.: The effect of season on the ovulatory response of Merino ewes to serum from pregnant mares. *J. Reprod. Fertil.*, 60, 1980, s. 425-429.
- GREYLING, J. P. C. — WESTHUYSEN, J. M., van der: The synchronization of oestrus in sheep. 5. The interval between prostaglandin injections in the double injection regime. *S. Afr. J. anim. Sci.*, 10, 1980, s. 73-75.
- KACMÁRIK, J. — HENDRICHOVSKÝ, V. — ŠEVČÍK, A.: Zvyšovanie frekvencie bahnenia merinových oviec. *Náš Chov*, XLII, 1982, s. 340-341.
- LAMOND, D. R.: Effect of season on hormonally induced ovulation in Merino ewes. *J. Reprod. Fertil.*, 4, 1962, s. 111-120.
- LANGFORD, G. A.: Influence of PMSG and time of artificial insemination on fertility of progestogen-treated sheep in confinement. *J. anim. Sci.*, 54, 1982, s. 1205-1211.
- LOFSTEDT, R. M. — ENESS, P. G.: The use of FSH and GnRH as alternative compounds to PMSG ofr springtime breeding of ewe. *Theriogenology*, 18, 1982, s. 119-125.
- LOTTHAMMER, K. H. — COOKE, B. C. — FRIESECKE, H.: Importance of beta-carotene for bovine fertility. Basel, Hoffman-La Roche and Co., 1978. 21 s.
- MONNIAUX, D. — CHUPIN, D. — SAUMAND, J.: Superovulatory responses of cattle. *Theriogenology*, 19, 1983, s. 55-81.
- ROBERTS, E. M. — HAFEZ, E. S. E.: Synchronization of estrus in cyclic Merino ewes with vaginal sponges and pregnant mare serum. *Am. J. Vet. Res.*, 30, 1969, s. 207-210.
- THIMONIER, J.: Practical uses of prostaglandins in sheep and goats. *Acta veter. scand.*, Suppl., 77, 1981, s. 193-208.
- THOMPSON, J. G. E. — WALES, R. G.: Observations on the loss of the cellular restment surrounding superovulated sheep oocytes. *Anim. Reprod. Sci.*, 15, 1987, s. 169-175.
- WALKER, S. K. — SMITH, D. H. — SEAMARK, R. F.: Timing of multiple ovulations on the ewe after treatment with FSH or PMSG with and without GnRH. *J. Reprod. Fertil.*, 77, 1986, s. 135-142.
- WHYMAN, D. — MOORE, R. W.: Effects of PMSG and the prostaglandin analogue, cloprostenol, on superovulation, fertilization and egg transport in the ewe. *J. Reprod. Fertil.*, 60, 1980, s. 267-272.
- WINTERBERGER, S.: Recherches sur les reactions entre l'oeuf et le tractus maternal pendant les premiers stades due developement chez les mammifères. *Ann. Zootechn.*, 2, 1953, s. 121-128.
- WUBISHET, A. — GRAVES, C. N. — SPAHR, S. L. — KESLER, D. J. — FAVERO, R. J.: Effects of GnRH treatment on superovulatory responses of dairy cows. *Theriogenology*, 25, 1986, s. 423-427.

Došlo dňa 9. 1. 1989

ТОКОШ, М. — ТОКОШОВА, М. (Институт ветеринарии, Кошице): Влияние времени года на овариальную реакцию овец после введения сывоточного гонадотропина PMSG. Veter. Med. (Praha), 35, 1990 (4) : 231-236.

В осенний случной период у 20 овец словацкий меринос синхронизировали эструм с помощью 125 мкг PGF₂альфа (Эстрофан инь. Спофа), а потом ввели 750 и 1000 м.ед. PMSG (Антекс Лео, Дания) и 50 000 м.ед. витамина А (Аксерофтол Спофа). В период анестра у 23 овец синхронизировали эструм с помощью внутриматочных губок с 20 мг хлорсуперлютина (Агелин Спофа) в течение 12 дней, после изъятия которых овцам вводили 750 и 1000 м.ед. PMSG (Антекс Лео, Дания). Мы прослеживали за реакцией яичников и за возможностью получить яйца из овец после синхронизации эструма и суперовуляции в тот же период. Повышенные значения общей фолликулярной реакции (CFO) и среднего количества овуляций (PO) после дачи одинаковых доз PMSG мы отметили и у овец в анестральный период (CFO $6,62 \pm 4,24$; PO $4,25 \pm 4,52$), так и в случной (CFO $2,70 \pm 2,10$; PO $2,60 \pm 1,74$ и CFO $2,80 \pm 1,83$; PO $3,4 \pm 3,0$), когда одновременно давали им и витамин А. В периоде анестра после смыва половых органов мы получили в среднем больше яиц, выделенных во время овуляции ($3,0-5,0$), чем в случной период ($1,67-3,75$). В ходе обоих опытов мы получили от подопытных овец такое же соотношение в количестве выделенных яиц ($83-88\%$ от общей численности). После вымывания яиц из подопытных овец мы установили, что большинство из них находятся в истмальной части яйцевода ($36-60\%$). На основе этих результатов можно заключить, что овариальная реакция синхронизированных овец на PMSG в период анестра заметнее, чем в период случки.

синхронизированный эструм; PGF₂альфа; витамин А; овариальная реакция; число яиц; овцы

TOKOŠ, M. — TOKOŠOVÁ, M. (University School of Veterinary Medicine, Košice): The effect of season on ovulation response in ewes after receiving gonatropin PMSG. Veter. Med. (Praha), 35, 1990 (4) : 231-236.

In the autumn oestrus season, 20 Slovak Merino ewes were exposed to synchronization of oestrus, treated with the PGF₂alpha at doses 125 µg (Oestrophan, inj. Spofa), followed by an injection of PMSG at doses 1000 IU (Antex Leo Denmark) and 50 000 IU of Vitamin A (Axerophthol Spofa). 23 anoestrus ewes were synchronized with an intravaginal sponges containing 20 mg of chlorsuperlutine (Agelin, Spofa) for 12 days and after sponge withdrawal, the ewes were injected with 750 and 1000 IU of PMSG (Antex Leo Denmark). Ovulatory response was observed and the possibility of ova recovered from the genital organs in ewes after synchronization of oestrus and superovulation in oestrus season. Higher values of the total follicular response (CFO), and the average number of ovulation (PO) after administering equal doses of PMSG were found out both in anoestrus ewes (CFO 6.62 ± 4.24 ; PO 4.25 ± 4.52) and in oestrus ewes (CFO 2.70 ± 2.10 ; PO 2.60 ± 1.74 ; resp. CFO 2.80 ± 1.83 ; PO 3.4 ± 3.0), if the ewes were treated with PMSG together with vitamin A. The average number of ova flushed was higher in anoestrus ewes ($3.0-5.0$) than in oestrus ewes ($1.67-3.75$). In both trials the equal ratio in the number of released ova was gained from ewes of experimental groups ($83-88\%$ of the total number). After ova flushing from the genital organs in ewes of the experimental groups most ovas were found in the isthmatal part of the uterine tube ($36-60\%$). On the basis of gained results it was concluded, that synchronized oestrus ewes on receiving PMSG in anoestrus season the ovarian response was more significant than in autumn breeding season.

synchronized oestrus; PGF₂alpha; vitamin A; ova response; number of ova; ewes

Adresa autorov:

MVDr. Marián T o k o š, ul. Kvetná 19, 040 15 Košice

MVDr. Mária T o k o š o v á, CSc., Vysoká škola veterinárska, Komenského 73, 041 81 Košice

ÚČINEK POLYCHLOROVANÝCH BIFENYLŮ (PCB) NA ORGANISMUS KUŘAT: VLIV KRÁTKODOBÉHO PŘÍJMU VYSOKÝCH DÁVEK DELORU 103 NA KONCENTRACI THYROXINU, TRIJODTHYRONINU, SODÍKU, DRASLÍKU A VÁPŇÍKU V KREVŇÍM SÉRU

A. Piskač, J. Ruprich, R. Halouzka

PISKAČ, A. — RUPRICH, J. — HALOUZKA, R. (Vysoká škola veterinární, Brno; Institut hygieny a epidemiologie, Brno): *Účinek polychlorovaných bifenyli (PCB) na organismus kuřat: vliv krátkodobého příjmu vysokých dávek Deloru 103 na koncentraci thyroxinu, trijodthyroninu, sodíku, draslíku a vápníku v krevním séru*. Veter. Med. (Praha), 35, 1990 (4) : 237-246.

Pokus s krátkodobým podáváním (7 dní) vysokých dávek přípravku Delor 103 (PCB) kuřatům (1000 mg.kg⁻¹ krmiva) prokázal dlouhodobý negativní vliv na jejich zdravotní stav. Klinický obraz intoxikace měl podobu syndromu zchátrání. Byla zjištěna porucha dlouhodobého charakteru v přeměně hormonu štítné žlázy thyroxinu (T₄) na trijodthyronin (T₃). Obnova produkce hormonu T₄ byla poměrně rychlá. Přídavek hormonů T₄ a T₃ do krmiva neměl podstatný vliv na průběh intoxikace, ale vyvolával změny v koncentraci K⁺, Ca⁺⁺ a celkového vápníku v krevním séru zvířat. Současný přídavek Deloru 103 zmírňoval intenzitu změn navozených exogenním příívodem hormonů štítné žlázy. Histologické změny byly prokázány na primárních lymfatických orgánech, což podporuje zjištění imunopresivních účinků u PCB. Přídavek thyreostatika Carbimazol (carbimazolum) (1-carbaethoxy-3-methyl-2-thioimidazolium) nevyvolal příznaky svědčící o hypofunkci štítné žlázy kuřat.

kontaminace krmiv; polychlorované bifenyly; drůbež; hormony T₃ a T₄; sodík, draslík, vápník

Polychlorované bifenyly (PCB) patří mezi cizorodé látky, které jsou vzhledem ke své stabilitě v životním prostředí předmětem intenzivních studií (Safe a Hutzinger, 1987; Hapke aj., 1988 a další). Vedle výzkumů prováděných na savcích byly uskutečněny studie na ptácích. U nás se těmto studiím věnovali např. Herzig aj. (1985), Lopuchovský (1986) a Košutský (1987). V našich dřívějších pokusech (Ruprich a Piskač, 1990) jsme se zabývali vlivem dlouhodobého příjmu středních dávek Deloru 103 na funkci štítné žlázy a na metabolismus vápníku. Prokázali jsme snížení hladin sérového thyroxinu i trijodthyroninu a zvýšení koncentrace celkového vápníku v séru kuřat.

V praxi jsou často zvířata krátkodobě vystavena vysokým dávkám PCB (např. po havárii strojních zařízení s náplní PCB). Proto bylo smyslem našeho experimentu ověřit vliv krátkodobého příjmu vysoké koncentrace Deloru 103 (PCB) na koncentrace thyroxinu (T₄) a trijodthyroninu (T₃) v krevním séru za určitou dobu po přerušení příjmu kon-

taminovaného krmiva. Současně jsme sledovali i vliv přídatku hormonů štítné žlázy savců (směs T₄ a T₃) na průběh intoxikace a vliv thyreostatika Carbimazol na činnost štítné žlázy. Vedle hodnocení činnosti štítné žlázy kuřat jsme stanovili i koncentrace celkového a ionizovaného vápníku, iontů Na⁺ a K⁺ v krevním séru experimentálních kuřat.

MATERIÁL A METODY

Pokusná zvířata: V pokuse byli použiti kohoutci nosného plemene Hiseš bílý. Ve věku jednoho týdne byli rozděleni do pěti pokusných skupin po 17 kusů tak, aby jejich hmotnost byla statisticky srovnatelná.

Uspořádání pokusu: Kohoutci byli drženi na hluboké podestýlce při kontinuálním osvětlení. Krmivo bylo podáváno *ad libitum*. Kontaminované krmivo bylo připraveno pomocí premixů s jednotlivými látkami. Delor 103 byl rozpuštěn v acetonu, hormonální přípravek a thyreostatikum bylo přidáváno ve formě prášku. Každý týden bylo připravováno čerstvé kontaminované krmivo.

Zdroj PCB: Přípravek Delor 103 (Chemko, n. p., Strážské) s obsahem 42 % chlóru.

Zdroj hormonů štítné žlázy: Galenický přípravek Thyreoidin, Spofa (sušená štítná žláza skotu).

Zdroj thyreostatika: Carbimazol, Spofa, (účinná látka carbimazolum) (1-carbaethoxy-3-methyl-2-thioimidazolinum).

Pokusné skupiny dostávaly kontaminované krmivo takto:

1. skupina — kontrola,
2. skupina — po dobu prvního týdne přídatek 1000 mg Deloru 103 na 1 kg krmiva a po celou dobu pokusu (čtyři týdny) přídatek 300 mg Thyreoidinu na 1 kg krmiva,
3. skupina — po celou dobu pokusu (čtyři týdny) přídatek 100 mg Carbimazolu na 1 kg krmiva,
4. skupina — po celou dobu pokusu (čtyři týdny) přídatek 300 mg Thyreoidinu na 1 kg krmiva,
5. skupina — po dobu prvního týdne přídatek 1000 mg Deloru 103 na 1 kg krmiva.

První dva týdny pokusu bylo používáno krmivo K 1, další dva týdny krmivo BR 1. Každý den byl hodnocen klinický stav zvířat. Každý týden byly kontrolovány přírůstky hmotnosti. Po čtyřech týdnech pokusu byla kuřata vykrvena. Získané krevní sérum bylo použito k hodnocení koncentrace hormonů T₄ a T₃, iontů Na⁺, K⁺, Ca²⁺ a celkového vápníku. Pro stanovení cyklických nukleotidů byla odebrána svalovina levé srdeční komory. Současně byly odebrány vzorky tkání jater, srdce, thymus, Fabriciova bursa, slezina a štítná žláza pro histologické vyšetření.

Koncentrace hormonů T₄ a T₃ byly stanoveny pomocí RIA metody (ÚRVJT Košice) proti standardům v lidském séru. Cyklický adenosinmonofosfát (cAMP) a cyklický guanosin-monofosfát (cGMP) byly stanoveny metodou RIA (ÚVVR Praha). Koncentrace iontů Na⁺, K⁺ a Ca²⁺ byla stanovena přístrojem Electrolyte Analyzer 980 (AVL) a celkový vápník pomocí Calcium titrator (Marius). Pro histologické hodnocení byla použita klasická technika. Odebrané vzorky tkání byly fixovány v 10% roztoku formaldehydu, dále zpracovány běžnou histologickou technikou zaléváním do parafínu a přehledně barveny hematoxylin-eozinem. K hodnocení byl použit optický mikroskop. Výsledky byly statisticky testovány Studentovým *t*-testem.

VÝSLEDKY

HODNOCENÍ KLINICKÉHO STAVU

1. skupina: klinický stav odpovídal zvyklostem pro daný druh a kategorii zvířat bez příznaků poruch zdravotního stavu.
2. skupina (přídatek Deloru 103 a hormonů štítné žlázy). Týden po

zahájení pokusu bylo zjištěno opožděné opeřování, zpomalený vývoj kožních útvarů. U některých zvířat se objevily příznaky intoxikace PCB — svěšení křídel, chvění, načepýřené peří, netečnost, neschopnost pohybu, snížený příjem krmiva a vody. Po jednom až dvou týdnech uhynulo šest kuřat (tj. asi 35 % z celkového počtu zvířat).

3. skupina (přídavek thyreostatika): U kuřat se projevovaly odchylky od kontrolní první skupiny.

4. skupina (přídavek hormonů štítné žlázy): Kuřata bez odchylek od kontrolní skupiny.

5. skupina (přídavek Deloru 103): Klinický stav byl srovnatelný se stavem kuřat druhé skupiny. Celkem uhynulo pět kuřat (tj. asi 30 % z celkového počtu).

Během pokusu byla pravidelně hodnocena hmotnost kuřat. Růst hmotnosti kuřat je znázorněn na obr. 1. Již po jednom týdnu bylo zjištěno průkazné snížení hmotnosti ($P < 0,01$) u skupin přijímajících Delor 103 (skupina 2, 5). U ostatních skupin nebyla hmotnost průkazně změněná.

Koncentrace hormonů T_4 a T_3 v séru kuřat na konci pokusu uvádí tab. I. V každé skupině bylo hodnoceno osm vzorků nehemolytických sér (náhodně vybraných).

Tab. II uvádí hodnoty koncentrací cyklických nukleotidů (cAMP a cGMP) zjištěné v myokardu srdeční komory kuřat.

V tab. III jsou uvedeny hodnoty koncentrací iontů Na^+ , K^+ , Ca^{2+} a celkové koncentrace vápníku v krevním séru na konci pokusu.

I. Koncentrace hormonů T_4 a T_3 v séru kuřat na konci pokusu (po čtyřech týdnech; $n = 8$) — T_4 and T_3 hormone concentration in blood serum of chickens at the end of the trial (after 4 weeks; $n = 8$)

Skupina	T_4 $\bar{x} \pm S$ [$\mu\text{mol.l}^{-1}$]	T_3 $\bar{x} \pm S$ [$\mu\text{mol.l}^{-1}$]	Poměr T_4/T_3
1. Kontrola	24,4 $\pm$ 4,1	3,2 $\pm$ 0,6	8,8 : 1,2 (7,6 : 1,0)
2. Dolor 103 + Thyreoidin	23,8 $\pm$ 4,5	1,5 $\pm$ 0,5	9,4 : 0,6 (15,9 : 1,0)
3. Carbimazol	30,0 $\pm$ 6,3	2,8 $\pm$ 0,9	9,1 : 0,9 (10,7 : 1,0)
4. Thyreoidin	27,0 $\pm$ 4,2	4,2 $\pm$ 1,8	8,7 : 1,3 (6,4 : 1,0)
5. Delor 103	30,8 $\pm$ 5,8	1,6 $\pm$ 0,2	9,5 : 0,5 (19,3 : 1,0)

$P < 0,05$ $P < 0,01$

II. Koncentrace cAMP a cGMP v myokardu levé srdeční komory kuřat na konci pokusu ($n = 8$) — cAMP and cGMP concentration in the myocardium of heart verticle in chickens at the end of the trial ($n = 8$)

Skupina	cAMP [pmol.mg ⁻¹]	cGMP [pmol.mg ⁻¹]	Poměr cAMP/cGMP
1. Kontrola	5,04 ± 0,69	0,019 ± 0,019	265
2. Delor 103 + Thyreoidin	4,22 ± 0,63	0,034 ± 0,030	124
3. Carbimazol	4,36 ± 0,80	0,031 ± 0,017	141
4. Thyreoidin	4,40 ± 0,53	0,035 ± 0,022	126
5. Delor 103	4,66 ± 0,71	0,024 ± 0,023	194

$P < 0,05$

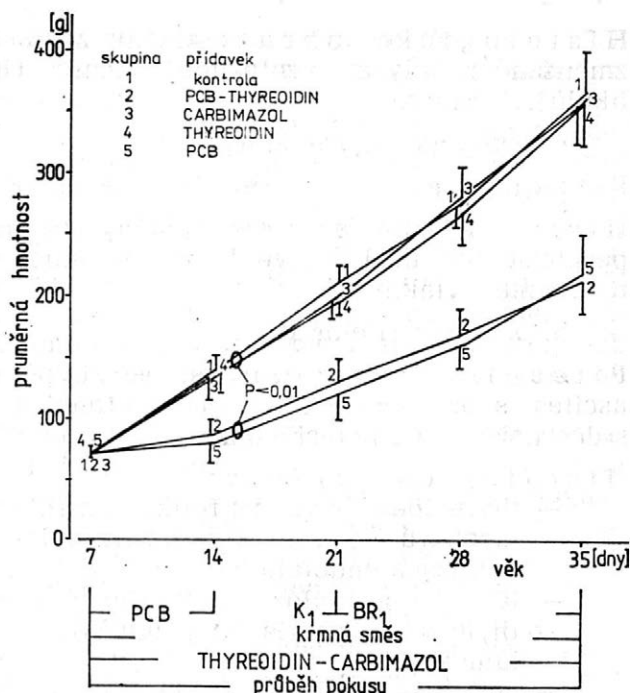
III. Koncentrace iontů Na⁺, K⁺, Ca²⁺ a celková koncentrace vápníku v krevním séru na konci pokusu ($n = 8$) — Na⁺, K⁺, Ca²⁺ concentration and the total concentration of calcium in blood serum at the end of the trial ($n = 8$)

Skupina	Na ⁺ $\bar{x} \pm S$ [mmol.l ⁻¹]	K ⁺ $\bar{x} \pm S$ [mmol.l ⁻¹]	Ca ²⁺ $\bar{x} \pm S$ [mmol.l ⁻¹]	Celkový Ca $\bar{x} \pm S$
1. Kontrola	147 ± 2	7,5 ± 0,9	0,38 ± 0,10	2,5 ± 0,2
2. Delor 103 + Thyreoidin	148 ± 3	7,4 ± 0,7	0,30 ± 0,07	2,1 ± 0,3
3. Carbimazol	146 ± 3	7,6 ± 1,0	0,30 ± 0,04	2,1 ± 0,3
4. Thyreoidin	146 ± 3	9,3 ± 1,6	0,27 ± 0,03	2,1 ± 0,1
5. Delor 103	148 ± 2	7,5 ± 1,5	0,31 ± 0,09	2,2 ± 0,3

$P < 0,05$

$P < 0,01$

1. Růst hmotnosti kuřat v jednotlivých skupinách během pokusu s podáváním polychlorovaných bifenylů (Delor 103), Thyreoidinu a Carbimazolu (průměr ± směrodatná odchylka, výchozí $n = 17$) — Weight growth in chickens in the individual groups during the trial with administration of polychlorinated biphenyls (Delor 103), Thyroidinum and Carbimazolum (average ± standard deviation, initial $n = 17$)



VÝSLEDEK PITVY A HISTOLOGICKÉHO HODNOCENÍ TKÁNÍ VYBRANÝCH ORGÁNŮ NA KONCI POKUSU

1. skupina: Pitevní nález i histologické vyšetření odpovídalo dané kategorii a druhu zvířat.

2. skupina (Delor 103 + Thyreoidin):

Pitevní nález: u všech kuřat různý stupeň hydroperikardu, zmenšené Fabriciovy bursy a sleziny, konsistence jater křehčí, thymus menší.

Histologický obraz:

- thyreoidea — nestejně velké folikuly, místy atrofované, některé s vysokým epitelem;
- myokard — edém, rozvolnění vláken, ojedinělá, diskrétní zánětlivá ložiska;
- játra — steatóza, proliferace žlučových v portobiliárních prostorech, hyperplazie epitelu žlučových;
- slezina — hyperplazie retikula, atrofie lymfatické tkáně;
- thymus — regrese kory lalůček, monocelulární a multicelulární nekrózy lymfocytů, sporadické infiltrace granulocyty;
- bursa — zprohýbaný epitel klků, vakuolární dystrofie epitelu, tvorba epiteliálních cyst, různý stupeň deplece germinálních center lymfatických folikulů, kompenzační hyperplazie retikulárních a dendritických elementů v centru folikulů, edém interfolikulární tkáně s mírnou lymfocytární a granulocytární infiltrací s příměsí makrofágů, výrazné zeslabení kory folikulů.

3. skupina (Carbimazol):

Pitevní nález: v některých případech zvětšení bursy a zmenšení štítné žlázy.

Histologický obraz: změny zjištěny na štítné žláze (folikuly zmenšené, někdy až atrofované) a bursy (hyperplazie lymfatických folikulů).

4. skupina (Thyreoidin):

Pitevní nález: zvětšení bursy a zmenšení štítné žlázy.

Histologický obraz: zjištěny jen ojedinělé změny na bursy (hyperplazie folikulů) a myokardu (sporadická lymfocytární ložiska a petechie mezi vlákny).

5. skupina (Delor 103):

Pitevní nález: různý stupeň hyperperikardu, ojediněle s krví, ascites, sporadicky ikterus, játra křehčí s mírně hrbolatým povrchem, srdce nažloutlé s petechiemi.

Histologický obraz:

- thyreoidea — kolaps folikulů, atrofie;
- myokard — drobná zánětlivá ložiska, perivaskulární edém, vakuolizace endotelu kapilár;
- játra — granulózní dystrofie, mírná hyperplazie žlučových;
- thymus — atrofie kory lalůček — převaha dřevných struktur lalůček;
- bursa — deplece zárodečných center folikulů různé intenzity, deskvamace epiteliálních buněk kortikomedulární membrány, tvorba syncytiálních útvarů ve dřeni připomínající Hassalova tělíska thymu, edém interfolikulární tkáně — totální atrofie lymfatické tkáně bursy.

DISKUSE

Pokus byl koncipován tak, aby odpovídal možnému výskytu v praxi — silné kontaminaci části krmiva (např. po znečištění hydraulickým olejem) a následným příjmem nekontaminovaného krmiva. Zdroj PCB (Delor 103) byl proto podáván pouze první týden pokusu, a to ve velmi vysoké dávce. Je známo, že existuje určitá latentní doba od expozice PCB k objevení se klinických příznaků otravy (Safe a Hutzinger, 1987). Tato doba nemůže být zkrácena ani podáním vysokých dávek. V našem případě se klinické příznaky otravy začaly objevovat již v prvním týdnu, tzn. v době příjmu Deloru 103. Výrazné příznaky byly pozo-



A



B

2. Vzhled kuřat při intoxikaci přípravkem Delor 103 (stav po 14 dnech pokusu, A = kontrola, B = pokusná skupina č. 5) — Appearance of chickens with intoxication by Delor 103 preparation (condition after 14 days of the trial A = control; B = experimental groups number 5)

rovatelné asi za týden, kdy se u obou skupin přijímajících Delor 103 (skupina 2, 5) projevovaly změny, jež jsou charakterizovány jako tzv. syndrom zchátrání (wasting syndrome). Přídavek Thyreoidinu neovlivnil příznivě průběh intoxikace kuřat z klinického hlediska. Thyreostatikum Carbimazol na druhé straně nenavodilo (v dané dávce) příznaky, které by odpovídaly poruše v činnosti štítné žlázy. Zaostávání v růstu a vývoji kuřat je porovnáno na obr. 2, který představuje kontrolní (skupina č. 1) a pokusné kuře (skupina č. 5) po 14 dnech pokusu. Na pokusném kuřeti jsou patrné typické příznaky akutní intoxikace PCB. Výrazné změny byly pozorovány v hmotnosti kuřat. Již jeden týden po zahájení pokusu byla průkazně snížena hmotnost kuřat obou skupin přijímajících Delor 103. Přídavek Thyreoidinu ani Carbimazolu neovlivnil průkazně hmotnost po celou dobu pokusu.

V uvedeném pokusu byla kuřata krmena tři týdny před porážkou krmivem bez obsahu Deloru 103. Tato doba mohla sloužit k částečné obnově funkce postižených systémů organismu. Naše dřívější pokusy prokázaly inhibiční vliv Deloru 103 na koncentrace hormonů T_4 a T_3 v séru. Jak ukazují výsledky stanovení thyroxinu (tab. I), ve skupině č. 5 se skutečně zvýšila koncentrace hormonu v krevním séru i přes silné morfologické postižení štítné žlázy. (Koncentrace byla dokonce zvýšená proti kontrole). U skupiny kuřat, která souběžně dostávala přípravek Thyreoidin, se neprojevovaly odchylky v koncentraci thyroxinu proti kontrole. Výsledek naznačuje, že po ukončení příjmu Deloru 103 se může poměrně rychle obnovit vylučování hormonu T_4 do krve. Zvýšení může být důsledek narušení regulace přes hypotalamo-hypofyzární systém (přes TSH).

U skupiny přijímající exogenně hormony štítné žlázy (skupina č. 2) pravděpodobně příjem stačil pro zpětnovazebnou regulaci produkce hormonu T_4 . U hormonu T_3 však zjišťujeme průkazné snížení koncentrace u obou skupin přijímajících Delor 103. Ani exogenní zdroj hormonů stav neovlivnil. Výsledek svědčí o těžkém poškození mechanismu přeměny hormonu T_4 na T_3 v jaterních buňkách. Thyreostatikum Carbimazol v použité dávce neovlivnilo významně koncentrace hormonu T_4 a T_3 v krevním séru kuřat. Uvedená fakta dokládají vyhodnocení vzájemného poměru hormonů T_4/T_3 . Nejtěžší narušení poměru bylo zjištěno u skupiny č. 5 (Delor 103). Přídavek hormonů štítné žlázy u skupiny č. 2 (Delor 103 + Thyreoidin) působil částečně protektivně na systém produkce hormonů T_4 (viz koncentrace v séru a histologický obraz).

Vzhledem k významnému účinku PCB na kardiovaskulární systém kuřat jsme se rozhodli sledovat vliv Deloru 103 na hladiny cyklických nukleotidů (cAMP a cGMP), jejichž koncentrace a poměr hovoří o funkčním stavu myokardu, zejména o kontraktilitě (Krause a Wollenberger, 1976). Cyklické nukleotidy se uplatňují jako tzv. druhý posel (second messenger) při přenosu humorální informace na úrovni buněčné membrány. Uplatňuje se např. i při zprostředkovaném působení hormonů štítné žlázy na kardiovaskulární aparát prostřednictvím adrenergního regulačního systému (Ganong, 1976). Histologický obraz potvrdil poškození myokardu kuřat přijímajících Delor 103. Z výsledků stanovení cAMP, cGMP a jejich vzájemného poměru však vyplývá, že největší alternaci vyvolával přídavek Thyreoidinu. To je v souladu s dřívějším pozorováním, které uskutečnili Kim a Smith (1985). Tito autoři svými pokusy na myokardu kuřat potvrdili přímý vztah hormonů

štítné žlázy ke kontraktilitě. Delor 103 v daném pokuse tedy nevyvolal ireverzibilní změny v koncentracích cyklických nukleotidů buněk myokardu. Určitou změnu, nikoliv však průkaznou, vyvolával přídavek thyreostatika Carbimazol.

Stanovení koncentrací iontů Na^+ , K^+ , Ca^{2+} a celkového vápníku jsme použili jako zdroj informací o metabolismu vápníku a iontů rozhodujících pro osmotické poměry organismu. Nejistili jsme průkazné změny v koncentraci iontů Na^+ . U skupiny s přídavkem Thyreoidinu (č. 4) byla zjištěna průkazně zvýšená hladina K^+ a snížená hladina Ca^{2+} a celkového vápníku. Obdobný trend výsledků byl, především u vápníku, zaznamenán u skupiny č. 2, která kromě Thyreoidinu přijímala i Delor 103. Výsledky naznačují, že použitá dávka Thyreoidinu měla značný účinek na pohyb iontů draslíku a vápníku v organismu kuřat. Vliv thyreoidálních hormonů na Ca^{2+} homeostázu naznačili ve své práci Storm a Hardeveld (1986). Při současném podání Deloru 103 však nebyly zaznamenány průkazné změny koncentrací u těchto iontů. To svědčí o určité „protichůdnosti“ účinku hormonů štítné žlázy a Deloru 103 (PCB) na systémy regulující pohyb těchto iontů. Tento rozpor se může odrážet na funkčním a morfologickém stavu kardiovaskulárního aparátu. Změny koncentrací celkového vápníku považujeme v tomto případě za méně významné. Použité vzorky (krevní sérum) umožňují získat pouze hrubý obraz o poruchách vyvolaných příjmem Deloru 103. Přesnější by bylo studovat naznačené alternace na buněčné úrovni (např. na tkáňových kulturách).

Jak plyne z uváděných výsledků histologického vyšetření, nejtěžší změny byly zaznamenány na primárních lymfatických orgánech a samozřejmě i na sekundárních lymfatických orgánech. To je v plném souladu s předchozími zjištěními (Safe a Hardeveld, 1987).

U obou skupin kuřat přijímajících Delor 103 (č. 2, 5) byla zjištěna silná cytolýza v thymu a burse Fabricii. To dokresluje negativní vliv podaného Deloru 103 na systém odpovědný za obranu organismu. V důsledcích lze uvažovat o prolomení obranyschopnosti (získaná imunodeficiency chemického původu — „chemická AIDS“). Vážné změny byly zaznamenány ve štítné žláze, jaterní tkáni a myokardu, kde poruchy svědčí o narušení permeability kapilár.

Detailnější informace o patologicko-morfologických změnách při intoxikaci Delorem 103 jsou předmětem samostatného sdělení.

Literatura

- GANONG, W. F.: Přehled lékařské fyziologie. Praha, Avicenum 1976. 632 s.
- HAPKE, H. I. a kol.: Polychlorierte Biphenyle. Mitteilung XIII. der Senatskommission zur Prüfung von Rückständen in Lebensmitteln. Weinheim (NSR), VCH 1988. 164 s.
- HERZIG, I. — TOULOVÁ, M. — PÍSAŘÍKOVÁ, B. — KOČAN, A. — NEUMANNOVÁ, M. — ZEŽULA, V. — MATOUŠKOVÁ, O.: Etiologie a prevence edémové nemoci drůbeže. [Závěrečná zpráva.] Výzkumný ústav veterinárního lékařství Brno 1985. 48 s.
- KIM, D. — SMITH, T. W.: Effect of thyroid hormone on calcium handling in cultured chick ventricular cells. J. Physiol., 364, 1985, s. 131-149.
- KOŠUTZKÝ, J.: Biologické a ekotoxické faktory v reprodukci hydiny. Veterinárstvo, Ser. C 2/87. Bratislava, Veda 1987. 139 s.
- KRAUSE, E. G. — WOLLENBERGER, A.: Cyclic nucleotides in heart. In: CRÄ-

MER, M. aj.: Cyclic nucleotides: Mechanism of action. New York, Wiley 1976. s. 229-250.

LOPUCHOVSKÝ, J.: Interakcia cholekalciferolu s polychlórovaným bifenylo (Delor 103) u hydiny. Biol. chem. Vet. 22, 1986, č. 5, s. 433-438.

RUPRICH, J. — PISKAČ, A.: Účinek polychlorovaných bifenylov (PCB) na organismus kuřat: vliv dlouhodobého příjmu středních dávek Deloru 103 na koncentraci thyroxinu, trijodthyroninu a celkového vápníku v krevním séru. Veter. Med. (Praha), 35, 1990, č. 2, s. 97-103.

SAFE, S. — HUTZINGER, O.: Polychlorinated biphenyls (PCBs): Mammalian and environmental toxicology. Berlin, Springer-Verlag 1987. 145 s.

STORM, H. — HARDEVELD, C. van.: Effect of hypothyroidism on cytosolic free Ca^{2+} concentration in rat hepatocytes during rest and following stimulation by noradrenaline or vasopressin. Biochim. biophys. Acta, 885, 1986, s. 206-215.

Došlo dne 22. 2. 1989

ПИСАЧ, А. — РУПРИХ, Й. — ГАЛОУЗКА, Р. (Институт ветеринарии, Брно; Институт гигиены и эпидемиологии, Брно): Воздействие полихлорных бифенилов (PCB) на организм цыплят: влияние кратковременной дачи высоких доз Делора 103 на концентрацию тироксина, трийодтиронина, натрия, калия и кальция в сыворотке крови. Veter. Med. (Praha), 35, 1990 (4) : 237-246.

7-дневное введение цыплятам высоких доз Делора 103 (PCB) — 1000 мг. кг⁻¹ корма длительно ухудшило их здоровье. Клиническая картина интоксикации носила признаки синдрома изнашивания. Длительное расстройство отмечено у превращения гормона щитовидной железы T₄ в T₃. Возобновление T₄ проходило сравнительно быстро. Добавки обоих гормонов в корм не повлияла заметно на интоксикацию, но вызвала концентрации K⁺, Ca⁺⁺ и всего Ca в сыворотке крови. Одновременная дача Делора 103 смягчала интенсивность изменений щитовидной железы. Гистологические изменения установлены на первичных лимфатических органах, что поддерживает установление иммуносупрессивных влияний у PCB. Добавка тиреостатического Карбимазола (карбимазол/1-карбетокси-3-метил-2-тионимидазол) не вызвала признаков гипопункции щитовидной железы цыплят.

контamination корма; полихлорные бифенилы; птица; гормоны T₃ и T₄; натрий; калий; кальций

PISKAČ, A. — RUPRICH, J. — HALOUZKA, R. (University School of Veterinary Medicine, Brno; Institute of Hygiene and Epidemiology, Brno): Effect of polychlorinated biphenyls (PCB) on the chickens' organism: effect of a short-time administration of high doses of Delor 103 on the concentrations of thyroxine, triiodothyroxine, sodium, potassium and calcium in blood serum. Veter. Med. (Praha), 35, 1990 (4) : 237-246.

The trial with a short-time receiving (7 days) of high doses of the preparation Delor 103 (PCB) to chickens (1000 mg. kg⁻¹ feed stuffs) had a long-run negative effect on their state of health. Clinical picture of intoxication resembled an involution syndrome. A defect persistence of the conversion of thyroid hormone T₄ to T₃ was found. Regeneration of T₄ hormone production was rather fast. Supplement of hormones T₄ and T₃ to feed had no significant influence on the course of intoxication, but it caused changes in concentrations of K⁺, Ca⁺⁺, and the total calcium in the blood serum of the birds. Simultaneous supplement of Delor 103 moderated the intensity of changes induced by exogenous flow of thyroid hormones. Histological changes were demonstrated in the primary lymph organs, which supported of findings of immunosuppressive effect in PCB. Supplement of the thyreostatic Carbimazol (Carbimazolium/1-carbaetoxy-3-methyl-2-thioimidazolinum) caused no symptoms testifying to hypofunction of thyroid gland in chickens.

feed contamination; polychlorinated biphenyls; poultry; hormones T₃ and T₄, sodium; potassium; calcium;

PISKAČ, A. — RUPRICH, J. — HALOUZKA, R. (Hochschule für Veterinärmedizin, Brno; Institut für Hygiene und Epidemiologie, Brno): *Wirkung der polychlorierten Biphenylgruppen (PCB) auf den Organismus der Kücken: Einfluss einer kurzfristigen Aufnahme von hohen Gaben von Delor 103 auf die Konzentration von Thyroxin, Trijodthyronin, Natrium, Kalium und Kalzium im Blutserum.* Veter. Med. (Praha), 35, 1990 (4) : 237-246.

Der Versuch mit einer kurzfristigen (7 Tage) Verabreichung hoher Gaben von Delor 103 (PCB) den Kücken (1000 mg.kg⁻¹ Futter) wies einem langdauernden negativen Einfluss auf den Gesundheitszustand dieser Kücken auf. Das klinische Intoxikationsbild wies eine Form des Verkommenheitssyndroms auf. Es konnte eine Störung langfristigen Charakters in der Umwandlung des Schilddrüsenhormons T₄ zu T₃ beobachtet werden. Die Erneuerung der Produktion des T₄-Hormons war relativ schnell. Der Zusatz von T₄- und T₃-Hormonen zum Futtermittel übte keinen wesentlichen Einfluss auf den Intoxikationsverlauf aus, rief aber Umwandlungen in der Konzentration von K⁺, Ca⁺⁺ und von Gesamtkalzium im Blutserum der Tiere hervor. Der gleichzeitige Zusatz von Delor 103 verminderte die Intensität der Umwandlungen, die durch die exogene Zufuhr von Schilddrüsenhormonen hervorgerufen worden waren. Histologische Umwandlungen konnten an primären lymphatischen Organen beobachtet werden, was die Feststellung der immunsuppressiven Wirkungen bei PCB unterstützt. Der Zusatz von Thyrostatikum Garbimazol (Carbimazolum/1-carbaethoxy-3-methyl-2-thioimidazolinum) rief keine Symptome der Hypofunktion der Schilddrüse der Kücken hervor.

Kontamination der Futtermittel; polychlorierte Biphenyle; Hormone T₃ und T₄; Natrium; Kalzium; Kalium

Adresy autorů:

Prof. MVDr. Alois Piskač, DrSc., MVDr. Roman Halouzka, Vysoká škola veterinární, Palackého 1—3, 612 42 Brno
MVDr. Jiří Ruprich, CSc., Institut hygieny a epidemiologie, Palackého 1—3, 612 42 Brno

VPLYV SÍRANU HOREČNATÉHO PRI USMRTENÍ KRÁLIKOV NA AKTIVITU ALDOLÁZY V ICH ORGÁNOCH

J. Rysińska, A. Kołataj, T. Stepkowska, G. Świdarska, V. Parkányi, J. Rafay

RYSIŃSKA, J. — KOŁATAJ, A. — STEPKOWSKA, H. — ŚWIDARSKA, G. — PARKÁNYI, V. — RAFAY, J. (Wysza Szkoła Pedagogiczna, Kielce, PLR; Výskumný ústav živočíšnej výroby, Nitra): *Vplyv síranu horečnatého pri usmrtení králikov na aktivitu aldolázy v ich orgánoch*. Veter. Med. (Praha), 35, 1990 4(0) : 247-250.

Úlohou výskumu bolo zistiť vplyv systému párenia a spôsobu usmrtenia na aktivitu aldolázy v tkanivách králikov. Experiment sa realizoval na 201 kusoch 140-dňových králikov plemena novozélandské biele, párených outbredne, resp. inbredne. Použili sme dva spôsoby usmrčovania: klasickú metódu, ktorá je založená na údere a prerušení miechy a usmrtenie pomocou aplikácie 10% síranu horečnatého (2 ml na kg hmotnosti). V krvnom sére a v homogenátoch pečene, obličky a chrbtového svalu sme stanovovali aktivitu aldolázy Brunsovou metódou. Nezistili sme preukazné rozdiely v aktivite aldolázy medzi králikmi párenými outbredne a inbredne. Štatisticky vysokopreukazné rozdiely, podmienené spôsobom usmrtenia, boli zaznamenané v aktivite enzýmu.

králik; outbredné a inbredné párenie; klasické usmrtenie; usmrtenie 10% MgSO₄; sérum; pečeň; oblička; sval; aldoláza

V roku 1971 sa vo Vitteli konal kongres, ktorý sa zaoberal chorobami spôsobenými deficitom horčíka. Na tomto kongrese sa definovala zvláštna úloha Mg⁺⁺ pri obranných mechanizmoch ako antistresorického, antitoxického a protialergického faktora s relaxačnými a anesteziologickými účinkami (Aleksandrowicz a Janicki, 1978).

S prihliadnutím na uvedené faktory sa sledoval vplyv systému pripravovania a spôsobu usmrčovania na aktivitu aldolázy v orgánoch králikov.

MATERIÁL A METÓDY

201 pokusných novozélandských bielych králikov vo veku 140 dní pochádzalo z chovu Akadémie Rolnickej v Krakove. Zvieratá sa chovali v štandardných klietkach s prísunom krmiva a vody *ad libitum*. Do prvej pokusnej skupiny boli zaradené králiky párené nepříbuzne (outbredne — 95), králiky druhej pokusnej skupiny sa pářili príbuzensky (inbredne — 106). Použili sa dva spôsoby usmrčovania: klasická metóda, založená na údere a porušení miechy, alebo uspanie pomocou aplikácie 10% síranu horečnatého v dávke 2 ml.kg⁻¹ hmotnosti (v množstve 3 až 7 ml na zviera) a následnou dekapitáciou.

Krv získaná z krčnej vény slúžila na stanovenie aldolázy zo séra. Kúsky pečene, obličky a chrbtového svalu sa homogenizovali v 0,25M sacharóze obsahujúcej 10mM EDTA. Tkanivové homogenáty sa centrifugovali pri 9000 g. V supernatantoch sa stanovila aktivita aldolázy metódou, ktorú stanovil Bruns (1954). Aktivita enzýmu je vyjadrená v medzinárodných jednotkách alebo milijednotkách na gram tkaniva, resp. mililitroch séra. Získané výsledky boli štatisticky spracované t-testom.

Tkanivo	Metóda usmrtenia	n	Outbredné párenie		n	Inbredné párenie	
			$\bar{x} \pm s$			$\bar{x} \pm s$	
Pečeň	klasické		[mj.g ⁻¹]	n Katal		[mj.g ⁻¹]	n Katal
	usmrtenie	11	520,8 ± 91,5 ⁺⁺	8681 ± 1525 ⁺⁺	12	460,9 ± 80,7 ⁺⁺	7683 ± 1345 ⁺⁺
	MgSO ₄	14	451,1 ± 80,4	7519 ± 1340	11	312,4 ± 51,7	5207 ± 862
Oblička	klasické		[mj.g ⁻¹]	n Katal		[mj.g ⁻¹]	n Katal
	usmrtenie	12	330,8 ± 57,1	5514 ± 951	11	341,1 ± 45,2 ⁺⁺	5686 ± 753 ⁺⁺
	MgSO ₄	13	338,7 ± 38,8	5646 ± 647	15	297,6 ± 43,3	4961 ± 722
Sérum	klasické		[mj.ml ⁻¹]	n Katal		[mj.ml ⁻¹]	n Katal
	usmrtenie	10	10,6 ± 1,8 ⁺⁺	5178 ± 31 ⁺⁺	12	10,9 ± 1,6 ⁺⁺	182 ± 27 ⁺⁺
	MgSO ₄	14	7,5 ± 1,4	126 ± 23	18	7,2 ± 0,9	120 ± 14
Sval	klasické		[j.g ⁻¹]	n Katal		[j.g ⁻¹]	n Katal
	usmrtenie	8	5,2 ± 1,4 ⁺⁺	88 ± 25 ⁺⁺	11	2,3 ± 0,9 ⁺⁺	39 ± 15 ⁺⁺
	MgSO ₄	13	10,9 ± 3,0	183 ± 50	16	10,2 ± 2,3	171 ± 39

VÝSLEDKY

Údaje týkajúce sa aktivity aldolázy v tkanivách a sére králikov sú uvedené v tab. I.

Zistilo sa, že aktivita aldolázy bola vyššia vo svalu, nižšia v pečeni a obličke (vo svalu je aktivita vyjadrená v j.g⁻¹, v ďalších orgánoch v mj.g⁻¹). Tak isto výrazne nižšia aktivita aldolázy bola v krvnom sére novozélandských bielych králikov. Nepotvrdili sa významnejšie rozdiely v aktivite sledovaného enzýmu medzi zvieratami párenými nepríbuzensky a príbuzne.

Aktivita aldolázy v pečeni, obličke (okrem skupiny outbredného párenia) i v sére bola výrazne nižšia po usmrtení síranom horečnatým než po klasickom usmrtení. Tieto rozdiely boli štatisticky vysokopreukazné v analyzovaných tkanivách inbredných králikov, ako aj v sére králikov párených outbredne. Naproti tomu vo svalu bola zaznamenaná opačná závislosť. Po aplikácii síranu horečnatého bola aktivita aldolázy vyššia než po klasickom usmrtení v oboch pokusných skupinách zvierat a tieto rozdiely boli štatisticky vysoko preukazné.

DISKUSIA

Výsledky podobné tým, ktoré sú prezentované v predloženej práci, sme získali v predchádzajúcich výskumoch, realizovaných na 70-dňových králikoch (Rysíňská a i., 1987b).

Nižšia hladina aktivity aldolázy po aplikácii síranu horečnatého v porovnaní s klasickým usmrtením poukazuje na slabšiu metabolickú odozvu na daný stresor, než akým je samotné usmrtenie. Priamym po-

tvrdením tohto zistenia môžu byť skoršie práce, v ktorých aktivita aldolázy stúpila vplyvom chladu v porovnaní s kontrolou (Rysińska a i., 1987a) a tak isto aplikáciou ACTH a adrenalínu (Rysińska a Kolataj, 1987; Rysińska, 1982).

Ióny Mg^{++} plnia v organizme pravdepodobne úlohu inhibítora stresovej reakcie prostredníctvom účasti na rozklade vnútrobunkových katecholamínov. Prítomnosť iónov Mg^{++} je nevyhnutná pri aktivite katecho-c-metyltransferázy a monoaminoxidázy rozkladajúcich uvedené amíny (Gryglewski a kol., 1983). Najväčšia inhibícia týchto enzýmov je v pečeni a obličkách; tým je možné vysvetliť zníženie aktivity aldolázy v tkanivách králikov po aplikácii síranu horečnatého. Mozgow (1951) uvádza, že intraperitoneálne aplikovaný síran horečnatý sa prejavuje ako uspávací prostriedok. Neskor sa vyblokuje z činnosti mozok, potom predĺžená miecha. Zvyšovanie koncentrácie $MgSO_4$ v krvi nad 7 mg% spôsobuje paralýzu respiračných centier a krvného obehu a v konečnom dôsledku smrť organizmu (Mazurczak, 1968).

So zreteľom na získané výsledky a na uvedené úvahy možno predpokladať, že 10% síran horečnatý je lepším usmrcovacím prostriedkom ako klasické usmrcovanie, pretože vyvoláva menšiu stresovú reakciu.

Literatúra

- ALEKSANDROWICZ, J. — JANICKI, K.: Pożywienie, woda i sól stołowa w ochronie zdrowia społecznego. Warszawa, Ossolineum 1978.
- BRUNS, F.: Bestimmung und Eigenschaften der Serumaldolase. Biochem. Z., 325, 1954. s. 156.
- GRYGLEWSKI, J. — GABARA, B. — GRONIEWSKI, J.: Blony biologiczne. Warszawa, PWN 1983.
- MAZURCZAK, J.: Fizjopatologia zwierząt. Warszawa, PWN 1968.
- MOZGOW, I.: Farmakologia weterynaryjna. Warszawa, PWRiL 1951.
- RYSIŃSKA, J.: Adaptacyjne zmiany aktywności wybranych enzymów glikolitycznych w tkankach myszy wywołane przez modelowe czynniki naporu środowiska. [Doktorska praca.] WSP Kraków, 1982.
- RYSIŃSKA, J. — KOŁATAJ, A.: The influence of selection on stress reactivity in mice. Part III. The influence of hormones on LDH and aldolase activity in the liver and kidney. Z. Tierzücht. Zücht.-Biol., 1987.
- RYSIŃSKA, J. — KOŁATAJ, A. — STEPKOWSKA, H.: Zmiany aktywności aldolazy i poziomu grup SH w tkankach myszy pod wpływem oziebienia. Kieleckie Studia Biologiczne, 1987a.
- RYSIŃSKA, J. — KOŁATAJ, A. — STALIŃSKI, Z. — STEPKOWSKA, H.: Zmiany aktywności aldolazy w tkankach królików po uboju tradycyjnym i po iniekcji $MgSO_4$. In: Streszczenie Konferencji Zwierzęta laboratoryjne w eksperymencie biomedycznym. Łódź 2.—4. 4. 1987. 1987b, s. 45.

Došlo dňa 1 2. 1989

РЫСИНСКА, Й. — КОЛАТАЙ, А. — СТЕПКОВСКА, Г. — ШВИДЕРСКА, Г. — ПАРКАНЬИ, В. — РАФАЙ, Й. (Педагогический институт, Кьельце, Польша; Научно-исследовательский институт животноводства, Нитра): Влияние сульфата магния при забое кроликов на активность альдолазы в их органах. Veter. Med. (Praha), 35, 1990 (4): 247-250.

Роль исследований состояла в определении, как влияет система спаривания и способа умертвления на активность альдолазы в тканях кроликов. В опыт включили 201 кролика в возрасте 140 дней породы новозеландский белый, которых спаривали в аутбредном порядке. Мы умертвляли их двумя способами: классическим путем — ударом, пересекающим спинной мозг, или введением 10%-го сульфата магния (2 мл/кг веса). Активность альдолазы определяли по методу Брунса в кровяной сыворотке и гомогенатах печени, почек и хребтовой мышцы. Достоверных различий ее активности

у аутбредно или инбредно спариваемых животных не отмечено. Высокодостоверны, однако, различия, обусловленные способом умертвления, установлены в активности фермента.

кролик; аутбредное и инбредное спаривание; классическое умертвление; умертвление с помощью 10 % $MgSO_4$; сыворотка; печень; почка; мышца; альдолаза

RYSIŃSKA, J. — KOŁATAJ, A. — STEPKOWSKA, H. — ŚWIDERSKA, G. — PARKÁNYI, V. — RAFAY, J. (Pedagogic High School, Kielce; PRP, Research Institute of Animal Production, Nitra): *The effect of magnesium sulphate at killing of rabbits on aldolase activity in their organs*. Veter. Med. (Praha), 35, 1990 (4) : 247-250.

The effect of the system of mating and the way of killing on the aldolase activity in the tissue of rabbits was the task of this research work. The research work was realized in 201 New Zealand white rabbits aged 140 days, mated outbred and inbred. Two methods of killing were used: classical method, which was based on the stroke and break the spinal cord; and killing with the help of treating with an i/m infection of 10 per cent of magnesium sulphate (2 ml per 1 kg of weight). In blood serum and in liver homogenates, kidneys and dorsal muscle the aldolase activity was determined by the method of Bruns. No significant differences in the aldolase activity between outbred and inbred rabbits were found. Statistically high significant differences, conditioned by killing method, were stated in activity of enzyme.

rabbit; outbred and inbred mating; classical killing; killing with 10 % $MgSO_4$; serum; liver; kidney; muscle; aldolase;

RYSIŃSKA, J. — KOŁATAJ, A. — STEPKOWSKA, H. — ŚWIDERSKA, G. — PARKÁNYI, V. — RAFAY, J. (Wysza Szkoła Pedagogiczna, Kielce, VRP; Forschungsinstitut für Tierproduktion, Nitra): *Einfluss des Magnesiumsulfats bei der Schlachtung der Kaninchen auf die Aktivität der Aldolase in ihren Organen*. Veter. Med. (Praha), 35, 1990 (4) : 247-250.

Ziel der Forschung war es, den Einfluss des Paarungssystems als auch der Schlachtungsmethode auf die Aktivität der Aldolase im Gewebe der Kaninchen festzustellen. Der Versuch wurde an 201 neuseeländischen Weissen Kaninchen im Alter von 140 Tagen, die outbred bzw. inbred gepaart worden waren, durchgeführt. Wir schlachteten die Kaninchen auf zwei Arten: klassisch, mit einem Schlag der das Rückenmark unterbricht und mit Hilfe von 10%-igem Magnesiumsulfat (2 ml/kg Lebendgewicht). Im Blutserum und in den Leber-, Nieren- und Rückenmuskulhomogenaten ermittelten wir die Aktivität der Aldolase mittels der Brunschen Methode. Wir stellten keine signifikanten Unterschiede in der Aktivität der Aldolase zwischen den outbred und inbred gepaarten Kaninchen fest. Statistisch hochsignifikante Unterschiede, in Abhängigkeit von der Schlachtungsmethode, konnten in der Aktivität des Enzyms verzeichnet werden.

Kaninchen; out- und inbrede Paarung; klassische Schlachtung; Tötung mit 10% $MgSO_4$; Serum; Leber; Niere; Muskel; Aldolase

Adresy autorov:

Dr. Jolanta Rysińska, Prof. Dr. hab. Adam Kołataj, Dr. Hanna Stepkowska, Dr. Grazyna Świdorska, Zakład Genetyki, Wyższej Szkoły Pedagogicznej, ul. Rew. Październikowej 33, 25-518 Kielce, PLR

RNDr. Vladimír Parkányi, CSc., RNDr. Ján Rafay, CSc., Výskumný ústav živočíšnej výroby, Hlohovská 2, 949 92 Nitra

J. Sýkora, J. Minář, O. Petříková, P. Vokoun, M. Gojda

SÝKORA, J. — MINÁŘ, J. — PETŘÍKOVÁ, O. — VOKOUN, P. — GOJDA, M. (Institut hygieny a epidemiologie, Praha; Městské veterinární zařízení, Praha): *Výskyt protilátek proti borreliím u psů*. Veter. Med. (Praha), 35, 1990 (1): 251-256.

Metodou nepřímé hemaglutinace, s použitím antigenního extraktu *Borrelia recurrentis*, byl studován výskyt protilátek proti borreliím u 169 sér psů dvou skupin s různou expozicí vůči přenašečům. Signifikantní rozdíl v séropozitivitě psů z pražských veterinárních abmulancí (53,7 %) a psů pocházejících z laboratorních chovů (20,9 %) potvrzuje účast psů v epidemiologii Lymeské borreliózy, ukazuje na vliv prostředí s volně žijícími přenašeči a na častost expozice hostitelů i v podmínkách městské aglomerace. Nejvyšší výskyt pozitivit v letních měsících (červenec — srpen) odpovídá výskytu přenašečů, jejichž vysoká promořenost spolu se zjištěnou sérologickou pozitivitou je předpokladem ke klinickému projevu onemocnění psů na území ČSFR.

Lymeská borrelióza; protilátky proti borreliím; *Borrelia recurrentis*

Lymeská borrelióza (LB) je zánětlivé onemocnění autoimunitního charakteru, které se ve svých počátcích obvykle projevuje charakteristickým šířícím se kruhovým zrudnutím kůže (*erytema chronicum migrans*) s následným vývojem poruch oběhového, nervového a pohybového systému.

Etiologickým agens LB je spirocheta *Borrelia burgdorferi* (Johnson aj., 1984), jejímž vektorem je v USA nejčastěji klíště *Ixodes dammini* (Burgdorfer aj., 1982) a v Evropě *Ixodes ricinus* (Ackerman aj., 1984). Na možnost šíření této nemoci komáry ukazují údaje o výskytu erytémů po pobodání tímto hmyzem (Hard, 1966), v Americe byly borrelie zjištěny metodou imunofluorescence v komárech rodu *Aedes* a v ovádech rodu *Chrysops* (Magnarelli, 1986).

Všechny dosud publikované výsledky klinicko-epidemiologických studií jednoznačně prokazují, že v případě LB jde o nákazu s přírodní ohniskovostí (Rosický a Minář, 1990). Rezervoárovými živočichy jsou zejména drobní savci, hlavně hlodavci (Anderson aj., 1985, 1987; Levine aj., 1985), některé druhy ptáků z řádu pěvců (Anderson a Magnarelli, 1984; Anderson aj., 1986); původce byl prokázán i u velkých savců, jako jsou šelmy a jelenovití (Anderson aj., 1985).

První klinický případ LB u psů byl v USA popsán v roce 1984 u tříletého dobrmana s bolestmi končetin v oblasti karpálních kloubů, u něhož byl kulturně prokázán původce a pozitivní reakce na přítomnost borreliových protilátek (Lissman aj., 1984).

Výsledky sérologických šetření prokázaly signifikantně vyšší geometrický průměr titrů u psů z endemické oblasti a s klinickými projevy LB (artritida) než u psů zdravých z téže oblasti a z oblasti neendemické (Kornblatt aj., 1985). Obdobné studie z Wisconsinu, New Jersey a Connecticutu (Magnaelli aj., 1985) jen potvrdily, že expozice psů je v endemických oblastech běžná a že toto zoonotické onemocnění má význam nejen pro humánní, ale i pro veterinární medicínu.

Vzhledem k údajům dokazujícím úlohu psů v epidemiologii LB a vzhledem k prokázanému výskytu borrelií v *Ixodes ricinus* v ČSFR (Kmetý aj., 1986), doprovázenému klinickými a sérologickými nálezy v populaci (Doutlík aj., 1986), bylo úkolem naší práce zjistit přítomnost protilátek proti borreliím u psů, a prokázat tak uvedené údaje v našich podmínkách.

MATERIÁL A METODA

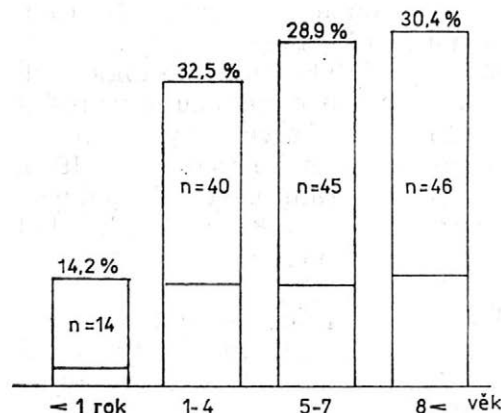
Séra vyšetřovaných psů o celkovém počtu 169 pocházela jednak z pražských veterinárních ambulancí (145 vzorků), jednak z laboratorního chovu psů plemena beagle (24 vzorky). V souboru byly zastoupeny různé věkové skupiny obou pohlaví a různých plemen včetně kříženců. Ani u jednoho ze psů se neprojevovaly typické klinické příznaky LB (*erythema chronicum migrans*, *arthritis*).

Antigen byl připraven z druhu *Borrelia recurrentis* pasážovaném na myších parciální centrifugací krve s následnou ultracentrifugací a desintegrací izolovaných organismů ultrazvukem ve vodném prostředí. Supernatant sonikátu obsahující vodný extrakt *Borrelia recurrentis*, rozplněný po alikvotech, byl uchováván ve zmraženém stavu bez ztráty aktivity déle než šest měsíců. Pracovní ředění antigenu bylo stanoveno dvojrozměrnou titrací; kontrolní pozitivní sérum bylo připraveno experimentální infekcí králíka spirochetou *Borrelia recurrentis*.

Protilátky byly stanoveny metodou nepřímé hemaglutinace podle standardní metodiky pro vyšetřování toxoplazmických protilátek (Zástěra aj., 1979). Vyšetřovaná séra byla přes noc vysycena 5% suspenzí erytrocytů (eliminace heterofilních protilátek) a ředěna sériově s ředicím koeficientem 2n. Hodnocena byla pouze difúzní aglutinace, hranice positivity byla stanovena matematicky v ředění 1 : 64.

VÝSLEDKY

Z celkového počtu 169 sér psů vyšetřených na přítomnost borreliových protilátek metodou nepřímé hemaglutinace reagovaly pozitivně v rozmezí titrů 1 : 16 až 1 : 512 83 vzorky (49,1 %). Pouze 46 vzorků (27,2 %) reagovalo v titrech 1 : 64 a vyšších.



1. Pozitivita věkových skupin psů z veterinárních ambulancí (titr. 1 : 64 a vyšší) — The positivity of the age groups of dogs coming to outpatient veterinary wards (the titre 1 : 64 and higher)

I. Sezónnost výskytu protilátek proti borreliím u psů z veterinárních ambulancí ($n = 145$) — The seasonal occurrence of antibodies to borrelias in dogs coming to an outpatient veterinary ward ($n = 145$)

Odběr	Počet vyšetření	Počet séropozitivních	Procento séropozitivních	Počet 1 : 64 ≤	Procento sér 1 : 64 ≤
Leden-únor	29	10	34,4	3	10,3
Březen-duben	14	7	50,0	4	28,5
Květen-červen	4	2	50,0	2	50,0
Červenec-srpen	7	5	71,4	4	57,1
Září-říjen	38	23	60,5	10	26,3
Listopad-prosinec	53	31	58,4	12	22,6

Ve skupině 145 psů z veterinárních ambulancí reagovalo pozitivně 78 vzorků (53,7 %). Jejich závislost na věku ukazuje obr. 1. Pozitivní hodnoty byly u této skupiny nalézány po celý rok s maximem v červenci a srpnu (tab. I).

Skupina 24 laboratorních psů reagovala pozitivně v pěti případech (20,9 %), ve čtyřech případech (16,6 %) bylo dosaženo hodnot 1 : 64 a vyšších (3 × titr 1 : 64, 1 × titr 1 : 128).

DISKUSE

Poměrně vysoká sérologická reaktivita jednotlivých druhů savců a ptáků, uváděná literaturou, není nijak překvapivá vzhledem k širokému okruhu hostitelů *Ixodes ricinus*, jeho vysoké promořenosti a k adaptabilitě původce LB (*Borrelia burgdorferi*). V porovnání s těmito skutečnostmi námi zjištěné údaje plně potvrzují častost expozice hostitelů. Vyšší procento pozitivity u psů z veterinárních ambulancí svědčí o vlivu prostředí na šíření této infekce, a to zřejmě i v podmínkách městské aglomerace. Pozitivitu u laboratorních psů lze vysvětlit ne vždy jasně definovanými podmínkami chovu před nákupem, kdy nelze jednoznačně vyloučit napadení klíšťaty, popřípadě přítomnost jiných přenašečů, obzvláště dvoukřídlého hmyzu v laboratorních chovech.

Rovnoměrné rozdělení pozitivních titerů (1 : 64 a výše) u psů starších věkových skupin ukazuje na stejnoměrnost infekční zátěže populace hostitele, nižší procento pozitivity u malé skupiny psů mladších lze vysvětlit zvýšenou chovatelskou starostlivostí a v důsledku toho nepřilíh častým stykem s přenašeči. Maximum pozitivity v letních měsících odpovídá období aktivity přenašečů. Naopak Magnarelli aj. (1987) udávají maximum séropozitivity v zimních měsících, ovšem již v této studii se projevuje závislost výsledků na kvalitě použité sérologické reakce (ELISA X imunofluorescence).

Protože kultivace a průkaz *Borrelia burgdorferi* ve tkáních je značně obtížný, je pro diagnostiku LB hlavní laboratorní metodou sérologický průkaz protilátek hostitele, který je spojen s neméně obtížnou interpretací výsledků a standardizací metod. Podobně jako ve studii, kterou uveřejnili Kornblatt aj. (1985), i v našem případě sérologická pozitivita zcela neodpovídala klinickým nálezům. Podle těchto autorů jde

o nákazy s inaparentním průběhem, ovšem i nízké titry protilátek mohou znamenat aktivní patologický proces s přítomností původce, jak prokázali izolačním pokusem z hostitele (medvídek mýval — *Procyon lotor*) s titrem 1:64 Magnarelli aj., [1984]. Konečně ani přítomnost klinických příznaků, doprovázená vysokými titry protilátek, nepotvrzuje diagnózu LB a z hlediska diferenciální diagnózy je nutné zejména u artritid vyloučit mechanická traumata, degenerativní kloubní procesy a samozřejmě hlavně artritidy stafylokokového a streptokokového původu (Kornblatt aj., 1985).

Důvodem pro použití heterologního antigenního extraktu *Borrelia recurrentis* je jeho snadná produkce na biologickém materiálu, přítomnost antigenních determinant společných s *Borrelia burgdorferi*, zejména v oblasti 41 kD (flagelin), a dobré korelace sérologických výsledků. Použití solubilních antigenních extraktů obou druhů však neeliminuje křížové reakce spojené s antigenní komponentou 60 kD, tzv. common antigen, který byl identifikován u více než 50 bakteriálních druhů (Hindersson aj., 1984). Konečným řešením není vzhledem k antigennímu polymorfismu *Borrelia burgdorferi* (Wilske aj., 1986) ani použití antigenní komponenty 41 kD Hansen aj., 1987).

Složitost interpretace sérologických nálezů při LB jen zdůrazňuje potřebu dalších epidemiologických studií přírodně ohniskového charakteru tohoto onemocnění, týkajícího se expozice jednotlivých skupin hostitelů, závislosti výskytu protilátek na sezóně, popřípadě jejich dynamikou, doprovázené izolačními pokusy a histologickým průkazem. Výsledky naší práce ukazují poprvé na účast psů v epidemiologii LB v ČSFR a potvrzují význam prostředí s volně žijícími přenašeči. Na základě těchto zjištění je možné předpokládat i klinickou manifestaci LB u našich psů, což bude předmětem dalšího sdělení.

Literatura

- ACKERMANN, R. — KABATZKI, J. — BOISTEIN, H. P. — STEERE, A. C. — GRODZICKI, R. L. — HARTUNG, S. — RUNNE, U.: *Ixodes ricinus* spirochete and European erythema chronicum migrans disease. Yale J. Biol. Med., 57, 1984, s. 573-580.
- ANDERSON, J. F. — MAGNARELLI, L. A.: Avian and mammalian hosts for spirochete infected ticks and insects in a Lyme disease focus in Connecticut. Yale J. Biol. Med., 57, 1984, s. 627-641.
- ANDERSON, J. F. — JOHNSON, R. C. — MAGNARELLI, L. A.: Seasonal prevalence of *Borrelia burgdorferi* in natural populations of white-footed mice, *Peromyscus leucopus*. J. clin. Microbiol., 25, 1987, s. 1564-1566.
- ANDERSON, J. F. — JOHNSON, R. C. — MAGNARELLI, L. A. — HYDE, F. W.: Identification of endemic foci of Lyme disease: isolation of *Borrelia burgdorferi* from feral rodents and ticks (*Dermacentor variabilis*). J. clin. Microbiol., 22, 1985, s. 36-38.
- ANDERSON, J. F. — JOHNSON, R. C. — MAGNARELLI, L. A. — HYDE, F. W.: Involvement of birds in the epidemiology of the Lyme disease agent *Borrelia burgdorferi*. Infect. and Immun., 51, 1986, s. 394-396.
- BURGDORFER, W. — BARBOUR, A. G. HAVES, S. F. — GRUNWALDT, E. — DAVIS, J. P.: Lyme disease a tick borne spirochetosis? Science, 216, 1982, s. 1317-1319.
- DOU TLÍK, S. — HANČIL, J. — KULKOVÁ, H. — SKÖLDENBERG, B. — STIERNSTEDT, G.: První sérologický průkaz lymeské nemoci u dětí v ČSR. Českoslov. Pediat., 41, 1986, s. 648-650.
- HANSEN, K. — HINDERSSON, P. — PEDERSEN, N. S.: Measurement of anti-

bodies to the *Borrelia burgdorferi* flagellum improves serodiagnosis in Lyme disease. J. clin. Microbiol., 26, 1987, s. 338-346.

HARD, S.: *Erythema chronicum migrans* associated with mosquito bite. Acta derm. venerol., 46, 1966, s. 473-476.

HINDERSSON, P. — PERTERSEN, C. S. — PEDERSEN, N. S. — AXELSEN, N. H.: Immunological cross-reactions between antigen Tp-4 of *Treponema pallidum* and an antigen common to wide range of bacteria. Acta path. microbiol. scand., Sect. B. 92, 1984, s. 183-188.

JOHNSON, R. C. — SCHMID, G. P. — HYDE, F. W. — STEIGERWALD, D. J. — BRENNER, D. J.: *Borrelia burgdorferi* sp. nov.: etiologic agent of Lyme disease. Int. J. syst. Bact., 34, 1984, s. 496-497.

KMETY, E. — ŘEHÁČEK, J. — VÝROSTKOVÁ, V.: Investigations of ticks for the presence of *Borrelia* in Czechoslovakia. Zbl. Bakt. Hyg., A., 263, 1986, s. 468-470.

KORNBLATT, A. N. — URBAND, P. H. — STEERE, A. C.: Arthritis caused by *Borrelia burgdorferi* in dogs. J. Amer. veter. Med. Assoc., 186, 1985, s. 960-964.

LEVINE, J. F. — WILSON, M. L. — SPIELMAN, A.: Mice as reservoirs of the Lyme disease spirochete. Amer. J. trop. Med. Hyg., 34, 1985, s. 335-360.

LISSMAN, B. A. — BOSLER, E. M. — CAMAY, H. et al.: Spirochete-associated arthritis (Lyme disease) in a dog. J. Amer. veter. Med. Assoc., 185, 1984, s. 123-126.

MAGNARELLI, L. A. — ANDERSON, J. F. — BARBOUR, A. G.: The etiologic agent of Lyme disease in deer flies, horse flies and mosquitoes. J. infect. Disease, 154, 1986, s. 355-358.

MAGNARELLI, L. A. — ANDERSON, J. F. — SCHREIER, A. B. — FICKE, C. M.: Clinical and serological studies of canine borreliosis. J. Amer. veter. Med. Assoc., 191, 1987, s. 1089-1094.

MAGNARELLI, L. A. — ANDERSON, J. F. — KAUFMANN, A. F. — LIEBERMAN, L. L. — WHITNEY, G. D.: Borreliosis in dogs from southern Connecticut. J. Amer. veter. Med. Assoc., 186, 1985, s. 955-959.

MAGNARELLI, L. A. — ANDERSON, J. F. — BURGDORFER, W. et al.: Parasitism by *Ixodes dammini* (Acari: Ixodidae) in Connecticut, USA. J. med. Ent. 21, 1984, s. 52-57.

ROSICKÝ, B. — MINÁŘ, J.: Přírodní ohniskovost Lymeské borreliózy. Českoslov. Epidem. Mikrobiol. Imunobiol., 1990, č. 2.

WILSKÉ, B. — PRAEC-MURSIC, V. — SCHIERZ, G. — BUSH, K. V.: Immunochemical and immunological analysis of European *Borrelia burgdorferi* strains. Zbl. Bakt. Hyg., R. A., 263, 1986, s. 92-102.

ZÁSTĚRA, M. — POKORNÝ, J. — KRAMÁŘ, J. — HÜBNER, J.: Standardní metodiky laboratorní diagnostiky toxoplazmózy. AHM, příloha č. 25/78, 1979, s. 39-41.

Došlo dne 1. 3. 1989

СЫКОРА, Я. — МИНАРЖ, Я. — ПЕТРЖИКОВА, О. — ВОКОУН, П. — ГОЙДА, М. (Институт гигиены и эпидемиологии, Прага; Городская ветеринарная станция, Прага): Распространение антител против спирохетоза, вызванного боррелиями у собак. Veter. Med. (Praha), 35, 1990 (4): 251-256.

Методом непрямои гемагглютинации, при применении антигенного экстракта *Borrelia recurrentis*, изучали распространение антител против боррелиям у 169 серумов собак двух групп с разным экспонированием против переносчиков. Сигнификантная разница в серумной положительной реакции собак из пражских ветеринарных амбулаторий (53,7%) и собак, происхождением из лабораторных разведений (20,9%) подтверждает участие собак в эпидемиологии Лаймского боррелиоза показывает на действие среды со свободно живущими переносчиками и на частоту экспозиции хозяинов и в городской агломерации. Самое большое распространение положительного ответа в летних месяцах (июль—август) отвечает распространению переносчиков, высокая инфицированность которых совместно с установленной серологической положительной реакцией является предпосылкой для клинического проявления заболевания собак на территории ЧССР.

Лаймская болезнь; антитела против боррелиям; *Borrelia recurrentis*

SÝKORA, J. — MINÁŘ, J. — PETŘÍKOVÁ, O. — VOKOUN, P. — GOJDA, M. (Institute of Hygiene and Epidemiology, Praha; Municipal Veterinary Ward, Praha): *The occurrence of antibodies to borrelias in dogs*. Veter. Med. (Praha), 35, 1990 (1) : 251-256.

Using the method of indirect hemagglutination and an antigenic extract of *Borrelia recurrentis* the occurrence of antibodies to borrelias was investigated in 169 sera of dogs from two groups with different exposure to vectors. A significant difference in the serum positivity of dogs coming to Prague outpatient veterinary wards (53.7 %) and of dogs coming from laboratory packs (20.9 %) confirms the participation of dogs in the epidemiology of Lyme borreliosis, indicates the influence of the environment with free living vectors and the frequency of host exposure also in the town agglomeration. The highest occurrence of positivity in summer months — July — August) corresponds to the incidence of vectors, the great infestation of which along with the determined serological positivity is a precondition of the clinical manifestation of dog diseases in the CSSR territory.

Lyme borreliosis; antibodies to borrelia; *Borrelia recurrentis*

SÝKORA, J. — MINÁŘ, J. — PETŘÍKOVÁ, O. — VOKOUN, P. — GOJDA, M. (Institut für Hygiene und Epidemiologie, Praha; Städtische Veterinäreinrichtung, Praha): *Auftreten der Antikörper gegen die Borrelien bei Hunden*. Veter. Med. (Praha), 35, 1990 (2) : 251-256.

Auf dem Wege der indirekten Hämagglutination unter Anwendung des antigenen Extraktes von *Borrelia recurrentis* untersuchten wir das Auftreten der Antikörper gegen die Borrelien bei 169 Seren der Hunde in zwei Gruppen mit unterschiedlicher Exposition den Überträgern gegenüber. Der signifikante Unterschied in der Seropositivität der Hunde aus verschiedenen Prager Veterinärambulanzen (53,7 %) und der aus Laborzuchten stammenden Hunde (20,9 %) bestätigt die Teilnahme der Hunde an der Epidemiologie der Lymeschen Borreliose, deutet auf den Einfluss der Umwelt mit frei lebenden Überträgern und auf die Häufigkeit der Exposition der Wirtsindividuen auch in einer städtischen Agglomeration hin. Das höchste Auftreten der Positivität in den Sommermonaten (Juli — August) entspricht dem Vorkommen der Überträger, deren hohe Kontamination zusammen mit der festgestellten serologischen Positivität Voraussetzung für ein klinisches Symptom der Erkrankung der Hunde auf dem CSSR-Territorium ist.

Lymensche Borreliose; Antikörper gegen die Borrelien; *Borrelia recurrentis*

Adresy autorů:

RNDr. Jan Sýkora, RNDr. Jan Minář, CSc., Institut hygieny a epidemiologie, Šrobárova 48, 100 42 Praha 10

MVDr. Olga Petříková, MVDr. Petr Vokoun, MVDr. Michal Gojda, Městské veterinární zařízení, Bolzanova 1, 110 00 Praha 1

CONTENTS

Mádr P., Benda V., Škardová O.: Determination of antibodies against embryos of <i>Streptococcus agalactiae</i> in milk of dairy cows by test ELISA	199
Nikitin V. F., Pavlásek I.: The main intestinal parasitic infections in calves and its role in etiology of diarrhoeic diseases	206
Paulík Š., Vrzgula L., Bíreš J., Hojerová A., Nedvěd Z.: The level of activity of phagocytosis of blood leucocytes the concentrations of serum immunoglobulins and albumin after parenteral administration of zinc during antitrichophytosis vaccination in calves	214
Kudweis M., Juliš I., Lojda Z., Vítovec J., Koudela B.: Morphometric analysis of alkaline phosphatase in piglets' small intestine infected with coccidia <i>Isospora suis</i>	228
Tokoš M., Tokošová M.: The effect of season on ovulation response in ewes, after receiving gonadotropin PMSG	236
Piskač A., Ruprich J., Halouzka R.: Effect of polychlorinated biphenyls (PCB) on the chickens' organism: effect of a short-time administration of high doses of Delor 103 on the concentrations of thyroxine, triiodothyroxine, sodium, potassium and calcium in blood serum	245
Rysińska J., Kołataj A., Stepkowska T., Świdorska G., Parkányi V., Rafay J.: The effect of magnesium sulphate at killing of rabbits on aldolase activity in their organs	250
Sýkora J., Minář J., Petříková O., Vokoun P., Gojda M.: The occurrence of antibodies to borrelias in dogs	256

INHALT

Mádr P., Benda V., Škardová O.: Bestimmung der Antikörper gegen die Keime von <i>Streptococcus agalactiae</i> in der Kuhmilch mittels der ELISA-Test	199
Nikitin V. F., Pavlásek I.: Wichtigste parasitäre Darminfektion der Kälber und ihre Rolle in der Ätiologie der Durchfallserkrankungen	(E) 206
Paulík Š., Vrzgula L., Bíreš J., Hojerová A., Nedvěd Z.: Niveau der phagozytären Aktivität der Leukozyten, der Konzentration von Serumimmunoglobulinen und von Albumin nach parenteraler Zn-Applikation bei der Impfung gegen die Trichophytose der Kälber	215
Kudweis M., Juliš I., Lojda Z., Vítovec J., Koudela B.: Morphometrische Analyse der Aktivität der alkalischen Phosphatase im Dünndarm der mit Kokzidien von <i>Isospora suis</i> infizierten Ferkel	228
Tokoš M., Tokošová M.: Einfluss der Jahreszeit auf die ovarielle Reaktion der Schafe nach Verabreichung des Serumgonadotropins PMSG	(E) 236
Piskač A., Ruprich J., Halouzka R.: Wirkung der polychlorierten Biphenylgruppen (PCB) auf den Organismus der Kücken: Einfluss einer kurzfristigen Aufnahme von hohen Gaben von Delor 103 auf die Konzentration von Thyroxin, Trijodthyronin, Natrium, Kalium und Kalzium im Blutserum	246
Rysińska J., Kołataj A., Stepkowska T., Świdorska G., Parkányi V., Rafay J.: Einfluss des Magnesiumsulfats bei der Schlachtung der Kaninchen auf die Aktivität der Aldolase in ihren Organen	250
Sýkora J., Minář J., Petříková O., Vokoun P., Gojda M.: Auftreten der Antikörper gegen die Borrelien bei Hunden	256



Rukopisy odevzdány k tisku 27. 10. 1989 — Podepsáno k tisku 16. 5. 1990

Vědecký časopis VETERINÁRNÍ MEDICÍNA • Vydává Československá akademie zemědělská — Ústav vědeckotechnických informací pro zemědělství • Vychází měsíčně • Redaktorka ing. Zdeňka Radošová • Redakce: 120 56 Praha 2, Slezská 7, telefon 257541 • Vytiskl MÍR, novinářské závody, sdr. p., závod 6, tř. Lidových milicí 22, 120 00 Praha 2 • © Ústav vědeckotechnických informací pro zemědělství, Praha 1990

Rozšiřuje PNS. Informace o předplatném podá a objednávky přijímá každá administrace PNS, pošta, doručovatel a PNS-ÚED Praha, ACT, 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, administrace vývozu tisku, Kovpakova 26, 160 00 Praha 6.