

VĚDECKÝ ČASOPIS



VETERINÁRNÍ MEDICÍNA

3

ROČNÍK 36 (LXIV)
PRAHA
BŘEZEN 1991
CS ISSN 0375-8427

ČESKOSLOVENSKÁ AKADEMIE ZEMĚDĚLSKÁ
ÚSTAV VĚDECKOTECHNICKÝCH INFORMACÍ
PRO ZEMĚDĚLSTVÍ

OBSAH

Šimoník J., Kudláč E.: Vztah spermiotoxicity cervikálního hlenu krav ke koncepci	129
Struháriková J., Slanina E., Elbertová A.: Glykémia a glykozúria pri hľadaní novej energetickej dotácie u teliat	135
Puzder P., Elbertová A., Kušnir J., Želtvay T.: Dynamika zmien tyroxínu u kastrovaných novonarodených býčkov	147
Kudweis M., Lojda Z., Juliš I.: Histochemie nukleosidfosfatáz a fosfoglukomutázy tenkého střeva během kokcidiozy selat	153
Jalč D., Oblakov N., Baran M., Vondrák T., Siroka P.: Fermentácia krmnej dávky bachorovým obsahom daniela a barana v umelom bachore [RUSITEC]	165
Veselý D., Veselá D.: Využití kuřecího zárodku k predikci některých embryotoxických účinků mykotoxinů na savcích	175
Pecka Z.: Studium patogenity <i>Tetratrichomonas gallinarum</i>	183

CONTENTS

Šimoník J., Kudláč E.: Relationship of the spermiotoxicity of the cervical mucus of cows to conception	134
Struháriková J., Slanina E., Elbertová A.: Glycaemia and glycosuria with respect to searching new energy sources for calves	145
Puzder P., Elbertová A., Kušnir J., Želtvay T.: Dynamics of the changes in thyroxine in castrated newborn bullocks	152
Kudweis M., Lojda Z., Juliš I.: The histochemistry of the nucleosid-phosphatases and phosphoglutamase of the small intestine of piglets suffering from coccidiosis	163
Jalč D., Oblakov N., Baran M., Vondrák T., Siroka P.: Feed ration fermentation by means of the rumen contents of fallow-deer and ram in an artificial rumen [RUSITEC]	172
Veselý D., Veselá D.: The use of chick embryo for prediction of some embryotoxic effects of mycotoxins in mammals	181
Pecka Z.: Study on the pathogenicity of <i>Tetratrichomonas gallinarum</i>	188

J. Šimoník, E. Kudláč

ŠIMONÍK, J. — KUDLÁČ, E. [Okresní veterinární správa, Karviná; Vysoká škola veterinární, Brno]: *Vztah spermioxicity cervikálního hleny krav ke koncepci*. Veter. Med. (Praha), 36, 1991 (3): 129—134.

Cervikální sekret jsme odebrali od 99 dojníc ve věku 24 až 109 měsíců, plemene černostrakatého nížinného s minimální užítkovostí 4000 kg mléka ročně, ve spon-tánní říji minimálně 42 dní *post partum*. Při stanovení progesteronu (radioimu-nologicky) v odstředěném mléce se prokázalo, že u všech plemenic ($n = 99$) byl říjový sekret odebrán v optimální době inseminace ($x = 0,19 \text{ ng} \cdot \text{ml}^{-1}$ proge-steronu). Ze statistického souboru 99 krav 56 dojníc zabřezlo, tj. 56,57 % a 43 dojníc zůstalo jalových, tj. 43,43 %. Zjistili jsme, že výsledky koncepce neovliv-nilo pořadí inseminace po porodu a koncepční schopnost krav nebyla ovlivněna délkou doby od porodu k jednotlivým inseminacím. Naše šetření prokázala, že s prodlužující se dobou přežitelnosti spermií v cervikálním sekretu *in vitro* se zvyšuje koncepční schopnost plemenic. Nejvyšší koncepční schopnost (80 %) byla zjištěna u krav, jejichž cervikální sekret byl bez spermioxicického účinku. V těchto případech motilita spermií byla zachována v říjovém hleny *in vitro* při teplotě 38 °C po dobu více než 300 minut. Naopak jsme prokázali, že se zkracující se dobou přežitelnosti spermií v cervikálním sekretu klesá koncepční schopnost krav.

skot; říje; cervikální hlen; spermioxicita; koncepční schopnost

Jedním z klíčových momentů úspěšné reprodukce a dobré plodnosti skotu je inseminace plemenic fertilním semenem v optimální době říje.

Cervikální hlen — produkt epitelálních buněk děložního cervixu — je v době říje jedním z hlavních viditelných fenoménů říje a pro úspěš-nou koncepci plemenic, podle četných literárních údajů, má funkci fil-trační, selektivní, zásobní, protektivní, antibakteriální, antimykotickou a energetickou (Kudláč a Holý, 1984). Podle biochemických a ultracentrifugačních studií se skládá ze dvou hlavních komponentů.

První složkou je semisolidní mukoidní gel složený z makromolekul glykoproteinů, které jsou kondenzovány do micel a jejich uspořádání závisí na endokrinním stavu organismu. Druhou složkou je cervikální plazma obsahující nízkomolekulární látky jako jsou elektrolyty, sacha-ridy, aminokyseliny, lipidy, peptidy a polysacharidy. Semisolidní mukoid-ní gel má síťové uspořádání, které se mění vlivem estrogenů a gesta-genů. Ve folikulární fázi cyklu jsou micely uspořádány paralelně a lon-gitudiálně obsahující 100—1000 řetězců glykoproteinů. Vzdálenost mezi micelami (1—10 μ) umožňuje pohyb spermií i difúzi rozpuštěných lá-

tek. V luteální fázi se struktura gelu mění a oka sítě jsou asi $10\times$ menší ($0,3\ \mu$). Glykoproteinové molekuly se skládají z heterosacharidových řetězců připojených na dlouhý polypeptid.

Vodní fáze cervikálního hlenu (cervikální plazma) se skládá z nízkomolekulárních a vysokomolekulárních látek. Z nízkomolekulárních látek je nejdůležitější NaCl. Je z elektrolytů zastoupen nejvýrazněji a odpovídá spolu s ionty za fenomén arborizace. Natriumchlorid v čerstvém hlenu nevykazuje cyklické změny, jde přibližně o izotonický roztok s obsahem 0,93 % NaCl. Naopak v zaschlém hlenu je markantní cyklická změna v podílu NaCl s maximem v době ovulace. Obsah solí v době ovulace je 40–70 % proti 2–20 % mimo tuto dobu. Z vysokomolekulárních látek obsahuje cervikální hlen lokálně produkované proteiny IgA, IgG, dále enzymy (alkalická fosfatáza, aminopeptidáza, amyláza, lysozym aj.), která mají většinou cyklický průběh s minimem v době předovulačního maxima estrogenů. Ze sérových proteinů byly prokázány albumin, gamaglobulin aj., které rovněž mají minimum v době předovulační a maximum v luteální fázi pohlavního cyklu (Horský, Presl, 1978; Gamčík aj., 1980; Rob, 1985 a další).

Kvantita a kvalita cervikálního hlenu je v přímé korelaci s neurohumorálním stavem jedince. Sekrece cervikálního hlenu je regulována pohlavními steroidními hormony a odráží vztah vnějšího a vnitřního prostředí plemence (Kudláč a Elečko, 1977).

V posledním období vznikla řada prací, které referují o snížení biologické kvality cervikálního hlenu. Wudl a Sherman (1983) uvádějí, že řada toxických látek, včetně těžkých kovů, vyvolává cytotoxicitu při prostupu do sekretů pohlavního ústrojí a dochází k narušení embrya. Rob (1985) zjistil spermiotoxické vlastnosti říjového sekretu krav se sníženou plodností. Referuje, že k narušení biologických vlastností cervikálního hlenu dochází transferem solí těžkých kovů, bakteriálními toxiny, případně mykotoxiny. Vylučování chemických prvků v říjovém sekretu prokázali Rob (1985), Růžicka (1986), Šimoník (1989). Chemické prvky negativně zasahují do reprodukční sféry účinkem cytotoxickým, embryotoxickým, teratogenním, mutagenním a karcinogenním tím, že se kumulují v reprodukčních orgánech (Bencík aj., 1984). Chronický přívod toxických prvků do organismu kromě jiného narušuje sexuální funkce u samců a samic hospodářských zvířat a stává se hlavní příčinou vzniku poruch plodnosti (Rob, 1985).

Práce výše citovaných autorů jsou prioritní, ale neuvádějí vztah spermiotoxických vlastností říjového sekretu ke koncepční schopnosti skotu. Cílem našeho šetření bylo objasnit spermiotoxicitu cervikálního sekretu krav ve vztahu ke koncepční schopnosti.

MATERIÁL A METODA

Cervikální sekret byl odebrán na zemědělském podniku OKD H., farma VKK 1 R od 99 dojnic černostrakatého nížinného plemene ve věku 24–109 měsíců s minimální užitkovostí 4000 kg mléka ročně, ve spontánní říji minimálně 42 dní *post partum*.

Ukazatele plodnosti v období šetření spermiotoxicity cervikálního sekretu byly na nízké úrovni: procento březosti po 1. inseminaci krav 46,2 %, březost po všech inseminacích krav 47,9 %, interval 68 dní, servis perioda 99,1 dní.

Odběr cervikálního hlenu byl prováděn po předchozím zevním, vaginálním a rektálním vyšetření pohlavních orgánů krav a klinickém posouzení fenoménu říje (otevření cervixu, hyperemie sliznic, Graafův folikul, přítomnost hlenu). Optimální doba inseminace (říje) byla kontrolována stanovením progesteronu v mléce radioimunoanalýzou

odstředěného mléka (Hruška aj., 1983a, b). Vlastní odběr říjového hlenu před provedením inseminace (1.—4. po porodu) u spontánně se říjících krav byl prováděn sterilními a chemicky čistými pipetami. Odběr byl proveden pod vizuální kontrolou s pomocí vaginálního spekula z okolí zevní branky děložního krčku v minimálním množství 1 g. Takto získaný cervikální hlen byl přenesen do chemicky čistých a sterilních zkumavek, které byly uzavřeny a vzorky cervikálního hlenu byly bezprostředně zamrazeny na -18°C .

Po odběru cervikálního hlenu byla do 30 min provedena umělá inseminace do děložního cervixu zmrazeným spermatem. Testace spermio toxicity cervikálního sekretu *in vitro* byla prováděna podle Roba (1985) za 12—18 dní po odběru.

Výsledky koncepce (zabřeznutí) byly zjišťovány rektálně za 40 až 50 dní po inseminaci (raná diagnostika gravidity).

Matematicko-statistické hodnocení výsledků bylo provedeno na počítači TNS. Závislost koncepce na kvalitativních znacích (doba přežitelnosti spermií v říjovém sekretu) byla zjišťována pomocí kontingenčních tabulek a z nich vycházejícího testu nezávislosti.

VÝSLEDKY

Výsledky stanovení progesteronu (radioimunoanalýzou) v odstředěném mléce prokázaly, že všem plemenicím ($n = 99$) byl cervikální hlen odebrán v optimální době říje ($\bar{x} = 0,19 \text{ ng} \cdot \text{ml}^{-1}$ progesteronu).

Ze statistického souboru 99 krav 56 dojnic zabřezlo, tj. 56,57 % a 43 dojnic zůstalo jalových, tj. 43,43 % (tab. I). Pro zjištění případné závislosti březosti na pořadí inseminace (1.—4. p. p.) bylo použito testu nezávislosti v kontingenční tabulce (tab. II). Bylo zjištěno, že výsledky koncepce neovlivnilo pořadí inseminace od porodu, tj. koncepční schopnost nebyla ovlivněna dobou od porodu k jednotlivým inseminacím.

I. Výsledky koncepce krav sledovaného souboru ($n = 99$) — Conception results in the cows of the set under study ($n = 99$)

Ukazatel ¹	Skupina ⁴	
	<i>n</i>	%
Koncepce ² +	56	56,57
Koncepce ² —	43	43,43
Celkem ³	99	100,00

¹parameter, ²conception, ³total, ⁴group

II. Koncepce dojnic v závislosti na pořadí inseminace ($n = 99$) — Conception in the dairy cows, as depending on the rank of insemination ($n = 99$)

Ukazatel ¹	Pořadí inseminace p. p. ⁴				Celkem krav ³
	1	2	3	4	
Koncepce ² +	28	15	8	5	56
Koncepce ² —	22	10	8	3	43
Celkem krav ³ Koncepce ² + —	50	25	16	8	99

Znaky jsou na sobě nezávislé ($\alpha = 0,05$) — The traits are independent of each other ($\alpha = 0,05$)

For 1—2 see Tab. I; ³total no. of cows, ⁴rank of insemination p. p.

III. Závislost koncepce krav na spermiotoxicitě cervikálního hlenu *in vitro* — The dependence of cow conception on the spermiotoxicity of their cervical mucus *in vitro*

Ukazatel ¹	Spermiotoxická ⁴ [min]												Celkem krav ³
	< 30'		< 60'		< 120'		< 180'		< 300'		300' ≥		
	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	
Koncepce ² +	0	0,00	0	0,00	5	35,71	16	66,66	15	55,55	20	80,00	56
Koncepce ² —	4	100,00	5	100,00	9	64,28	8	33,33	12	44,44	5	20,00	43
Celkem krav ³ Koncepce ² + —	4	100,00	5	100,00	14	100,00	24	100,00	27	100,00	25	100,00	99

Znaky jsou na sobě závislé ($\alpha = 0,05$) — The traits are dependent on each other ($\alpha = 0,05$). Spermiotoxická — Spermiotoxicity: < 30' výrazně agresivní — very aggressive; < 60' velmi silná — very strong; < 120' silná — strong; < 180' střední — medium; 300' mírná — slight; 300' ≥ bez spermiotoxického efektu — free of spermiotoxic action

For 1—3 see Tab. II; ⁴spermiotoxicity

Výsledky šetření testace spermiotoxicity cervikálního hlenu a koncepce krav s jednotlivými typy spermiotoxicity cervikálního hlenu jsou uvedeny v tab. III. Z ní je obecně patrné, že s prodlužující se dobou přežitelnosti spermií v cervikálním sekretu *in vitro* se zvyšuje koncepční schopnost krav. Nejlepší koncepční schopnost — 80 % byla zjištěna u krav, jejichž cervikální sekret byl bez spermiotoxického účinku. To znamená, že motilita spermií byla zachována v říjovém sekretu těchto krav *in vitro* při teplotě 38 °C po dobu více než 300 minut. Naopak naše šetření prokázala, že se zkracující se dobou přežitelnosti spermií v cervikálním hlenu klesá koncepční schopnost krav (tab. III).

DISKUSE

Naše šetření prokázala různou biologickou plnohodnotnost říjového sekretu v období inseminace, přestože cervikální sekret byl odebrán v optimální fázi pohlavního cyklu, o čemž svědčí výsledky progesteronového testu v mléce krav. Zjistili jsme různou kvalitu cervikálních hlenů s různým spermiotoxickým účinkem v období říje. Kvalita cervikálního sekretu v období říje byla ovlivněna přítomností toxických prvků v genitálním sekretu, jak jsme o tom referovali dříve (Šimoník a Pavelka, 1989; Šimoník, 1989; Šimoník aj., 1990). Doba motility spermií v cervikálním hlenu mohla pravděpodobně rovněž být ovlivněna fází říje, avšak tento vztah jsme v tomto šetření nesledovali. Rob (1985) uvádí, že cervikální sekret krav v období optimální inseminace (druhá polovina říje, kapradovitá arborizace) vykazuje nižší spermiotoxický efekt než cervikální hlen odebraný v první polovině říje (plavuňovitá arborizace).

Lze vyslovit domněnku, že biologická kvalita cervikálního sekretu mohla být ovlivněna bakteriálními toxiny, případně mykotoxiny. V době našeho šetření incidence postpuerpálních endometritid v chovu byla v rozmezí 12—26 %, avšak bakteriologické a mykologické vyšetření cervikálního hlenu v období inseminace jsme neprováděli. Při preventivní depistáži na stejném zemědělském závodě jsme však prokázali přítomnost plísně *Penicilium*, *Absida* a *Mucor*.

Naše sledování obecně prokázala, že s prodlužující se dobou přežitelnosti spermií *in vitro* v cervikálním hlenu stoupá koncepční schopnost plemenic. Nejlepší koncepční schopnost, tj. 80,0 %, jsme zjistili u krav, jejichž cervikální hlen v období říje neměl spermiotoxický účinek a doba přežitelnosti spermií byla minimálně 300 minut. To znamená, že přípravná fáze k syngamii gamet na spermiích (tzv. kapacitace) probíhala v pohlavním ústrojí skotu, jejichž cervikální sekret neměl spermiotoxické vlastnosti, v optimální časové posloupnosti. Kapacitace spermií v pohlavním ústrojí skotu probíhá po dobu kolem 6 h (Kudláč a Elečko, 1977).

Literatura

- BENCKO, V. — CIKRT, M. — LENER, J.: Toxické kovy v pracovním a životním prostředí člověka. Praha, Avicenum 1984, s. 264.
GAMČÍK, P. — SAKALA, J. — LOJDA, L.: Plodnost hovězího dobytka a jej poruchy. Bratislava, Příroda 1980, s. 497.
HORSKÝ, J. — PRESL, J.: Gynekologická endokrinologie. Praha, Avicenum 1978, s. 556.
HRUŠKA, K. — FRÁNEK, M. — HURSA, J. — KALÁB, P.: Radioimmunoassay of progesterone in cow milk. Endocrin. exp., 17, 1983, s. 213—218.

- KUDLÁČ, E. — ELEČKO, J.: Veterinární porodnictví a gynekologie. Praha, SZN 1977.
- KUDLÁČ, E. — HOLÝ, L.: Řízení a kontrola reprodukce ve velkochovech skotu. Praha, SZN 1984.
- ROB, O.: Studium některých faktorů ovlivňujících reprodukci skotu. VŠZ Praha, 1985, s. 134.
- RŮŽIČKA, V.: Faktory negativně ovlivňující reprodukci skotu a ztráty telat. [Kandidátská disertace.] Praha 1986, 82 s. — Vysoká škola zemědělská.
- ŠIMONÍK, I.: Vliv toxických prvků na plodnost a některé pohlavní funkce skotu. [Kandidátská disertace.] Brno 1989, 113 s. — Vysoká škola veterinární.
- ŠIMONÍK, I. — PAVELKA, J.: Residua toxických prvků v cervikálním hlenu ve vztahu ke koncepci. In: Konference o otázkách reprodukce skotu, VŠV Brno, 1988.
- ŠIMONÍK, I. — PAVELKA, J. — KUDLÁČ, E.: The spermiotoxicity of select chemical elements (Cr, Cu, Zn) *in vitro*. Zuchthygiene, 1990.
- WUDL, L. R. — SHERMAN, M. I.: Effects of chemicals in reproductive function in mammals: Mechanism of cell injury and adaptive responses. In: YOUK, V. B. — SHERMAN, P. J.: 1983, s. 171—198.

Došlo dne 14. 2. 1990

ŠIMONÍK, J. — KUDLÁČ, E. (District Veterinary Administration, Karviná; University of Veterinary Medicine, Brno): *Relationship of the spermiotoxicity of the cervical mucus of cows to conception*. Veter. Med. (Praha), 36, 1991 (3): 129—134.

Cervical secretion was collected from 99 dairy cows of the Black Pied Lowland breed at an age of 24 to 109 months with a minimum performance of 4000 kg of milk annually in spontaneous oestrus 42 days *post partum* at the minimum. It was demonstrated by the radioimmunological determination of progesterone in skim milk that from all the breeding cows ($n = 99$) the oestral secretion was collected during an optimum insemination time ($x = 0.19 \text{ ng} \cdot \text{ml}^{-1}$ progesterone). Of the statistical set of 99 cows, 55 (i. e. 56.57 %) got in calf and 43 (i. e. 43.43 %) remained barren. As found, the conception results were not influenced by the rank of the insemination after parturition and the conception capacity of the cows was not influenced by the length of time from parturition to the respective inseminations. It was demonstrated in our investigation that the conception capacity of the cows increases as the time of sperm survival prolongs in the cervical secretion *in vitro*. The highest conception capacity (80 %) was recorded in the cows whose cervical secretion was free of spermiotoxic action. In such cases the motility of the spermatozoa in the oestral mucus was maintained at a temperature of 38 °C for longer than 300 minutes. On the other hand, it was demonstrated that the conception capacity of the cows declines with shortening time of sperm survival in the cervical mucus.

cattle; oestrus; cervical mucus; spermiotoxicity; conception capacity

Adresy autorů:

MVDr. Ivo Šimoník, CSc., Okresní veterinární správa, Těšínská 619, 733 00 Karviná
 Prof. MVDr. Eduard Kudláč, CSc., Vysoká škola veterinární, Palackého 1—3, 612 42 Brno

GLYKÉMIA A GLYKOZÚRIA PRI HLADANÍ NOVEJ ENERGETICKEJ DOTÁCIE U TELIAT

J. Struháriková, E. Slanina, A. Elbertová

STRUHÁRIKOVÁ, J. — SLANINA, E. — ELBERTOVÁ, A. (Ústav experimentálnej veterinárnej medicíny, Košice; Vysoká škola veterinárska, Košice; Experimentálne výskumné stredisko VŠV, Zemplínska Teplica): *Glykémia a glykozúria pri hladaní novej energetickej dotácie u teliat*. Veter. Med. (Praha), 36, 1991 (3): 135—145.

Teliatám troch vekových kategórií (preruminálne, prechodné obdobie, ruminujúce) sme po 12hodinovej hladovke aplikovali perorálne monosacharid [glukóza], disacharid [hydrolyzát sacharózy] a polysacharid [maltodextrín KMS-X 70]. Metodicky sme brali do úvahy úroveň glykémie, glykozúrie, kyseliny mliečnej, osmolality plazmy, hematokritu, čistého acidobazického výlučku a sušiny trusu. Stupeň využitia sacharidov sme posudzovali podľa glykémie, glykozúrie a klinického stavu. Použitie maltodextrínov u teliat vo veku dvoch až troch týždňov sa ukázalo ako nevhodné. Absorpcia hydrolyzáту sacharózy vykazovala výraznú vekovú závislosť. Dávka $2.5 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ ž. h. hydrolyzáту sacharózy je bilancovaná vzhľadom na glykémiu a glykozúriu, ale nie na sušinu trusu. Pri porovnaní s absorpciou glukózy sa zdá byť hydrolyzát sacharózy vhodným energetickým zdrojom pre teľatá rôznych vekových kategórií.

teľa; sacharidy; glukóza; hydrolyzát sacharózy; maltodextrín; glykémia; glykozúria; diarhoe

Chorobnosť mláďat hospodárskych zvierat, hlavne teliat, je celosvetovým problémom. S koncentráciou chovu chorobnosť často úmerne stúpa s relatívne pestrú škálou ochorení. V popredí problémov stojí diarhoický a respiračný syndróm, ktoré spolu predstavujú až 80 % celkovej chorobnosti teliat.

Pri hnačkových ochoreniach dochádza u teliat k sprievodnej hypoglykémii s nepriaznivými následkami vo forme zníženej vitality, anorexie, nezriedka aj priameho hynutia. Preto vzniká aktuálna potreba dotovať chorobou narušený organizmus vhodnými energetickými zdrojmi aspoň do úrovne 50 % dennej energetickej potreby.

Glukóza je považovaná za primárne redukujúci sacharid a energetický substrát vhodný pre novorodené prežúvavce. Fétus prežúvavcov má vysokú hladinu fruktózy a relatívne nízku hladinu glukózy v krvi. Zatiaľ, čo málo alebo vôbec nevyužiteľná fruktóza sa po narodení rýchlo eliminuje, stúpa markantne obsah glukózy v krvi (Piatkowski a i., 1975; Daniels a i., 1975). Ako zdroj glukózy slúži hlavne v posled-

nej fáze gravidity relatívne veľké množstvo glykogénu vytvoreného fétom a deponovaného v pečeni, svalstve, pľúcach a srdci, ktoré sa z veľkej miery rýchlo mobilizuje. Vysoká hladina glukózy v krvi dosiahnutá *post partum* sa v dôsledku trvalého poklesu dostáva vo veku dva až tri mesiace na úroveň normálnych hodnôt dospelých prežúvavcov. Toto klesanie sa nedáva do súvisu s rozvojom bachora, ale s poklesom koncentrácie glukózy v erytrocytoch (Piatkowski a i., 1975; Surynek, 1985). Význam glukózy v látkovej výmene s rozvojom predžalúdkov postupne klesá. To sa prejavuje napríklad v tom, že absorpcia glukózy z čreva je u ovce pomalšia ako u monogastrov, zatiaľ čo u preruminálneho teľaťa prebieha veľmi rýchlo.

Rozdielna veková závislosť pri metabolizácii jednotlivých sacharidov je z literatúry známa (Vaško, 1979; Roy, 1980; Medvecký, 1983). Zatiaľ čo monosacharidy vo forme glukózy a z disacharidov laktóza sú organizmom teliat po perorálnom príjme využiteľné už od prvého dňa, sacharóza a škrob až od 28. dňa života. Do tej doby možno s polysacharidmi počítať po ich tepelnej úprave, resp. expandovaní škrobu. V inom prípade dochádza k osmotickej hnačke a záťaži organizmu. Nadmerná dávka mono-, di- aj polysacharidov v prípade, že sú resorbované, má po prekročení glukózového prahu za následok glykozúriu. Cleek a i. (1979) a Levine (1986) uvádzajú, že prekročenie glykémie nad 200 mg% predstavuje prekročenie glukózového prahu a vedie ku glykozúrii.

Aby boli prijaté uhľohydráty použiteľné pre látkovú výmenu organizmu teľaťa musí dôjsť k ich absorpcii v tráviacom trakte. Dostatočná absorpcia monosacharidov v čreve je nevyhnutná pre zabezpečenie teľaťa, lebo hlavne pri infekčných ochoreniach sú zásoby glykogénu rýchlo odúrané (Hartmann a i., 1977).

Anochin a Morozova (1976) sledovali u klinicky zdravých a hnačkujúcich teliat po skrmovaní glukózy, laktózy a škrobu priebeh koncentrácie glukózy v krvi. Zistili, že u hnačkujúcich je spomalená absorpcia glukózy a poškodené fermentačné štiepenie laktózy ako aj škrobu v porovnaní so zdravými kontrolami. Podobné výsledky zaznamenali aj Hartmann a i., (1980, 1985), ktorí ale uvádzajú, že ani pri niekoľko dní trvajúcej silnej hnačke nedošlo k úplnému systovaniu absorpcie glukózy. Pri zisťovaní absorpčnej kapacity tenkého čreva pomocou D-xylozového testu stanovili v prvých hodinách zníženú absorpciu o 1/3 až 1/2. Behom osmich hodín sa absorpčná schopnosť dostala na úroveň zdravých teliat. Tieto výsledky hovoria v prospech možnosti použitia orálne aplikovaných dietnych nápojov s obsahom glukózy, ktoré môžu čiastočne stabilizovať látkovú výmenu glukózy u hnačkujúcich teliat. Dávku je však nutné stanoviť tak, aby celkové množstvo podaného sacharidu mohlo byť absorbované a v čreve nezostala nestrávená glukóza, ktorá by zvyšovala osmózu čreva a potencovala aktuálny patogenetický stav.

Cieľom práce bolo overiť vhodnosť použitia a otypovanie dávky hydrolyzátu sacharózy a maltodextrínu KMS-X 70 pre teľatá rôznych vekových kategórií posúdením intenzity ich resorpcie (glykémia), eliminácie močom (glykozúria) a ovplyvnia klinického stavu, hlavne vznik hnačky. V druhom slede nás zaujímali vzájomné vzťahy glykémie a glykozúrie po podaných sacharidoch.

MATERIÁL A METÓDA

V pokusoch sme použili býčky troch vekových kategórií — preruminálne (21 ks, $\bar{x}$ vek 17 d), v prechodnom období (4 ks, $\bar{x}$ vek 36 d) a ruminujúce (9 ks, $\bar{x}$ vek 57 d), ktorým sme skrmovali glukózu (ČSL), hydrolyzát sacharózy výrobcu Cukrovar Sládkovičovo a maltodextríny KMS-X 70 vyrobené v Škrobárňach Havlíčkův Brod v celkovom množstve uvedenom pri jednotlivých pokusoch riedené v 3 l vody, resp. mliečnej kŕmnej zmesi. Aplikácia bola výlučne perorálne cicaním cez cumel, prípadne voľným pitím po 12hodinovej hladovke. U pokusných zvierat sme sledovali odchýlky vedomia a výskyt hnačky. Krv sme odoberali z *vena jugularis* pomocou kanýl alebo jednotlivými odbermi celkovo ôsemkrát (0, 30, 60, 120, 180, 240, 300 a 360 min po aplikácii). V krvi, resp. plazme, sme stanovili obsah glukózy (Biola-chema test), kyselinu mliečnu (test firmy Boehringer), osmolalitu a hematokrit, ktorý slúžil ako kontrola pre posúdenie možnej hemokoncentrácie.

Moč sa odoberal 10krát, t. j. až do 480 min po aplikácii; stanovoval sa obsah glukózy a čistý acidobazický výlučok (CABV). Trus sa odoberal štyrikrát t. j. nultý odber a v dvojhodinových intervaloch po 6 h sledovania, pričom sa v ňom zisťoval obsah sušiny.

Štatistické vyhodnotenie sa urobilo párovým *t*-testom. Hodnoty jednotlivých parametrov boli porovnávané s referenčnými normami, ktoré uvádzajú Vrzgula a i., (1987).

VÝSLEDKY

HODROLYZÁT SACHARÓZY — PRERUMINÁLNE TELATÁ

Na obr. 1 je porovnaná glykémia a glykozúria v skupine preruminálnych teliat pri dávke 1,65 a 3,3 g . kg⁻¹ ž. h. hydrolyzáta sacharózy. Dávka 1,65 g . kg⁻¹ ž. h. spôsobila glykémiu (krv) v rámci fyziologickej normy s výkyvmi okolo dolnej hranice. Glykozúria bola nulová. Naproti tomu dávka 3,3 g . kg⁻¹ ž. h. vyvolala prudký vzostup hladiny glukózy v krvi nad hornú hranicu fyziologickej normy už 30 min po aplikácii. Vrchol hyperglykémie bol v 1. h, pričom hyperglykémia sa udržala počas celej doby sledovania t. j. 6 h po aplikácii. Vrchol glykozúrie bol oproti piku glykémie posunutý o 1 h, glykozúria do 8 h po aplikácii odznela.

1. Hydrolyzát sacharózy u preruminálnych teliat — Saccharose hydrolyzate in preruminal calves

--- 3,3 g . kg⁻¹ ž. h. — 3.3 g per kg l. w.

— 1,65 g . kg⁻¹ ž. h. — 1.65 g per kg l. w.

Pre všetky obrazy spoločné — Applies to all figures

----- fyziologické rozpätie — physiological range

K = krv — blood

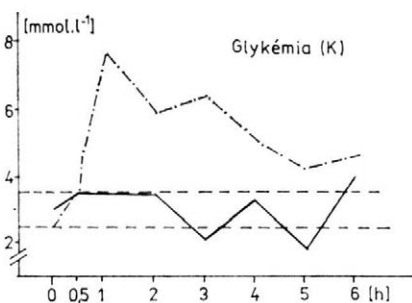
Glykémia —

Glycaemia

P = plazma — plasma

Glykozúria —

Glycosuria



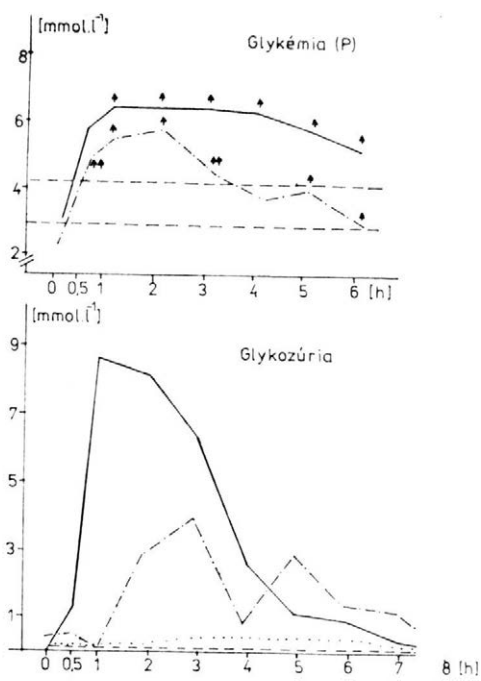
Vychádzajúc z týchto údajov v ďalšej etape sme overovali strednú dávku hydrolyzátu sacharózy, t. j. $2,5 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ ž. h. U preruminálnych teliat táto dávka aplikovaná v Laktosane a vo vode spôsobila glykémiu (plazma) rovnakej tendencie. Pri použití Laktosanu bola krivka vyrovnanjšia a dlhšia; do 6 h hyperglykémia neodoznela. Od 1.—6. h došlo oproti nultému odberu k štatisticky významnému vzostupu hladiny glukózy v plazme ($P < 0,05$). Pri použití vody odznievala hyperglykémia medzi 3.—4. h a potom sa hladina glukózy pohybovala v rámci fyziologickej normy. V 1., 2., 5. a 6. h došlo k štatisticky významnému vzostupu hladín glukózy v krvi oproti nultému odberu ($P < 0,05$), v 30. min a 3. h k štatisticky vysoko významnému vzostupu ($P < 0,01$).

Glykozúria pri Laktosane nastúpila súbežne s hyperglykémiou s vrcholom v 1. h a odznela do 8. h po aplikácii. Intenzita glykozúrie pri použití vody bola nižšia. Krivka bola dvojvrcholová s časovým posunom 1 h oproti vrcholu hyperglykémie (obr. 2).

Obličkový prah u jednotlivých zvierat bol značne variabilný. Po vylúčení jednotlivcov (Laktosan 1 ks, voda 2 ks) s extrémnym vylučovaním glukózy, sme získali ploché krivky glykozúrie pri dávke $2,5 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ ž. h. u preruminálnych teliat.

Osmolalita plazmy sa pohybovala vo vyhovujúcom rozmedzí $287\text{--}292 \text{ mOsm} \cdot \text{kg}^{-1}$ v skupine s Laktosanom a $280\text{--}287 \text{ mOsm} \cdot \text{kg}^{-1}$ v skupine s vodou.

Sušina trusu pri Laktosane bola priaznivejšia a udržiavala si vyrovnanjšiu tendenciu s poklesom východzieho 25 % na 10 % v 8. h. V skupine s vodou bol od 2. h pozorovaný pokles sušiny trusu až na 3,6 % so sprievodnou hnačkou. Hnačky odznegli spontánne do 24 h.



2. Hydrolyzáť sacharózy u preruminálnych teliat v dávke $2,5 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ ž. h.
— Saccharose hydrolyzate in preruminant calves at the dose of 2.5 g per kg l. w.

— hydrolyzáť sacharózy rozpustený v Laktosane — Lactosan-dissolved saccharose hydrolyzate

- - - - - hydrolyzáť sacharózy rozpustený vo vode — water-dissolved saccharose hydrolyzate

..... hydrolyzáť sacharózy rozpustený v Laktosane po vylúčení extrémnych jedincov — Lactosan-dissolved saccharose hydrolyzate after extreme individuals have been eliminated

- . - . - hydrolyzáť sacharózy rozpustený vo vode po vylúčení extrémnych jedincov — water-dissolved saccharose hydrolyzate after extreme individuals have been eliminated

↑ $P < 0,05$

↑↑ $P < 0,01$

ČABV mal u oboch skupín zhodnú tendenciu počiatočného poklesu k 4.—5. h sledovania s následným vzostupom k 8. h, s vyššou intenzitou v skupine s Laktosanom.

Kyselina mliečna si u oboch skupín udržala vyrovnanú hladinu.

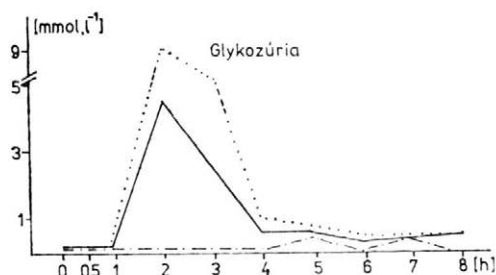
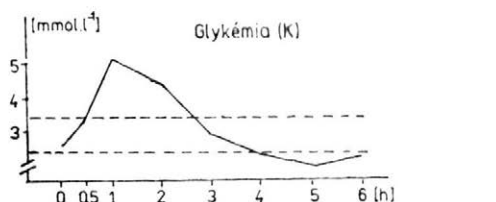
HYDROLYZÁT SACHARÓZY — TELATÁ V PRECHODNOM OBDOBÍ

U teliat prechodného obdobia dávka $1,65 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ ž. h. hydrolyzátu sacharózy viedla ku krátkodobej hyperglykémii (krv) s maximom v 1. h; v 4.—6. h bol pozorovaný pokles až do hypoglykémie. Pri glykozúrii boli opäť zistené výrazné individuálne rozdiely, keď u jedného zvieraťa bola glykozúria na úrovni prahových hodnôt a u druhého došlo v 2. h k vzostupu na $9,5 \text{ mmol}$ a do 8. h po aplikácii glykozúria ešte pretrvávala (obr. 3).

Dvojnásobná dávka hydrolyzátu sacharózy $3,3 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ ž. h. u tej istej vekovej kategórie viedla k vzostupu hladín glukózy v krvi už 30 min po aplikácii a zvýšené sa udržali až do ukončenia pokusu (do 8. h). Táto dávka vyvolala glykozúriu s vrcholom v 3. h, ktorá do 8. h odznela (obr. 4).

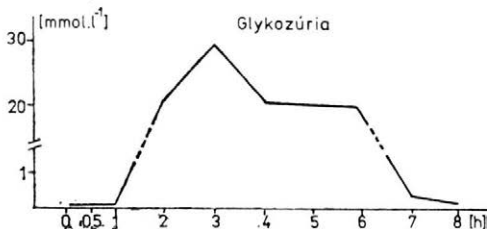
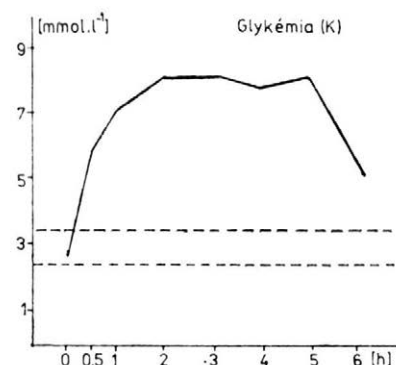
HYDROLYZÁT SACHARÓZY — RUMINUJÚCE TELATÁ

Pri použití tej istej dávky, t. j. $2,5 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ ž. h., hydrolyzátu sacharózy došlo k hyperglykémii (plazma) s vrcholom v 2. h, ktorá do ukončenia



3. Hydrolyzát sacharózy u teliat v prechodnom období v dávke $1,65 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ ž. h. — Saccharose hydrolyzate in calves in the transition period at the dose of 1.65 g per kg l. w.

— priemerná hodnota — average value
..... jednotlivé hodnoty — individual values

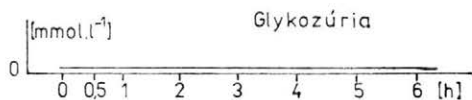
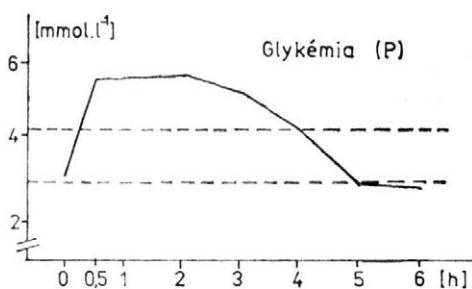
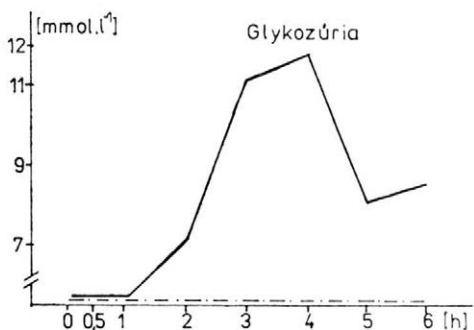
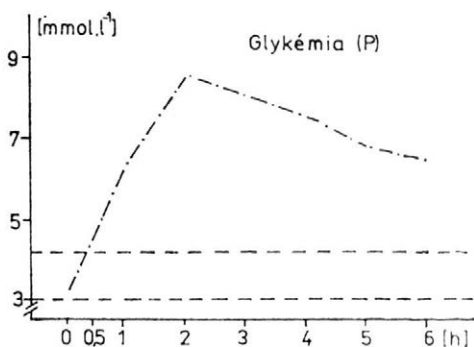


4. Hydrolyzát sacharózy u teliat v prechodnom období v dávke $3,3 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ ž. h. — Saccharose hydrolyzate in calves in the transition period at the dose of 3.3 g per kg l. w.

pokusu neklesla do fyziologického rozpätia. Čo sa týka glykozúrie, opäť sa stretávame s variabilitou jedincov, kde zo 6 pokusných teliat bola u 2 ks výrazná glykozúria s vrcholom $\bar{x} = 11,8 \text{ mmol} \cdot \text{l}^{-1}$ a u zvyšných 4 ks bola nulová (obr. 5). Sušina trusu poklesla z 22,5 % v 6. h na 10,7 %, pričom hnačkovali len 2 ks. Osmolalita plazmy si udržala vyrovnanú úroveň v rozmedzí 290–292 mOsm $\cdot \text{kg}^{-1}$. ČABV mal po vzostupe v 30. min tendenciu trvalého poklesu.

MALTODEXTRÍNY — PRERUMINÁLNE TELATÁ

Maltodextríny KMS - X 70 v dávke 3 a 6 g $\cdot \text{kg}^{-1}$ ž. h. u preruminálnych teliat nevyvolali zvýšenie hladín glukózy v krvi ani v moči. U všetkých zvierat sa po 60 min zvýšila diuréza (vo forme polyúrie a polakizúrie), ktorá trvala až do ukončenia pokusu t. j. do 8. h po aplikácii.

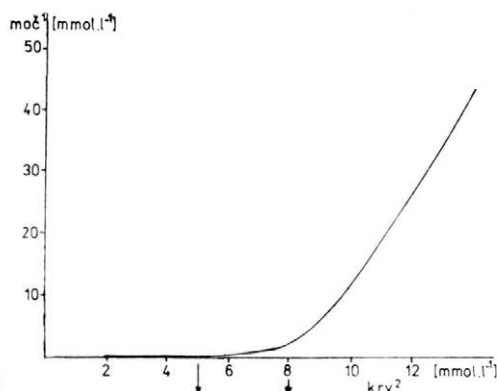
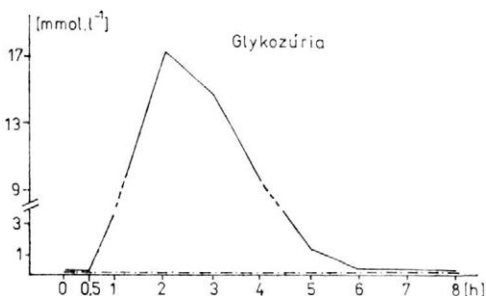
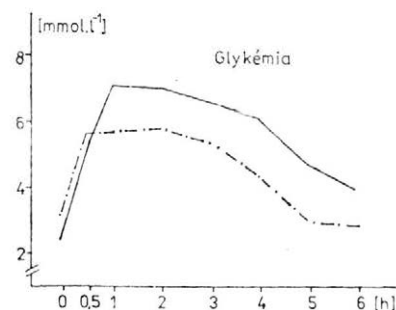


5. Hydrolyzát sacharózy u ruminujúcich teliat v dávke 2,5 g $\cdot \text{kg}^{-1}$ ž. h. — Saccharose hydrolyzate in ruminating calves at the dose of 2.5 g per kg l. w. glykozúria po vylúčení extrémnych jedincov — glycosuria after extreme individuals have been eliminated

6. Glukóza u preruminálnych teliat v dávke 1,25 g $\cdot \text{kg}^{-1}$ ž. h. — Glucose in preruminal calves at the dose of 1.25 g per kg l. w.

Dávka glukózy $1,25 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ ž. h. testovaná u preruminálnych teliat z hľadiska vhodnej absorpcie, resp. hyperglykémie dostatočnej intenzity a dĺžky bez vyvolania glykozúrie spôsobila zreteľnú hyperglykémiiu (plazma) už 30 min po aplikácii. Hyperglykemický stav trval 1/2—4 h po aplikácii. V 2. a 4. h došlo k štatisticky významnému vzostupu hladiny glukózy v krvi oproti nultému odberu ($P < 0,05$). Glykozúria bola nulová. Sušina trusu varíovala od 21,6 do 25 %. ČABV mal tendenciu vzostupu od negatívnych hodnôt k nulovým. Hodnoty sa pohybovali od 8 do $18 \text{ mmol} \cdot \text{l}^{-1}$ (obr. 6).

Úroveň glykémie je závislá od dávky sacharidu, čo vidieť na obr. 7. Takmer trojnásobná dávka glukózy ($3,3 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ ž. h.) vyvolala u ruminujúcich teliat hyperglykémiiu, čo do intenzity vyššiu, ale vrchol ako aj dĺžka trvania boli rovnaké ako pri dávke $1,25 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ ž. h. V 1/2—3. h po aplikácii došlo k štatisticky významnému vzostupu glykémie proti nultému odberu ($P < 0,05$); v 4. h k štatisticky vysoko významnému ($P < 0,01$). Kým pri dávke $1,25 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ ž. h. bola glykozúria nulová, pri dávke $3,3 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ ž. h. bola táto už výrazná, nastupujúc spravidla hneď po hyperglykémii; jej úroveň v $\text{mmol} \cdot \text{l}^{-1}$ bola viac než dvojnásobná v porovnaní s glykémiiou.



7. Glukóza u preruminálnych a ruminujúcich teliat — Glucose in preruminal and ruminating calves

— $3,3 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ ž. h. u ruminujúcich — $3,3 \text{ g}$ per kg l. w. in ruminating calves
 - - - - - $1,25 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ ž. h. u preruminálnych — $1,25 \text{ g}$ per kg l. w. in preruminal calves

8. Závislosť glykémie a glykozúrie na príklade glukózy v dávke $3,3 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ ž. h. u ruminujúcich teliat. V rozmedzí $5-8 \text{ mmol} \cdot \text{l}^{-1}$ glykémie začínala prahová glykozúria — A dependence of glycaemia and glycosuria using an example of glucose administration at the dose of $3,3 \text{ g}$ per kg l. w. in ruminating calves. Within the range of $5-8 \text{ mmol}$ per l the threshold value of glycosuria appeared

Vzťah glykémie a glykozúrie má teda svoju zákonitosť. V prvých 3 h po úroveň glykozúrie $45 \text{ mmol} \cdot \text{l}^{-1}$ bola závislosť glykémie a glykozúrie parabolická. Spravidla v rozmedzí $5\text{--}8 \text{ mmol} \cdot \text{l}^{-1}$ hyperglykémie už dochádzalo k prahovej glykozúrii (obr. 8).

DISKUSIA

U teliat mladších vekových kategórií má významnú úlohu v rámci dietetických hnačiek enzymatické diarhoe spôsobené nižšou produkciou niektorých enzýmov v porovnaní s dospelými prežúvavcami a prejavujúce sa hlavne pri vekovo neadekvátnej výžive. Keď vezmeme do úvahy chýbanie, resp. nižšiu produkciu niektorých enzýmov u mladých teliat a nevhodné mliečne nahrážky, resp. rôzne stresy v priemyselnom systéme chovu, môžeme počítať so značným zafaržením tráviaceho traktu, ktoré môže vyústiť do porúch trávenia.

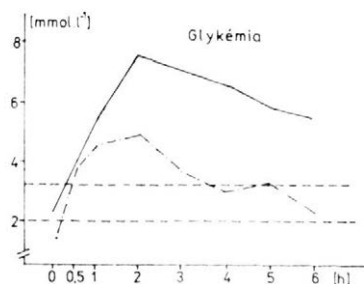
Vlastná perorálna terapia aplikovaná na začiatku hnačky u teliat je neoceniteľnou pomocou pri zvládnutí rýchlo sa vyvíjajúcej hypovolémie, hemokoncentrácie a pridruženej acidózy. Keďže glukóza je rýchlo absorbovaná z črevného lúmenu mladých teliat a mnohé hnačkujúce teľatá sú hypoglykemické, je glukóza cenným komponentom efektívnej perorálnej terapie. Poznatok, že NaCl pomáha zvýšiť absorpciu hypertonického roztoku glukózy u klinicky zdravých teliat je potrebné zohľadňovať vzhľadom na skutočnosť, že mnohé prípady hnačiek sú spojené so zvýšeným pomnožením črevných baktérií bez ohľadu na príčinu enterálneho poškodenia. Preto len rýchlo absorbovateľné a primerane dávkované sacharidy znižia možnosť bakteriálnej využitia a tvorbou nízkouhlíkových kyselín a ďalšieho pomnoženia baktérií (Cleck a i., 1979).

Vezmúc do úvahy častý výskyt diarhoického syndrómu infekčného a neinfekčného pôvodu v prvých týždňoch života teliat a fakt, že mnohé hnačkujúce teľatá sú hypoglykemické (Lewis a i., 1975; Cleck a i., 1979; Jagoš a i., 1981) riešili sme otázku úhrady energetického deficitu rôznymi sacharidovými zdrojmi.

Odkúšali sme skrmovanie maltodextrínu KMS-X 70 u teliat vo veku dva až tri týždne napriek známemu fakt, že teľatá tejto vekovej kategórie nie sú schopné tráviť škrob (Roy, 1980). Maltodextrín KMS-X 70 je natrávený škrob (70% stupeň natrávenia) do úrovne glukózy, fruktózy a malého podielu škrobu. Použitie dvojnásobných dávok (3 a $6 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ ž. h.) oproti hydrolyzátu sacharózy ($1,65$; $2,5$; $3,3 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ ž. h.) neovplyvnilo hladinu glukózy v krvi. Tieto výsledky poukazujú na neefektívnosť jeho použitia pre túto vekovú kategóriu.

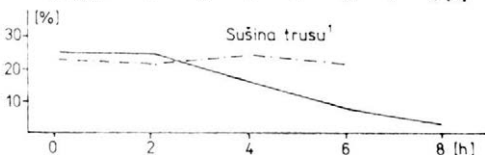
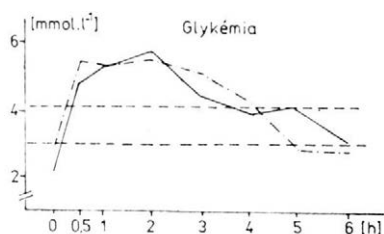
Biohydrolyzáty sacharózy je zmesou glukózy a fruktózy so zbytkovým obsahom sacharózy obohatenou o vitamíny skupiny B a pre výživu dôležité makro- a mikroelementy. Dávky $1,65$ a $3,3 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ ž. h. sa ukázali ako extrémne. Prvá kvôli nedostatočnej hyperglykémii a druhá z dôvodu silnej hyperglykémie s následnou glykozúriou.

Stredná dávka $2,5 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ ž. h. sa ukazuje byť vhodnou z hľadiska navodenia hyperglykémie v dĺžke $3\text{--}5 \text{ h}$, bez glykozúrie u väčšiny pokusných zvierat. Stretli sme sa však s výraznou individuálnou resorpciou, kedy v skupine pokusných zvierat jedno až dve teľatá reagovali s extrémne vysokou glykozúriou. Napriek vybilancovaniu dávky z hľadiska glykémie a glykozúrie zdá sa byť táto dávka ($2,5 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ ž. h.) vysoká vzhľadom na ovplyvnenie osmolality črevného obsahu. U oboch



9. Hydrolyzát sacharózy v dávke 2,5 g . kg⁻¹ ž. h. u preruminálnych teliat — Saccharose hydrolyzate at the dose of 2.5 g per kg l. w. in preruminant calves

— ruminujúce — ruminating calves
 - - - - - preruminálne — preruminant calves



10. Hydrolyzát sacharózy a glukóza u preruminálnych teliat — Saccharose hydrolyzate and glucose in preruminant calves

— 2,5 g . kg⁻¹ ž. h. hydrolyzát sacharózy — 2.5 g per kg l. w. — saccharose hydrolyzate
 - - - - - 1,25 g . kg⁻¹ ž. h. glukóza — 1.25 g per kg l. w. — glucose
 ¹dry matter of faeces

skupín teliat, preruminálnych aj ruminujúcich, vyvolal hydrolyzát sacharózy v dávke 2,5 g . kg⁻¹ ž. h. pokles sušiny trusu z 25 % až na 3,6 % s následnou hnačkou, resp. z 22,5 % až na 10,7 %. Sušina féces dosahuje u zdravých teliat v období mliečnej výživy priemerne 17 %, pri starších teľatách 20—30 % a klesá pri hnačke až na 5 % (Slanina a i., 1977).

Využitelnosť hydrolyzátu sacharózy stúpa s vekom, čo je pochopiteľné vzhľadom na vývin enzymatického aparátu teliat umožňujúceho im využívať aj ďalšie dva sacharidy z hydrolyzátu sacharózy (fruktózu a sacharózu; obr. 2 a 5).

Vzhľadom na približne 50% podiel glukózy v hydrolyzáte sacharózy možno povedať, že jeho využitelnosť pre preruminálne teľatá je na úrovni polovičnej dávky glukózy, ale s väčším varírovaním vzhľadom na glykozúriu a s výraznejším ovplyvnením sušiny trusu.

Počiatkové hodnoty glykémie pokusných zvierat boli nižšie ako referenčné hodnoty, ktoré uvádzajú Bouda a Jagoš (1984), potvrdila sa ale pozitívna dynamika vzostupu a perzistencie hyperglykémie po perorálnom prijíme hydrolyzátu sacharózy.

Pri hodnotení dosiahnutých výsledkov je potrebné si uvedomiť, že hodnotenie absorpcie v čreve po orálnej aplikácii sacharidov s následným zisťovaním ich objavenia sa v krvi nie je jednoznačne platným kritériom, nakoľko obsah glukózy môže byť ovplyvnený aj inými faktormi, ktoré nie sú bezprostredne vo vzťahu k absorpcii. Okrem toho musí byť brané do úvahy, že glykémia nie je identická s absorbovaným množstvom v čreve, ale je skôr výsledkom absorpcie, rozdelenia v organizme, metabolizácie, vylučovania, ako aj v prípade komplexných sacharidov výsledkom ich fermentačného odbúravania (Hartmann a i., 1980).

Grafickým znázornením závislosti glykémie a glykozúrie sa potvrdil podobný priebeh kriviek s hodinovým posunom glykozúrie oproti glykémii. Matematicky sa zatiaľ nepodarilo určiť všeobecnejšie platnú hladinu glykémie, pri ktorej by obvykle dochádzalo k prekročeniu obličkového prahu a následnej glykozúrii. Zaznamenali sme výrazné individuálne rozdiely v nástupe a intenzite glykozúrie so širokým rozptylom limitnej glykémie od 2,5 do 10,9 mmol.l⁻¹, rozdielnym u jednotlivých sacharidov.

Literatúra

- ANOCHIN, B. M. — MOROZOVA, L. P.: Usvoenie uglevodov u teljat boľnych dispepsiej. Veterinarija, 4, 1976, s. 90—93.
- BOUDA, J. — JAGOŠ, P.: Biochemical and hematological reference values in calves and their significance for health control. Acta Veter. (Brno), 53, 1984, s. 137—142.
- CLEEK, J. L. — PHILLIPS, R. W. — JOHNSON, B. D.: Availability of oral carbohydrates to neonatal calves. JAVMA, 174, 1979, s. 373—377.
- DANIELS, L. B. — PERKINS, J. L. — KRIEDER, D. — TUGWELL, D. — CARPENTER, D.: Blood glucose and fructose in the newborn ruminant. J. Dairy Sci., 57, 1975, s. 1196—1200.
- HARTMANN, H. — GUNTHER, H. — MANOIU, I. — MEYER, H. — POPESCU, V. — STEINBACH, G. — VIOR, E.: Allgemeines Adaptationssyndrom (Seley) beim Kalb. 7. Mitt: Zusammenhang zwischen 11 — OHKS — Gehalt im Plasma und Glukosestoffwechsel unter physiologischen Bedingungen sowie nach Stressoreinwirkung. Arch. exp. Veter.-Med., 31, 1977, s. 771—788.
- HARTMANN, H. — GUNTHER, H. — MEYER, H. — KREUTZER, B. — HENNIGER, A.: Untersuchungen zur Absorption von Kohlenhydraten bei klinisch gesunden und an Durchfall erkrankten Kälbern. Arch. exp. Veter.-Med., 34, 1980, s. 527—541.
- HARTMANN, H. — JOEL, B. — LAVE, R. — WEINER, R. — DANOWSKI, H.: Die funktionelle Erfassung der Absorptionfähigkeit des Dünndarms von durchfallkranken Kälbern mit Schlussfolgerungen für Zweckmäßigkeit der oralen Behandlung. Arch. exp. Veter.-Med., 39, 1985, s. 573—584.
- JAGOŠ, P. — BOUDA, J. — DVORÁK, V. — ONDROVÁ, J.: Srovnání biochemických ukazatelů v krevní plazmě zdravých a nemocných telat ve velkokapacitním teletníku. Veter. Med. (Praha), 26, 1981, s. 573—580.
- LEVINE, R.: Monosaccharides in health and disease. Ann. Rev. Nutr., 6, 1986, s. 211—224.
- LEWIS, L. D. — PHILLIPS, R. W. — ELLIOTT, C. D.: Changes in plasma glucose and lactate concentration and enzyme activities in the neonatal calf with diarrhea. Amer. J. Veter. Res., 36, 1975, s. 413—416.
- MEDVECKÝ, D.: Odchov teliat. Bratislava, Príroda 1983.
- PIATKOWSKI, B. a i.: Nährstoffverwertung beim Wiederkäuer. Jena, Veb Gustav Fisher Verlag, 1975.
- ROY, J. H. B.: The calf. Butterworths, London, 1980.
- ŠTANINA, L. a i.: Zdravie a chorobnosť teliat v priemyselnej produkcii. Bratislava, Príroda 1977.
- SURYNEK, J.: Biomedicínsky profil telete. [Doktorská dizertace.] Brno 1985. — Vysoká škola veterinárna.
- VAŠKO, L.: Trávacie pochody u mliečnych teliat. In: Zbor. Ref. Produkcia a zdravie teliat v priemyselných podmienkach chovu, Štrbské Pleso, 1979, s. 108—112.
- VRZGULA, L. — SOKOL, J.: Hodnoty metabolických profilových testov u domácich zvierat a ich interpretácia. Bratislava, ÚVIO ÚŠVÚ 1987. Došlo dňa 6. 4. 1990

STRUHÁRIKOVÁ, J. — SLANINA, L. — ELBERTOVÁ, A. (Institute of Experimental Veterinary Medicine, Košice; University of Veterinary Medicine, Košice; Experimental Research Centre of the Veterinary University, Zemplínska Teplica): *Glycaemia and glycosuria with respect to searching new energy sources for calves*. Veter. Med. (Praha), 36, 1991 (3): 135—145.

Monosaccharide (glucose), disaccharide (saccharose hydrolysate) and polysaccharide (maltodextrin KMS-X 70) were administered perorally to the calves of three age categories (pre-rumination, transition, rumination period) after 12-hour fasting. The following characteristics were investigated: glycaemia, glycosuria, lactic acid concentration, plasma osmolality, hematocrit value, net acid-base secretion and excrement dry matter. The degree of saccharide utilization was evaluated from glycaemia, glycosuria and clinical condition. The administration of maltodextrins to calves at the age of two to three weeks was not found convenient. The absorption of saccharose hydrolysate depended strongly on age. The saccharose hydrolysate dose of 2.5 g per kg l. w. was calculated with respect to glycaemia and glycosuria, but not to the excrement dry matter content. In comparison with glucose absorption, saccharose hydrolysate seems to be a convenient energy source for calves of different age categories.

calf; saccharides; glucose; saccharose hydrolysate; maltodextrin; glycaemia; glycosuria; diarrhoea

Adresy autorov:

MVDr. Jana Struháriková, Ústav experimentálnej veterinárnej medicíny, Dukelských hrdinov 1/A, 040 01 Košice

Prof. MVDr. Ľudovít Slanina, DrSc., Vysoká škola veterinárska, Komenského 73, 041 81 Košice

MVDr. Alica Elbertová, Experimentálne výskumné stredisko VŠV Košice, 076 64 Zemplínska Teplica

Upozornění pro přispěvatele a čtenáře časopisu

VETERINÁRNÍ MEDICÍNA

Pro lepší zpřístupnění výsledků československého výzkumu zahraničním odběratelům rozhodla redakční rada časopisu Veterinární medicína počínaje ročníkem 1991 uveřejňovat rozšířené, podrobně zpracované (s odkazy na tabulky a obrázky) souhrny v angličtině. Od ročníku 1992 budou tyto souhrny podmínkou pro přijetí příspěvků do tisku.

Proto žádáme autory našeho časopisu, aby příspěvky zasílané do redakce vybavili kratším souhrnem, který bude publikován v češtině či slovenštině a dále delším souhrnem (v rozsahu do dvou rukopisných stran), který bude přeložen do angličtiny.

Doufáme, že se toto opatření setká s příznivým ohlasem jak u autorů, tak i u čtenářů našeho časopisu.

Redakce časopisu

DYNAMIKA ZMIEN TYROXÍNU U KASTROVANÝCH NOVONARODENÝCH BÝČKOV

P. Puzder, A. Elbertová, J. Kušnir, T. Želtvay

PUZDER, M. — ELBERTOVÁ, A. — KUŠNIR, J. — ŽELTVAY, T. (Experimentálne výskumné stredisko VŠV, Zemplínska Teplica; Štátny plemenársky podnik, Bratislava): *Dynamika zmien tyroxínu u kastrováných novonarodených býčkov*. *Veter. Med. (Praha)*, 36, 1991 (3): 147—152.

V našej práci sme sa zamerali na sledovanie zmien hladín tyroxínu u teliat kastrováných bezprostredne po narodení. Zmeny koncentrácie tyroxínu v krvnom sére sme sledovali do ôsmeho dňa života teliat, hmotnostné prírastky až do obdobia odstavu vo veku 90 dní. V pokusnej skupine sme zaznamenali nižšie hodnoty tyroxínu od tretej hodiny *post natum*, ktoré pretrvávali až do ôsmeho dňa a s výnimkou tretej hodiny neboli štatisticky významné. Rovnako sme nezistili štatisticky významné rozdiely priemerných denných prírastkov u oboch skupín teliat. Záškroky u novonarodených teliat charakteru nekrvavej metódy kastrácie nevyvolávajú extrémnu stresovú reakciu s následným narušením zdravotného stavu a vitality.

teľa; kastrácia; tyroxín; stres

Dôležitou súčasťou neuroendokrinnnej sústavy je štítna žľaza, ktorej normálna funkcia je nutná nielen pre fetálny, ale aj postnatálny vývoj mláďat hospodárskych zvierat (intrauterinný vývoj, termogenéza, regulácia látkového metabolizmu). U teliat je dokazateľná funkčná aktivita štítnej žľazy už koncom prvej tretiny embryonálneho vývoja (Leirer, 1981).

Rozdielne koncentrácie hormónov štítnej žľazy medzi matkou a plodom v rôznych fázach embryonálneho vývoja svedčia o rozsiahlej autonómii fetálnej štítnej žľazy (Strbak a i., 1976).

Hormóny štítnej žľazy pôsobia na celkový metabolizmus organizmu, ich primárny účinok spočíva v ovplyvnení celulárnej syntézy proteínov. Za fyziologických podmienok aktivačný účinok tyroidálnych hormónov podmieňuje anabolické pochody — rast, anatomickú a funkčnú diferenciáciu, či maturáciu buniek, resp. tkanív a orgánov. Táto činnosť prebieha za proporcionálnej účasti ďalších humorálnych faktorov (napr. somatotropného hormónu, inzulínu) ako aj faktorov nutričných.

Literárne údaje sa dosť líšia v hodnotení reakcie tyroidálnych hormónov — tyroxínu a trijódtyronínu na akútnu záťaž (stres). Bleha (1956) vysvetľuje zníženie činnosti štítnej žľazy v dôsledku pôsobenia

stresových faktorov zvýšeným vylučovaním ACTH a zníženým vylučovaním TSH hypofýzou. Sekrécia TSH z adenohypofýzy je pod kontrolou hypotalamu, z ktorého sa sekretuje tyreotropín uvoľňujúci hormón (TSH-RH), ktorý udržiava kludovú sekréciu TSH. Podľa Arendárčika (1979) všetky stresory zvyšujú aktivitu štítnej žľazy. Schreiber (1985) uvádza, že pri samotnom operačnom výkone a následnej rekonvalescencii nezistili žiadne zmeny v hladinách celkového tyroxínu a trijódtyronínu. Zvýšenú tyroidálnu aktivitu v súvislosti s chladovým stresom u oviec zaznamenali Westra a Christopherson (1976) — cit. Lirette a i. (1988). Po aplikácii kortizolu a pôsobení radu stresorov (operačný zákrok) zistili Límanová a Šimonová (1981) zníženú dejodáciu T_4 na T_3 , miesto ktorého vzniká reverzný T_3 , ktorý je metabolicky inaktívny a dokonca snáď vytesňuje T_3 z jeho receptorov. Na základe údajov Leirera a Deschnera (1983), Leirera a i. (1986) dochádza pri infekčných ochoreniach a hnačkách teliat v závislosti od dĺžky trvania a stupňa ochorenia k poklesu hladín metabolicky aktívnych hormónov štítnej žľazy.

V súvislosti s uvedenými poznatkami sme sa zamerali na sledovanie zmien koncentrácie tyroxínu v krvnom sére novorodených teliat kastrových (stresový faktor) bezprostredne *post natum*.

MATERIÁL A METODA

Do pokusu bolo zahrnutých ôsem býčkov slovenského strakatého plemena, z čoho štyri tvorili pokusnú skupinu — kastrové a štyri boli kontrolnou skupinou. Pokus sme realizovali v období od 15. septembra do 4. decembra. Všetky zákroky a podmienky chovu boli rovnaké v oboch skupinách.

Životaschopnosť teliat po narodení bola hodnotená metodikou podľa Apgarovej (1966), kde všetky zvieratá dosiahli hodnotenie — vitalita dobrá. U všetkých zvierat sa vykonali obvyklé chovateľské a preventívne opatrenia (váženie, dezinfekcia pupka, osušenie, napojenie mliečivom do prvej hodiny po narodení, Ferridextran i. m., Combinat AD₂ p. o., napájanie mliekom trikrát denne od vlastnej matky). Hmotnostné prírasty sme sledovali v mesačných intervaloch až do odstavu, t. j. do veku 90 dní. V ustajňovacích priestoroch boli zabezpečené požadované zohygienické parametre. Počas sledovaného obdobia, t. j. do 8 dní boli všetky zvieratá klinicky zdravé. Teľatám kontrolnej, ako aj pokusnej skupiny sme ihneď po narodení (do 5 min) odobrali krv punkciou *vena jugularis*, čo sme evidovali ako nultý odber. Po odbere krvi sme u pokusných teliat vykonali nekrvavú kastráciu gumennými krúžkami technikou a metódou ako sa používa pri kastrácii barančekov. Po založení krúžkov sme zaznamenali zvýšenú bolestivosť do 5 minút. Citlivosť mieška a inguinálnej krajiny bola badateľná až do 48 hodín. Po totálnej atrofii semenníkov (2–3 týždne), došlo k odpadnutiu mieška v časovom rozpätí 5–8 týždňov bez klinických príznakov ochorenia v súvislosti s kastráciou.

Ďalšie odbery krvi sme vykonávali v 1., 3., 6., 24., 48. hodine, v 5. a 8. dni po narodení. Získané sérum sme zmrazovali. Vyhodnotenie hladín tyroxínu sme vykonávali komerčnými súpravami RIA-test T_4 (ÚRVJT Košice), Multidetektor gamamerač JNG 401.

Štatistická významnosť diferencií hladín tyroxínu medzi jednotlivými hodinami a dňami, ako aj medzi kontrolnou a pokusnou skupinou zvierat sa určila párovým *t*-testom a testom zhody dvoch stredných hodnôt.

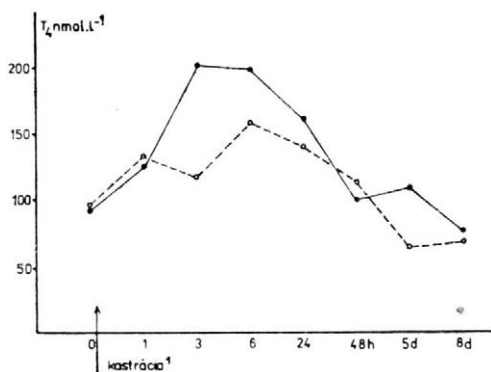
VÝSLEDKY

Dynamiku zmien tyroxínu v kontrolnej a pokusnej skupine vyjadruje obr. 1. U štyroch býčkov kontrolnej skupiny sme zaznamenali východziu hodnotu v 0. hodine $90,75 \pm 8,38$ nmol.l⁻¹ tyroxínu v krvnom sére. Hladina tyroxínu mala stúpajúcu tendenciu s vrcholom v 3. hodine *post natum*, kedy dosiahla hodnotu $201,6 \pm 49,52$ nmol.l⁻¹. Od 6. hodiny

1. Dynamika zmien tyroxínu v pokusnej a kontrolnej skupine — Dynamics of changes in thyroxine in the experimental and control groups

● — kontrolná skupina — control group
○ — pokusná skupina — experimental group

1castration



(199,0 $\pm$ 35,34 nmol.l⁻¹) nastal výrazný pokles až k 48. hodine (99,67 $\pm$ 32,15 nmol.l⁻¹) s poklesom v 8. dni (76,0 $\pm$ 29,55 nmol.l⁻¹).

V pokusnej skupine sme zaznamenali v 0. hodine hodnotu tyroxínu 96,0 $\pm$ 21,65 nmol.l⁻¹. V 1. hodine došlo k vzostupu koncentrácie na 133,75 $\pm$ 40,47 nmol.l⁻¹. V 3. hodine nastal prechodný pokles hladiny tyroxínu (117,5 $\pm$ 20,40 nmol.l⁻¹) s následným vzostupom v 6. hodine, kedy sa dosiahla aj maximálna hladina (150,0 $\pm$ 68,46 nmol.l⁻¹). Od 6. hodiny sme zaznamenali klesajúcu tendenciu s poklesom hladiny v 24. hodine (140,0 $\pm$ 31,20 nmol.l⁻¹), v 48. hodine (113,5 $\pm$ 11,62 nmol.l⁻¹) a 5. dni (63,67 $\pm$ 10,12 nmol.l⁻¹). V 8. dni života (67,5 $\pm$ 34,65 nmol.l⁻¹) sa udržala koncentrácia tyroxínu na úrovni 5. dňa.

Štatisticky významný rozdiel ($P < 0,05$) medzi kontrolnou (201,6 $\pm$ 49,52 nmol.l⁻¹) a pokusnou skupinou (117,6 $\pm$ 20,40 nmol.l⁻¹) sme zistili len v 3. hodine.

Štatistická významnosť diferencií koncentrácie tyroxínu medzi jednotlivými odbermi v kontrolnej ako aj pokusnej skupine je vyjadrená v tab. I. Za celé obdobie mliečnej výživy, t. j. do veku 90 dní sa dosiahol priemerný denný prírastok 0,82 kg v pokusnej skupine a 0,89 kg v skupine kontrolnej. Tento rozdiel však nebol štatisticky významný.

DISKUSIA

Prechod z intrauterinného do postnatálneho života je spojený s rozhodujúcou prestavbou látkového metabolizmu. V prvých hodinách života u teliat prebiehajú podstatné zmeny koncentrácie tyroidálnych hormónov. Pre novorodené zvieratá sú charakteristické s vekom permanentne klesajúce hodnoty T₄ a T₃.

Leirer a Deschner (1983) na základe svojich experimentov zistili zvýšené hodnoty tyroxínu a trijódtyronínu v období prvých štyroch hodín života u novorodených nenapojených teliat s poklesom hodnôt od prvého dňa života do veku jedného týždňa.

Leirer (1981) zaznamenal u novorodeného teľaťa najvyššiu koncentráciu už v 2. hodine *post natum* s miernym poklesom v 4. hodine.

Prvý až tretí deň života je hormonálna hladina v porovnaní s hladinami u dospelého dobytku napr. matiek podstatne vyššia, potom klesá do veku jedného týždňa asi na ich úroveň a už sa podstatne nemení počas prvých týždňov života (Leirer, 1985).

I. Štatistická významnosť medzi jednotlivými odbermi v pokusnej a kontrolnej skupine
— Statistical significance of differences between samplings in the experimental and control groups

k 0 h p	k 0 h p							
k 1 h p	+		k 1 h p					
k 3 h p	+	+		k 3 h p				
k 6 h p	+	+	-	-	k 6 h p			
k 24 h p	+	-	-	-	+	k 24 h p		
k 48 h p	-	-	+	+	+	-	k 48 h p	
k 5 d p	-	-	+	+	-	+	+	k 5 d p
k 8 d p	-	-	+	-	+	-	-	k 8 d p

+ = $p < 0,05$

k = kontrola — control

p = pokus — trial

h = hodiny — hours

d = dni — days

Naše pozorovania sa zhodujú s poznatkami Vermorela a i. (1985), ktorí pozorovali signifikantnú vekovú závislosť hladín tyroidálnych hormónov, ktoré stúpali prvých šiest hodín života s následným poklesom k prvému dňu (T_3) alebo k druhému dňu života (T_4).

Zvýšené hodnoty T_4 do 6. hodiny sme zistili rovnako v oboch skupinách býčkov, kontrolnej ako aj pokusnej, ale u kastrovaných býčkov tieto nedosahovali hodnoty kontrolnej skupiny v prvých 24. hodinách života. V 3. hodine po narodení bola hladina T_4 v pokusnej skupine o 41,72 % ($P < 0,05$) nižšia, v 6. hodine o 20,1 % a v 24. hodine o 13,18 % nižšia.

Podobné výsledky dosiahol Vermorela a i. (1989), ktorý pozoroval, že hladiny hormónov (T_4 a T_3) u teliat signifikantne nekolísali s obtiažnosťou pôrodu počas prvých dvoch dní života, avšak boli o 42 %

nižšie pri narodení ($P < 0,05$) u teliat po komplikovaných pôrodoch ako u teliat narodených bez komplikácií a hladina T_4 bola o 30 % nižšia ešte dve hodiny po narodení.

V skupine kastrovaných býčkov došlo k trojhodinovému posunu dosiahnutia maximálnej koncentrácie tyroxínu (v 6. hodine), kým v kontrolnej skupine bola dosiahnutá maximálna koncentrácia už v 3. hodine života, ktorá sa udržala do 6. hodiny. Fenomén nižšej hladiny tyroxínu, jeho pokles v 3. hodine s následným vzostupom v 6. hodine, si vysvetľujeme stresujúcim vplyvom kastrácie. Už od narodenia majú teľatá schopnosť odpovedať zvýšenými hladinami 17-hydroxykortekosteroidmi a ďalšími ukazovateľmi zvýšenej adrenokortikálnej aktivity na pôsobiace stresory (Dvořák, 1971).

Bolesť ako jeden zo stresových faktorov aktivuje symptoadrenálny systém a hypofyziárno-nadobličkovú os s výsledným zvýšením syntézy a sekrécie nadobličkových kôrových hormónov. Mobilizované nadobličkové steroidy pôsobia v úzkej súčinnosti s ostatnými neuroendokrinnými mechanizmami stimulovanými stresovou reakciou a teda zvýšenou sekréciou ACTH a kortizolu dôjde k zníženiu činnosti štítnej žľazy (Bleha, 1956).

Podľa Williamsa a i. (1975) sú tyreoadrenálne vzťahy obojstranné, hormóny štítnej žľazy ovplyvňujú sekréciu, transport aj metabolizmus glukokortikoidov predovšetkým svojím všeobecným metabolickým účinkom a naopak glukokortikoidy ovplyvňujú funkciu tyreoidi a metabolizmus tyreoidálnych hormónov.

Dôležitým aspektom je súvislosť medzi funkciou štítnej žľazy a absorpciou kolostrálnych imunoglobulínov nevyhnutných pre život novorodeného teľaťa. Sú známe dôkazy o vzostupe hodnoty na proteín viazaného jódu po podaní kolostra, ktorý sa vysvetľuje zvýšeným obsahom jódu v kolostre. Leirere a Deschner (1983) však nedokázali priame ovplyvnenie hladiny hormónov štítnej žľazy u teliat v podaní kolostra. Ako zdroj jódu má však kolostrum význam pre fyziologickú funkciu štítnej žľazy novorodeného teľaťa. Tento nález sa dopĺňa s údajmi ďalších autorov (Varma a i., 1978; Vigouroux a i., 1980).

Cabello a Levieux (1980) pozorovaním zistili negatívnu koreláciu medzi tyroxinémiou pri pôrode a absorpciou IgG_1 a IgM u teliat, kedy redukcia absorpčnej kapacity kolostrálnych imunoglobulínov v dôsledku zvýšených hladín tyreoidálnych hormónov pri pôrode zvyšuje citlivosť novonarodených teliat k rôznym infekciám.

Ako vyplýva z nášho experimentu, nezaznamenali sme zvýšenie hladín tyroxínu v súvislosti s kastráciou novorodených teliat. Nedošlo k zhoršeniu úrovne fyziologickej tyroxémie po pôrode a tým k narušeniu absorpčnej kapacity imunoglobulínov kolostra. Nezistili sme ani narušenie zdravotného stavu, vitality teliat a ovplyvnenie hmotnostných prírastkov po kastrácii vykonanej bezprostredne po pôrode.

Literatúra

- APGAROVÁ, 1966: In: SLANINA, E. — LEHOTSKÝ, J.: Technológia a hygiena hovädzieho dobytky, Bratislava, Príroda 1965.
- ARENDARČÍK, J.: Fyziológia hospodárskych zvierat. Bratislava, Príroda 1979. 224 s.
- BLEHA, O.: Štítna žľaza. Praha, Státní zdravotnické nakladatelství 1956. 200 s.
- CABELLO, G. — LEVIEUX, D.: Comparative absorption of colostral IgG_1 a IgM in newborn calf. Effects of thyroxine, cortisol and environmental factor. Ann. Rech. Vétér., 11, 1980, s. 1—7.

- DVOŘÁK, M.: Stres a vývoj adrenokortikální aktivity u selat a telat. Veter. Med. (Praha), 16, 1971, s. 153—158.
- LEIRER, R.: Zur Bedeutung der Schilddrüse beim Kalb. Mh. Veter.-Med., 36, 1981, s. 297—299.
- LEIRER, R.: Zur Physiologie und Pathophysiologie der Schilddrüsenfunktion beim Kalb. Mh. Veter.-Med., 40, 1985, s. 205—208.
- LEIRER, R. — DESCHNER, F.: Pathophysiologische Untersuchungen zur Schilddrüsenfunktion des Kalbes. 2. Mitteilung: Schilddrüsenfunktion beim klinisch gesunden Kalb. Arch. exp. Veter.-Med., 37, 1983, s. 259—272.
- LEIRER, R. — STEIBACH, G. — DESCHNER, F.: Pathophysiologische Untersuchungen zur Schilddrüsenfunktion des Kalbes. 4. Mitteilung: Schilddrüsenfunktion und Parameter der Infektionabwehr beim Kalb. Arch. exp. Veter.-Med., 40, 1986, s. 206—217.
- LÍMANOVÁ, Z. — ŠIMONOVÁ, J.: Dny nukleární medicíny. Praha, 1981.
- LIRETTE, A. — KELLY, J. M. — MILLIGAN, L. P. — CHRISTOPHERSON, R. J.: Effects of psychological stress, acute cold stress, and diet on forestomach contractions in cattle. Can. J. anim. Sci., 68, 1988, s. 399—407.
- SCHREIBER, V. a kol.: Stres. Patofyziologie, endokrinologie, klinika. Praha, Avicenum 1985, 384 s.
- STRBAK, V. — TOMSIK, F. — HLOZANEK, I.: Thyroid hormone in serum of fetal calf and pregnant cow during the last trimester of pregnancy. Experimentia, 32, 1976, s. 1215.
- VARMA, S. K. — COLLINS, M. — ROW, A. — HALLER, S. W. — VARMA, K.: Thyroxine tri-iodothyronine, and reverse tri-iodothyronine concentrations in human milk. J. Pediatr., 93, 1978, s. 803—806.
- VERMOREL, M. — VERNET, J. — DARDILLAT, C. — SAIDO-DEMIGNE, C. — DAVICCO, M. J.: Energy metabolism and thermoregulation in the newborn calf, effect of calving conditions. Can. J. anim. Sci., 69, 1989, s. 113—122.
- VIGOUROUX, E. — ROSTAQUI, N. — FENEROLE, J. M.: Estimation of hormonal and non-hormonal iodine uptake from maternal milk in suckling rats. Acta endocrin., 93, 1980, s. 332—338.
- WILLIAMS, D. E. — CHORPA, I. J. — ORGIAZZI, J. — SOLOMON, D. H.: Clin. Endocrin. Metab., 41, 1975, s. 354. In: SCHREIBER, V. a kol.: Stres. Patofyziologie, endokrinologie, klinika. Praha, Avicenum 1985, 384 s.

Došlo dňa 12. 2. 1990

PUZDER, M. — ELBERTOVÁ, A. — KUŠNÍR, J. — ŽERTVAY, T.: (Experimental Research Centre of the Veterinary University, Zemplínska Teplica; State Animal Breeding Enterprise, Bratislava): *Dynamics of the changes in thyroxin in castrated newborn bullocks*. Veter. Med. (Praha), 36, 1991 (3): 147—152.

Changes in thyroxin levels were studied in calves castrated just after birth. The changes in thyroxin concentration in the blood serum were studied until the eighth day of life of the calves and the weight gains were monitored until weaning at an age of 90 days. In the experimental group, lower thyroxin levels were first recorded in the third hour post natus and were observed to persist until the eighth day; except for three hours the decrease was not statistically significant. Neither were any significant differences observed in the average daily gains in both groups of calves. Treatments like non-surgical castration in newborn calves do not elicit extreme stress reactions that would be conducive to disorders of health and vitality.

calf; castration; thyroxin; stress

Adresy autorov:

MVDr. Martin Puzder, MVDr. Alica Elbertová, MVDr. Ján Kušník, Experimentálne výskumné stredisko VŠV Košice, 076 64 Zemplínska Teplica
MVDr. Tibor Žertvay, Štátny plemenársky podnik Bratislava, RIA — laboratórium, 076 64 Zemplínska Teplica

HISTOCHEMIE NUKLEOSIDFOSFATÁZ A FOSFOGLUKOMUTÁZY TENKÉHO STŘEVA BĚHEM KOKCIDIÓZY SELAT

M. Kudweis, Z. Lojda, I. Juliš

KUDWEIS, M. — LOJDA, Z. — JULIŠ, I. (Výzkumná a diagnostická histochemická laboratoř nemocnice, Český Krumlov: Laboratoř pro histochemii při lékařské fakultě Univerzity Karlovy, Praha): *Histochemie nukleosidfosfatáz a fosfoglukomutázy tenkého střeva během kokcidiózy selat*. Veter. Med. [Praha], 36, 1991 (3): 153—163.

Ve sliznici tenkého střeva 22 konvenčních selat první den po porodu (DPP) experimentálně infikovaných oocystami kokcidie *Isospora suis* (infekční dávka 200 000 oocyst) jsme densitometricky vyhodnotili aktivitu 5-nukleotidázy (5-ribonukleotid fosfohydroláza; EC. 3.1.3.5.) a fosfoglukomutázy (α -D-glukózo-1-fosfát fosfotransferáza; EC. 5.4.2.2.). Aktivitu enzymů jsme u infikovaných selat sledovali v průběhu 2.—10. dne po infekci (DPI). Současně jsme stejné histochemické vyšetření provedli ve sliznici střevní pěti kontrolních konvenčních selat ve věku 2—14 dnů. Zjistili jsme, že denzita 5-nukleotidázy i fosfoglukomutázy je ve sliznici tenkého střeva kontrolních selat značně vysoká, deponovaná převážně do supranukleární oblasti absorpčních buněk, mikrovilózní zóny enterocytů a hladkých svalových elementů *lamina muscularis mucosae*. U experimentálně infikovaných selat jsme prokázali během infekce výrazné snížení denzity obou enzymů. Deficitem byla přechodně postižena mikrovilózní zóna a supranukleární oblast enterocytů a trvale muskulatura slizniční vrstvy. Inaktivita měla více protrahovaný charakter v případě fosfoglukomutázy (zejména 5.—9. DPI). Denzita 5-nukleotidázy se částečně upravovala již od 7. DPI s přerušením rekonstrukce aktivity 10. DPI. Obnovu aktivity enzymů v *lamina muscularis mucosae* jsme v průběhu infekce nezaznamenali. Denzita ani jednoho ze studovaných enzymů ve třech sledovaných lokalitách nedosahovala na konci experimentu (10. DPI) srovnatelných parametrů s kontrolními hodnotami.

histochemické metody; hydrolázy; metabolismus; enteropatogen; mikrovilózní zóna; supranukleární oblast enterocytů; densitometrie

Patologii enterálních změn, které při kokcidióze sajících selat postihují především sliznici tenkého střeva se zabývalo doposud více autorů (Robinson aj., 1983; Stuart a Lindsay, 1986; Vítovec a Koudela, 1990). Onemocnění je charakterizováno atrofií střevních klků, různě pokročilou nekrózou epitelu a vodnatým průjmem, který na rozdíl od kokcidióz u jiných druhů mláďat hospodářských zvířat neobsahuje u sajících selat krev (Stuart a Lindsay, 1986).

Obdobný obraz patologických lézí popisují někteří autoři v průběhu experimentální i spontánní virové a bakteriální infekce sajících selat (Adaragh aj., 1980; Debouck a Pensaert, 1980; Reed aj., 1985).

Řadu morfologických změn na úrovni jednotlivých typů buněk slizničního povrchu tenkého střeva v období infekčního onemocnění popisují Narita aj. (1982).

Destruovaná sliznice po odeznění infekce, popř. ještě v průběhu onemocnění, prodělává obnovenou diferenciaci buněk, která je v mnoha ohledech charakterizována patologickými markery (Goodlad aj., 1987; Kudweis, 1989; Kudweis a Lojda, 1989a).

Kromě patologického poškození sliznice tenkého střeva je absorpční povrch v období infekce selat kokcidii *I. suis* poškozen také funkčně, což se projevuje inaktivitou některých enzymů (Kudweis, 1989; Kudweis aj., 1989a, b). U průjemujících telat stejné postižení slizničního povrchu tenkého střeva pozoroval Landsverk (1980, 1981).

Aktivita enzymů absorpčních buněk se však nemění pouze v průběhu infekčního onemocnění, ale také při poruchách karence, změněné diety a obecně u mláďat hospodářských zvířat zaostávajících v růstu s nejasnou etiologií (Marcaník a Škarda, 1979; Pauer aj., 1989).

Sliznice tenkého střeva zdravých sajících selat je vybavena řadou enzymů (Kudweis, 1989; Kudweis a Lojda, 1989b, c).

Mikrovilózní zóna, supranukleární oblast enterocytů a *lamina muscularis mucosae* zdravých selat obsahuje kromě dalších enzymů poměrně vysokou koncentraci 5-nukleotidázy a fosfoglukomutázy; enzymů významných pro diferenciaci buněk, biochemii nukleotidů a glukózový metabolismus (Lund a Smith, 1987; Thotakura a Bahl, 1987; Madrid aj., 1989; Saavedra a Perman, 1989). O značném rozšíření a významu 5-nukleotidázy v živočišném organismu svědčí výsledky několika autorů (Mizukami aj., 1982; Matsubara aj., 1987; Adair aj., 1988). Polycelulární lokalizace fosfoglukomutázy není zatím jednoznačně doložena.

Cílem naší studie je, za použití moderní techniky, vyhodnotit dynamiku aktivity 5-nukleotidázy a fosfoglukomutázy ve sliznici tenkého střeva experimentálně infikovaných konvenčních selat kokcidii *I. suis* a ukázat na vážné funkční poruchy, které lze na základě našich výsledků postulovat.

Současně se jedná o první práci svého druhu ve veterinární patologii, která se histochemií těchto méně obvyklých enzymů zabývá.

MATERIÁL A METODA

Přehled zpracovaného materiálu, včetně časových údajů (DPP, DPI, věk) je uveden v tab. I. Konvenční selata byla infikována dávkou 200 000 oocyst kokcidie *I. suis*. Infekce, způsob odběru vzorků tenkého střeva, jejich zpracování a techniku přípravy zmrazených řezů jsme popsali dříve (Kudweis aj., 1989b).

Zmrazené řezy jsme inkubovali pro detekci 5-nukleotidázy a fosfoglukomutázy. Pro stanovení 5-nukleotidázy jsme použili metodu podle Wachsteina a Meiselové (1957) s adenosin-5-monofosfátem o pH 7,2; fosfoglukomutázu jsme stanovili podle Meijera (1967) s glukózo-1-fosfátem a NADP (pH 7,4) v Lojdově modifikaci (Lojda aj., 1979).

Aktivitu 5-nukleotidázy a fosfoglukomutázy ve sliznici tenkého střeva selat jsme na úrovni mikrovilózní zóny a supranukleární oblasti enterocytů vyhodnotili skanující mikrodenzitometrií analyzátozem VICKERS M-86 při použití objektivu 20× a clony č. 2 (průměr 2 μm).

Denzitu reakčního produktu 5-nukleotidázy jsme měřili při vlnové délce 590 nm, denzitu reakčního produktu fosfoglukomutázy při vlnové délce 510 nm. Zvolená vlnová délka pro oba enzymy odpovídala při dané konfiguraci přístroje maximální absorpci deponovaného reakčního produktu.

V *lamina muscularis mucosae* jsme aktivitu enzymů hodnotili pouze semikvantitativně. Na 15 řezech každého úseku tenkého střeva jsme prohlédli 15 střevních klků při obou reakcích. Denzitu reakčního produktu enzymů v mikrovilózní zóně a supranukleární oblasti enterocytů jsme vyhodnotili proměřením 15–20 bodů na každém prohlíženém střevním klku. Získané údaje jsme statisticky zpracovali a stanovili průměrnou hodnotu denzity ($\bar{Dx}$) enzymů v apikální části enterocytů (mikrovilózní zóna, a supranukleární oblast absorpční buňky) u každého úseku tenkého střeva samostatně.

I. Přehled zpracovaného materiálu — A survey of the material processed

Sele ¹	DPP _{in} *	DPI _u **	Věk ²
IS 13, 22, 25	1	2	3
IS 14, 15, 26	1	3	4
IS 11, 12, 16, 17, 27	1	4	5
IS 20, 23, 28	1	5	6
IS 24, 29	1	6	7
IS 30	1	7	8
IS 31, 32	1	8	9
IS 33, 34	1	9	10
IS 35	1	10	11
K1–K5***	0	0	2–14

IS — *Isospora suis*; *infekce ve dnech po porodu — infected, in days after parturition; **utracení ve dnech po infekci — killed, in days after infection; ***kontrolní selata — control piglets

¹piglets, ²age

VÝSLEDKY

U kontrolních selat jsme prokázali ve sliznici střevní poměrně vysokou koncentraci obou enzymů v průběhu celého tenkého střeva. 5-nukleotidáza je nejvíce koncentrována v oblasti duodena ($\bar{Dx}$ 165,98), přičemž směrem kaudálním její aktivita klesá a nejnižší $\bar{Dx}$ dosahuje ve sliznici ilea [148,46].

Fosfoglukomutáza je deponována zejména ve sliznici ilea a zadního jejunu.

Studované enzymy jsou lokalizovány v mikrovilózní zóně, supranukleární oblasti enterocytů a ve svalovině slizniční vrstvy (obr. 1, 2). Topograficky jsou oba enzymy rozloženy po celém obvodu střevních klků (obr. 3).

U experimentálně infikovaných selat aktivita 5-nukleotidázy v apikální části enterocytů klesá výrazněji 3. DPI s prohlubujícím se deficitem do 5. DPI. Ve svalovině sliznice jsme enzym v tomto období neprokázali (obr. 4).

Denzita 5-nukleotidázy se 6., resp. 7., DPI začíná upravovat a rekonstrukce její syntézy trvá do 9. DPI. Také toto období obnovy aktivity při experimentální infekci selat probíhá rovnoměrně ve sliznici celého tenkého střeva. V *lamina muscularis mucosae* jsme aktivitu enzymu ani 9. DPI nezjistili.

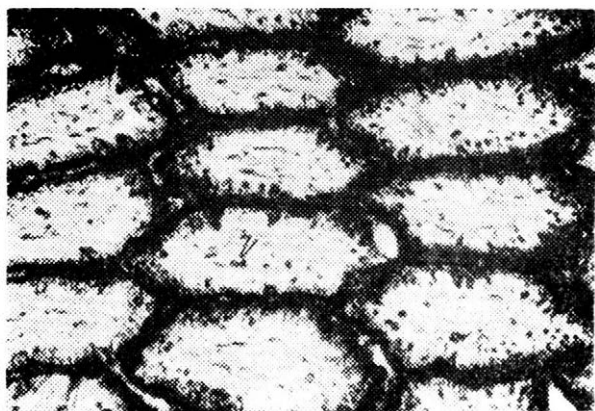
Prokázali jsme však deponování reakčního produktu 5-nukleotidázy do infra- a paranukleární oblasti absorpčních buněk (obr. 5). 10. DPI se aktivita 5-nukleotidázy opět snížila; nejnižší $D\bar{x}$ jsme naměřili ve sliznici duodena.



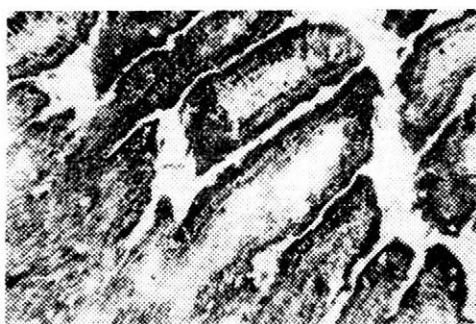
1. Reakce na 5-nukleotidázu. Reakční produkt je lokalizován v mikrovilózní zóně enterocytů a jejich supranukleární oblasti. Značná aktivita enzymu je také ve svalovině slizniční vrstvy (<). Kontrolní sele ve věku 8 dnů; zv. 160× — Reaction to 5-nucleotidase. The reaction product is located in the microvillous zone of enterocytes and their supranuclear region. There is also a considerable enzyme activity in the muscle of the mucous layer (<). A control piglet at an age of 8 days. Magnif. 160×.



2. Reakce na fosfoglukomutázu. Reakční produkt se stejnou lokalizací, jako v případě 5-nukleotidázy. < svalovina sliznice; + střevní krypty; zv. 100× — Reaction to phosphoglucumutase. The reaction product with the same location as in the case of 5-nucleotidase. < muscle tissue of the mucosa; + intestinal crypts; Magnif. 100×



3. Oba dva studované enzymy jsou lokalizovány po celém obvodu střevních klků (reakce na 5-nukleotidázu). < svalovina sliznice; zv. 160× — Both enzymes under study are located along the whole perimeter of the intestinal villi (reaction to 5-nucleotidase). < muscle of the mucosa; magnif. 160×]



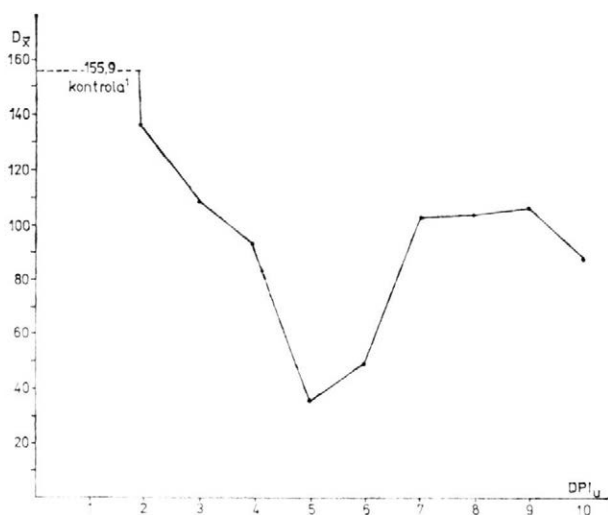
4. Značný úbytek aktivity 5-nukleotidázy 4. DPI ve všech lokalitách; zv. 120×
— Considerable decline of 5-nucleotidase activity. 4th day after infection in all locations; magnif. 120×

5. Reakce na 5-nukleotidázu. Částečná úprava aktivity v oblasti mikrovilózní zóny a evidentní přesun aktivity enzymu zejména do supranukleární zóny enterocytů (*) 7. DPI; zv. 100×
— Reaction to 5-nucleotidase. Partial restoration of activity in the microvillous zone and evident shift of activity, mainly to the supranuclear zone of the enterocytes (*) 7th day after infection; magnif. 100×

Vývoj aktivity 5-nukleotidázy ve sliznici tenkého střeva experimentálně infikovaných selat je znázorněn na obr. 6.

Zásadní rozdíl spočívá v tom, že pokles denzity reakčního produktu fosfonukleomutázy je protrahovaný a trvá v podstatě celé sledované období (od 2. do 9. DPI). Není tedy prokazatelná částečná úprava aktivity enzymu v období infekce, jak jsme ji popsali u 5-nukleotidázy. Ve svalové vrstvě sliznice jsme fosfoglukomutázu v průběhu infekce nezjistili. Zbytková aktivita fosfoglukomutázy pokrývá ve značně redukovaném aktivním poli zejména boky střevních klků s častou absencí enzymu v jejich apikální části (obr. 7).

6. Vývoj aktivity 5-nukleotidázy — Development of 5-nucleotidase activity



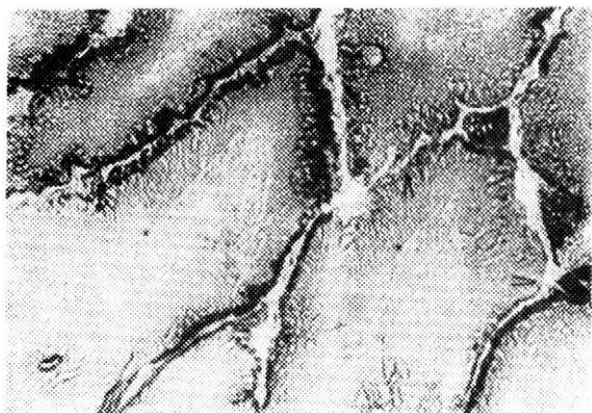
Úprava aktivity fosfoglukomutázy nastává až 10. DPI. Neobnovuje se pouze aktivita svaloviny sliznice a bez reakčního produktu zůstávají také střevní krypty (obr. 8). Průběh aktivity fosfoglukomutázy ve sliznici střevní selat v období infekce je uveden na obr. 9.

Porovnáním obr. 2 a obr. 8 zjišťujeme, že vizuálně je aktivita enzymu téměř shodná. Denzitometricky je však prokazatelný rozdíl v koncentraci deponovaného reakčního produktu na jednotku plochy, která 10. DPI dosahuje pouze 54,88 % úrovně kontrolního zjištění.

V naší práci považujeme za nutné poukázat na přednosti moderních diagnostických metod, v tomto případě mikrodenzitometrii, které jsou svojí objektivností nesrovnatelné se semikvantitativním, nejčastěji používaným způsobem hodnocení aktivity enzymů.

Lze uvést, že vývoj aktivity obou studovaných enzymů je odlišný, s protrahovanou nebo přerušovanou inaktivitou a že na konci námi sledovaného období infekce (10. DPI) se aktivita žádného z enzymů neupravuje k normě.

Statistika geneze aktivity 5-nukleotidázy a fosfoglukomutázy je uvedena v tab. II.



7. Reakce na fosfoglukomutázu. Výrazný úbytek aktivity enzymu v mikrovilózní zóně a supranukleární oblasti absorpčních buněk. Svalovina sliznice je negativní (*) 8. DPI. < inaktivní apikální část střevních klků; zv. 200× — Reaction to phosphoglucose mutase. A marked decline of enzyme activity in the microvillous zone and supranuclear area of the absorption cells. The muscle of the mucous membrane is negative (*) 8th day after infection. < inactive apical part of intestinal villi; magnif. 200×

8. Reakce na fosfoglukomutázu. 10. DPI je patrná úprava aktivity enzymu se stálou absencí ve svalovině sliznice (*) a ve střevních kryptách (X); zv. 160× — Reaction to phosphoglucose mutase. The 10th day after infection there is seen a restoration of enzyme activity with permanent absence in the mucosa muscle (*) and in the intestinal crypts (X); magnif. 160×

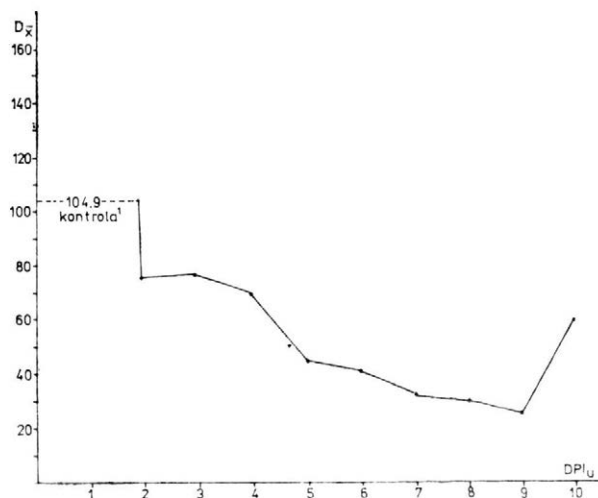


II. Vývoj aktivity 5-nukleotidázy [a] a fosfoglukomutázy [b] — statistické výsledky v $D\bar{x}$ — Development of 5-nucleotidase [a] and phosphoglutamase [b] activity — statistical surveys in $D\bar{x}$

Střevo ¹		DPI2	DPI3	DPI4	DPI5	DPI6	DPI7	DPI8	DPI9	DPI10	K1—K5*
a	D	131,7	108,1	101,1	39,6	62,1	100,2	111,6	99,0	75,3	165,9
	J ₁	146,8	107,3	98,1	37,2	51,5	104,9	103,2	104,0	89,0	158,2
	J ₂	129,6	111,9	87,5	37,6	49,4	102,2	106,7	107,2	93,0	151,1
	I	136,6	111,6	92,1	36,7	39,8	106,4	94,3	111,3	91,5	148,5
	$\bar{x}$	136,2	109,7	94,7	37,8	50,7	103,4	103,9	105,4	87,2	155,9
b	D	75,7	79,8	76,4	46,9	37,1	34,8	33,3	27,1	50,7	92,7
	J ₁	75,3	77,8	71,2	44,6	35,8	34,5	33,3	27,0	50,6	91,8
	J ₂	76,0	78,0	67,2	44,4	47,3	33,2	31,6	26,8	64,4	106,9
	I	76,6	70,4	67,5	44,0	47,9	33,5	31,7	27,2	64,6	124,1
	$\bar{x}$	76,2	76,5	70,6	45,1	42,1	34,0	32,5	27,1	57,6	104,9

D — duodenum; J₁ — střední jejunum; J₂ — zadní jejunum; I — ileum; *kontrolní selata — control piglets

¹intestine



9. Vývoj aktivity fosfoglukomutázy — Development of phosphoglucomutase activity
control

DISKUSE

Lokalizace enzymů, jejichž aktivitu jsme v průběhu experimentální infekce selat kokcií *I. suis* studovali, byla dříve dost sporná.

Ve sliznici tenkého střeva jsou oba enzymy lokalizovány v mikrovilózní zóně a supranukleární oblasti enterocytů (Lojda aj., 1979; Kudweis, 1989; Kudweis a Lojda, 1989b, c). Supranukleární lokalizace svědčí pro jejich organelovou vazbu k lysozomům, jak ji v případě 5-nukleotidázy někteří autoři popisují (Lojda aj., 1979; Mizukami aj., 1982; Matsubara aj., 1987). Koncentrace lysozomů je v této oblasti enterocytů nejvyšší (Lojda, 1974).

Topochemická souvislost nukleosidfosfatáz se svalovou tkání je známa poměrně dlouho (Lojda aj., 1979). Také aktivita fosfoglukomutázy ve svalovině sliznice střevní selat byla již popsána (Kudweis, 1989).

5-nukleotidáza se kromě své lokalizace v buněčných membránách (mikrovilózní zóna) a lysozomech (tzv. kyselá forma enzymu) vyskytuje volně v cytosolu (tzv. cytosolová forma enzymu; Mizukami aj., 1982). Cytosolové aktivitě 5-nukleotidázy jsme pozornost nevěnovali.

Fyziologická úloha v naší práci detekovaných enzymů není ještě plně rozpracována. Podle Lojdy aj. (1979) se 5-nukleotidáza zúčastňuje na degradaci nukleových kyselin a transportu nukleotidů přes buněčné membrány.

Poměrně širší spektrum funkcí 5-nukleotidázy popisují Horský a Kubeš (1977), Mizukami aj. (1982), Matsubara aj. (1987) a Adair aj. (1988). Domnívají se, že 5-nukleotidáza významně ovlivňuje buněčný růst a že transport adenosinu zprostředkovaný 5-nukleotidázou může výrazně ovlivnit adenylcyklázový membránový systém a tak omezit při inaktivaci enzymu regulaci základních buněčných funkcí v negativním slova smyslu. Pokles aktivity 5-nukleotidázy považují uvedení autoři za iniciální k urychlené buněčné proliferaci, resp. patologické diferenciaci buněk.

Fosfoglukomutáza je enzym, který se podílí na glukózovém metabolismu tím, že se účastní přeměny glukózo-1-fosfátu v glukózo-6-fosfát (Thotakura a Bahl, 1987). Na tuto metabolickou cestu navazuje odštěpení fosfátového zbytku prostřednictvím dalšího enzymu, glukózo-6-fosfatázy (EC. 3.1.3.9.). Význam fosfoglukomutázy pro absorpci disacharidů lze interpretovat z výsledků Saavedra a Permana (1989), kteří věnovali pozornost biochemii malabsorpce a intolerance laktózy u lidí.

V experimentech má infekce selat kokcií *I. suis* bifázický průběh, charakterizovaný alterací sliznice střevní (3.—4. a 8.—9. DPI), na níž plynule navazují reparativní a regenerační procesy (5.—7. a 10.—12. DPI; Vítovec a Koudela, 1990).

Z našich výsledků je patrné, že aktivita 5-nukleotidázy je výrazně snížena 3.—5. a méně 10. DPI, tedy v období střevní alterace, případně počátkem reparativních změn. V průběhu první reparační fáze se její aktivita zvyšuje a zůstává na stejné úrovni do 10. DPI.

Je-li správný postulát o vlivu 5-nukleotidázy na buněčné funkce a proliferaci tkání, pak lze dát do souvislosti snížení aktivity enzymu a probíhající alteraci sliznice střevní. Absorpční buňka je v této fázi experimentální infekce dysfunkční, vážně transport přes mikrovilózní zónu enterocytů a současně je možné předpokládat nástup urychlené proliferace sliznice střevní, která dosahuje podle našeho názoru maxima 7. DPI, tj. v období ukončení prvního reparativního stadia onemocnění (Vítovec a Koudela, 1990). Tento závěr je zcela v toleranci s výsledky, ve kterých trvání první reparativní fáze časově omezuje pouze na jeden den (7. DPI; Kudweis, 1989). Tato představa koreluje také s domněnkou o urychlené buněčné diferenciaci, charakterizované řadou patologických rysů, probíhající v období střevních reparací, o níž jsme referovali dříve (Kudweis, 1989; Kudweis a Lojda, 1989a; Kudweis aj., 1989b).

Pokud je fosfoglukomutáza enzymem (mimo disacharidáz), zasahujícím do regulace sacharidového metabolismu, domníváme se, že její deficit v průběhu infekce se výrazně podílí na mechanismu průjemového charakteru onemocnění jak jej popisuje Kudweis (1989).

Předkládaná práce se zabývá histochemií jen zřídka studovaných enzymů. 5-nukleotidáza a fosfoglukomutáza jsou zřejmě enzymy, podílející se značnou měrou svým biochemickým vlivem na morfologickém obrazu alterací a reparací a také na celkovém charakteru infekce.

Tyto, ve veterinární patologii nové diagnostické aspekty rozšiřují možnosti interpretace výsledků histochemického vyšetření gastrointestinálního traktu při protozoárním onemocnění mláďat hospodářských zvířat.

Poděkování

Autoři děkují slečně Markétě Jakubcové, pracovníci Parazitologického ústavu ČSAV, za velmi pečlivé technické zpracování materiálu a Josefu Poncarovi, pracovníkovi Agronomické fakulty Vysoké školy zemědělské v Českých Budějovicích, za kvalitní vypracování fotodokumentace.

Literatura

ADAIR, C. G. — ELDER, G. E. — LAPPIN, T. R. J. — BRIGDES, J. M. — NELSON, M. G.: Red cell pyrimidine 5-nucleotidase deficiency: determination of nucleotidase activity and nucleotide content using HPLC. Clin. chim. Acta, 171, 1988, s. 75—84.

- ADARAGH, J. P. — BERGELAND, M. E. — MEYER, R. C. — JOHNSHOY, M. W. — STOTZ, I. J. — BENFIELD, D. A. — HAMMER, R.: Pathogenesis of rotaviral enteritis in gnotobiotic pigs: A microscopy study. *Amer. J. veter. Res.*, 41, 1980, s. 1572—1581.
- DEBOUCK, P. — PENSART, M.: Experimental infection of pigs with a new porcine enteric coronavirus, CV 777. *Amer. J. veter. Res.*, 41, 1980, s. 219—223.
- GOODLAD, R. A. — LENTON, W. — WRIGHT, N. A.: The effects of age on the intestinal epithelium. *Proc. 47th Falk Symp. held during Gastroenterology Week, Fed. Rep. Ger.*, 1987, s. 61—68.
- HORSKÝ, J. — KUBEŠ, L.: Lokalizace 5-nukleotidázy v glomerulu myši ledviny. *Sbor. Českoslov. Spol. histo- a cytochem.*, Praha, 1977, s. 22—27.
- KUDWEIS, M.: Histochemie enzymů sliznice tenkého střeva při experimentální infekci selat kokcií *Isoospora suis*. [Kandidátská disertace.] České Budějovice 1989. 225 s. — ČSAV.
- KUDWEIS, M. — LOJDA, Z.: Diferenční proces pohárkových buněk sliznice tenkého střeva selat a syntéza hlenu při experimentální enteritidě. In: JANOUŠEK, V. — ŠPÁLA, M. (eds): *Současné směry v patologické fyziologii*. FVLUK Praha, 1989a, s. 231 až 233.
- KUDWEIS, M. — LOJDA, Z.: Histochemistry of the small intestine of suckling piglets. *Physiol. bohemoslov.*, 38, 1989b, 546 s.
- KUDWEIS, M. — LOJDA, Z.: The small intestine's histochemistry of suckling piglets in the early postnatal development. *Folia Facultatis Medicae*, 66, 1989c, 60 s.
- KUDWEIS, M. — LOJDA, Z. — VÍTOVEC, J. — KOUDELA, B.: Úroveň aktivity alkalické fosfatázy během infekce kokcií *Isoospora suis* u selat. *Veter. Med. [Praha]*, 34, 1989a, s. 157—162.
- KUDWEIS, M. — LOJDA, Z. — VÍTOVEC, J. — KOUDELA, B.: Aktivita vybraných dehydrogenáz a monoaminoxidáz v tenkém střevě gnotobiotických selat infikovaných kokcií *Isoospora suis*. *Veter. Med. [Praha]*, 34, 1989b, s. 287—296.
- LANDSVERK, T.: Histochemical distribution of enzymes in the small intestine of young milk-fed calves. *Acta veter. scand.*, 21, 1980, s. 402—414.
- LANDSVERK, T.: An enzyme histochemical investigation of the intestinal mucosa in diarrheic calves. *Acta veter. scand.*, 22, 1981, s. 1—10.
- LOJDA, Z.: Cytochemistry of enterocytes and of other cells in the mucous membrane of the small intestine. In: SMYTH, D. H. (ed): *Intestinal Absorption*. London-New York, Plenum Press 1974, s. 43—122.
- LOJDA, Z. — GOSSAU, R. — SCHIEBLER, T. H.: *Enzyme histochemistry. A laboratory manual*. Berlin — Heidelberg — New York, Springer Verlag 1979, s. 127—216.
- LUND, E. K. — SMITH, M. W.: Rat jejunal disaccharidase activity increases biophasically during early post-natal development. *J. Physiol.*, 391, 1987, s. 487—497.
- MADRID, J. F. — BALLESTA, J. — CASTELLS, M. T. — MARIN, J. A. — PASTOR, L. M.: Characterization of glycoconjugates in the intestinal mucosa of vertebrates by means of lectin histochemistry. *Acta histochem. cytochem.*, 22, 1989, s. 1—14.
- MARCANÍK, J. — ŠKARDA, R.: Histoenzymologický obraz sliznice jejunu japonských krepelců po krmení kožiařským odpadem. *Folia veter.*, 23, 1979, s. 147—159.
- MATSUBARA, S. — TAMADA, T. — KURAHASHI, K. — SAITO, T.: Ultracytochemical localizations of adenosine nucleotidase activities in the human term placenta, with special reference to 5-nucleotidase activity. *Acta histochem. cytochem.*, 20, 1987, s. 409—419.
- MEIJER, A. E. F. H.: Histochemical method for the demonstration of the activity of phosphoglucomutase. *Histochemie*, 8, 1967, s. 248—251.
- MIZUKAMI, Y. — MATSUBARA, F. — MATSUKAWA, S.: Localization of adenylate cyclase and 5-nucleotidase activities in human thyroid follicular cells. *Histochemistry*, 74, 1982, s. 9—19.
- NARITA, M. — FUKUSHO, A. — SHIMIZU, Y.: Electron microscopy of the intestine of gnotobiotic piglets infected with porcine rotavirus. *J. Comp. Path.*, 92, 1982, s. 589 až 597.
- PAUER, T. — LENHARDT, L. — ŠKARDA, R. — ŠVICKÝ, E. — MAGIC, D. — BARAN, V.: Histochemical changes in the small intestine mucosa of pigs with retarded growth. *Folia veter.*, 33, 1989, s. 65—77.
- REED, M. W. — OLANDER, H. J. — THACKER, L.: Studies on the pathogenesis of *Salmonella heidelbergi* infection in weanling pigs. *Amer. J. veter. Res.*, 46, 1985, s. 2300—2310.
- ROBINSON, Y. — MORIN, M. — GIRARD, C. — HIGGINS, R.: Experimental transmission of intestinal coccidiosis to piglets: Clinical, parasitological and pathological findings. *Can. J. Comp. Med.*, 47, 1983, s. 401—407.

- SAAVEDRA, J. M. — PERMAN, J. A.: Current concepts in lactose malabsorption and intolerance. *Annu. rev. Nutr.*, 9, 1989, s. 475—502.
- STUART, B. P. — LINDSAY, D. S.: Coccidiosis in swine. *Veter. Prac. Clinics of North America: Food Anim. Parct.*, 2, 1986, s. 455—468.
- THOTAKURA, N. R. — BAHL, O. P.: Enzymatic deglycosylation of glycoproteins. *Meth. Enzymol.*, 138, 1987, s. 350—359.
- VÍTOVEC, J. — KOUDELA, B.: Double alternation of the small intestine in conventional and gnotobiotic piglets experimentally infected with the coccidium *Isospora suis* (*Apicomplexa, Eimeriidae*). *Folia parazit. (Praha)*, 37, 1990, s. 21—33.
- WACHSTEIN, M. — MEISEL, E.: Histochemistry of hepatic phosphatases at a physiologic pH with special reference to the demonstration of bile canaliculi. *Amer. J. clin. Pathol.*, 27, 1957, s. 13—23.

Došlo dne 21. 3. 1990

KUDWEIS, M. — LOJDA, Z. — JULIŠ, I. (Research and Diagnostic Histological Laboratory, Hospital, Český Krumlov; Histochemistry Laboratory of the Faculty of Medicine of the Charles University, Praha): *The histochemistry of the nucleosidphosphatases and phosphoglutamase of the small intestine of piglets suffering from coccidiosis*. *Veter. Med. (Praha)*, 36, 1991 (3): 153—163.

The first day after birth, 22 conventional piglets were experimentally infected with the oocysts of the coccidia of *I. suis* (infection dose 200 000 oocysts). The activity of 5-nucleotidase [5-ribonucleotid phosphohydrolase, EC.3.1.3.5.] and phosphoglucomutase [α -D-glucoso-1-phosphat phosphotransferase, EC.5.4.2.2] was densitometrically assessed in the mucosa of the small intestines of these piglets. Enzyme activities were studied in the infected piglets during the 2nd to 10th day after infection. The same histochemical examination was simultaneously performed in the intestinal mucosa of five control conventional piglets at an age of 2—14 days. 5-nucleotidase and phosphoglucomutase were found to have a high density in the mucosa of the small intestine of the control piglets: the high-density locations of these enzymes include, first of all, the supranuclear area of the absorption cells, the microvillous zone of enterocytes and the smooth muscle elements of *lamina muscularis mucosae*. The experimentally infected piglets showed a marked decline of the density of both enzymes during the infection. The deficit affected, for a transient period, the microvillous zone and the supranuclear region of enterocytes; the musculature of the mucous layer was affected permanently. The inactivity was more protracted in the case phosphoglutamase (especially 5 to 9 days after infection). The density of 5-nucleotidase showed a partial return to the normal already the 7th day after infection, with an interruption of resumption of activity on the 10th day. Resumption of enzyme activity in the *lamina muscularis mucosae* was not recorded during the infection. In the three locations under study, the density of none of the enzymes did reach parameters comparable with the controls at the end of the trial (10 days after infection).

histochemical methods; hydrolases; metabolism; enteropathogen; microvillous zone; supranuclear region of enterocytes; densitometry

Adresy autorů:

MVDr. Miloš Kudweis, CSc., Výzkumná a diagnostická histochemická laboratoř, nemocnice, 38127 Český Krumlov
 Prof. MUDr. Zdeněk Lojda, DrSc., člen koresp. ČSAV, MUDr. Ivan Juliš, CSc., Laboratoř pro histochemii, lékařská fakulta University Karlovy, Studničkova 2, 128 00 Praha 2

**OCHRANA A TVORBA ŽIVOTNÍHO PROSTŘEDÍ V ZEMĚDĚLSTVÍ
A LESNICTVÍ
AKTUALITY ZE SVĚTA**

Publikace obsahuje nejnovější poznatky z oblasti ochrany a tvorby životního prostředí, zejména ochrany ovzduší, vodních zdrojů, půdního fondu, ochrany rostlin a živočichů, tvorby krajiny a hygieny prostředí.

Vychází 6krát ročně, jedno číslo v rozsahu 44 stran obsahuje příspěvky zpracované převážně ze zahraniční literatury, materiály a informace ze seminářů, konferencí a dalších vědeckotechnických akcí k této problematice.

Cena jednotlivého čísla 15 Kčs, roční předplatné 90 Kčs.

Objednávky: Ústav vědeckotechnických informací pro zemědělství, Slezská 7, 120 56 Praha 2

FERMENTÁCIA KŔMNEJ DÁVKY BACHOROVÝM OBSAHOM DANIELA A BARANA V UMELOM BACHORE (RUSITEC)

D. Jalč, N. Oblakov, M. Baran, T. Vendrák, P. Siroka

JALČ, D. — OBLAKOV, N. — BARAN, M. — VENDRÁK, T. — SIROKA, P. (Ústav fyziológie hospodárskych zvierat SAV, Košice; Vysoká škola zooveterinárska, Stará Zagora, Bulharsko): *Fermentácia kŕmnej dávky bachorovým obsahom daniela a barana v umelom bachore (RUSITEC)*. Veter. Med. (Praha), 36, 1991 (3): 165—173.

Pokus bol uskutočnený v umelom bachore RUSITEC (Rumen Simulation Technique). Do štyroch fermentačných nádob (V_1 , V_2 , V_3 , V_4) sme dodali inokulum — tuhý bachorový obsah s bachorovou tekutinou z daniela (V_1 , V_2) a z barana (V_3 , V_4). Fermentovali sme základnú kŕmnu dávku pozostávajúcu zo sena a mletého jačmeňa (80:20 %). Dodaním 200 mg močoviny rozpustenej v 1 l McDougallovoho pufru sme zabezpečili 13% obsah hrubého proteínu (CP) v kŕmnej dávke v každej fermentačnej nádobe. Experiment trval 12 dní, pričom prvých šiest dní trvala tzv. steady state perióda, počas ktorej sa stabilizovali podmienky fermentácie v umelom bachore RUSITEC. Fermentácia kŕmnej dávky prebiehala účinnejšie vo V_3 a V_4 s inokulom barana. Prejavilo sa to významne vyššou stráviteľnosťou sušiny kŕmnej dávky, vyššou produkciou kyseliny octovej, n-maslovej a izovalérovej, vyšším pomerom acetátu a propionátu, avšak nevýznamne vyššou produkciou CO_2 a metánu, využitím glukózy, produkciou adenosintrifosfátu (ATP), fermentáciou organickej hmoty a účinnosťou syntézy mikrobiálnej hmoty (Y_{ATP}). Významne sa znížila energetická výťažnosť (E) unikavých mastných kyselín (UMK), podiel energie UMK na fermentovanú hexózovú energiu (E_1) a podiel energie v bakteriálnych bunkách na fermentovanú hexózovú energiu (E_3) a zvýšil sa podiel energie metánu na fermentovanú hexózovú energiu (E_2) pri fermentácii kŕmnej dávky vo V_3 a V_4 . Účinnejší vplyv inokula získaného z barana vo fermentácii sa prejavil aj v procese proteosyntézy. Prejavilo sa to vyššou produkciou mikrobiálneho proteínu (P_M), vyšším proteínovým konverzným pomerom (R), hlavne však vyššou účinnosťou mikrobiálnej proteosyntézy (E).

umelý bachor (RUSITEC); unikavé mastné kyseliny; metán; konečné produkty fermentácie; proteosyntéza; fermentácia kŕmnej dávky

Umelý bachor — RUSITEC je fermentačné zariadenie používané k štúdiu bachorovej fermentácie za prísne kontrolovateľných podmienok fermentácie (Czerkowski a Breckenridge, 1977). Oproti iným *in vitro* systémom (Tilly a Terry, 1963; Van Nevel a Demeyer, 1977), resp. nylon bag metóde, má výhodu v tom, že stabilná fermentácia môže byť v umelom bachore udržiavaná po dobu niekoľkých týždňov. Okrem stanovenia stráviteľnosti sušiny kŕmnej dávky je tu

možné zistiť produkciu unikavých mastných kyselín (UMK) z produkovaného effluentu, produkciu CO₂ a metánu z produkovaného plynu ako aj rôzne ukazovatele proteosyntézy z mikrobiálnej biomasy vytvorenej počas fermentácie.

Cieľom tejto práce bolo stanoviť a porovnať základné a konečné produkty fermentácie ako aj ukazovatele proteosyntézy pri fermentácii základnej kŕmnej dávky pozostávajúcej zo sena a jačmeňa (80:20 %) pri použití inokula (tuhého bachorového obsahu a bachorovej tekutiny) získaného z barana a daniela v umelom bachore RUSITEC.

MATERIÁL A METÓDY

Fermentácia kŕmnej dávky bola uskutočnená v umelom bachore (RUSITEC), ako ho opisuje Czerkawski a Breckenridge (1977). Objem fermentačných nádob bol 850 ml a prietok umelých slín (McDougall, 1948) 830–930 ml za deň. Ako inokulum sme použili bachorový obsah dospelých baranov plemena merino, kŕmených dobrým lúčnym senom (1200 g na deň). Tekutý bachorový obsah bol odobratý cez bachorovú fistulu a pevný bachorový obsah kliešťami. Inokulum od daniela bolo získané ihneď po jeho zabíí zastrelením v lese. Daniel pred zabíím bol na prirodzenej pastve (tráva, listie, ihličie) v ohraničenom lesnom priestore (obore) a bol prikrmovaný senom a jadrovým krmivom (zmes pšenice, jačmeňa a kukurice).

Experiment sme uskutočnili v štyroch fermentačných nádobách (V) umelého bachora RUSITEC. 80 g pevnej tráveniny bachora z daniela a barana bolo navážené do nylonových vrecúšok o veľkosti 200 µm a dané do fermentačných nádob V₁, V₂, resp. V₃, V₄, ktoré boli naplnené zmesou bachorovej tekutiny daniela (V₁, V₂), resp. barana (V₃, V₄) a McDougallovo pufru (1:1). V denných intervaloch zahrňujú prvý deň experimentu všetky nádoby boli tiež doplnené kŕmnom dávkou pozostávajúcou zo sena 11,59 g DM a jačmeňa 2,78 g DM (80:20 %). Kŕmna dávka bola uzavretá v nylonovom vrecúšku, pričom každé vrecúško zotrvalo vo fermentačnej nádobe dva dni. Do 1 l McDougallovo pufru infundovaného cez peristaltickú pumpu do fermentačného systému umelého bachora sme dodali 200 mg močoviny, čím sme dosiahli, že každá diéta po doplnení močovinou obsahovala 13 % hrubého proteínu. Experiment trval 12 dní. Počas prvých 6 dní (steady state perióda) sa stabilizovali podmienky fermentácie. Na 7.–12. deň sme odoberali vzorky effluentu, plynov a nestrávených zvyškov krmiva na analýzy ako to uvádza Czerkawski a Breckenridge (1977). Koncentráciu unikavých mastných kyselín (UMK) v effluente sme stanovili metódou plynovej chromatografie (Cottin a Baucque, 1968) za použitia kyseliny krotónovej ako interného štandardu na plynovom chromatografe Perkin-Elmer 8500. Objem produkovaných plynov bol meraný prietokovým plynomerom a plyny (metán a CO₂) boli analyzované plynovou chromatografiou (Czerkawski a Clapperton, 1968) na plynovom chromatografe Chrom 4. Amoniakálny dusík v effluente sme stanovili mikrodifúznou metódou (Conway a O'Malley, 1948). Nestrávené zvyšky krmiva po premytí McDougallovým pufrom boli sušené do konštantnej hmotnosti pri teplote 105 °C k stanoveniu stráviteľnosti sušiny (DM). V zbytkovom krmive a effluente sme stanovili bakteriálnu a protozoálnu masu (Aliiev a Džavalov, 1986), kyselinu diaminopimelovú — DAPA (Czerkawski, 1974) a α-NH₂ skupiny (Spies, 1952) za účelom stanovenia ukazovateľov proteosyntézy (Czerkawski a Breckenridge, 1985). Konečné produkty fermentácie sme vypočítali zo stoichiometrických vzťahov ako ich udáva Czerkawski (1986).

VÝSLEDKY A DISKUSIA

Pred začatím experimentu v umelom bachore RUSITEC sme bachorovú tekutinu získanú z daniela a barana vyšetrili na počet protozoí a ich diferenciálne zastúpenie. Zistili sme u daniela dvojnásobne vyšší počet protozoí (1 226 000 v 1 ml bachorovej tekutiny) než u barana (510 000 v 1 ml) so zastúpením dvoch rodov — *Entodinium* 94,5 % a *Diplodinium* 5,5 % u daniela a piatich rodov — *Entodinium* 79,5 %, *Diplodinium* 7,5 % *Ophryoscolex* 1,5 %, *Isotricha* 4,5 % a *Dasytricha* 7 % u barana. V prie-

behu experimentu počet protozoí v effluente bol stabilný a predstavoval hodnotu 23 000 protozoí v 1 ml effluentu u daniela a 11 000 u barana.

Fermentácia kŕmnej dávky počas celého experimentu prebiehala pri pH 6,90—6,95 fermentačného média. Významne vyššiu stráviteľnosť kŕmnej dávky sme zistili vo fermentačných nádobách V_3 , V_4 pri použití inokula z barana (tab. I). Kay a Goodall (1976) v experimentoch *in vitro* zistili vyššiu stráviteľnosť sena a tráv u oviec oproti jeleňom, čo pripisujú rýchlejšej pasáži krmiva cez tráviaci trakt divožijúcich prežúvavcov. Účinnejšia fermentácia kŕmnej dávky v V_3 a V_4 sa prejavila aj v tendencii vyššej produkcii kyseliny octovej, n-maslovej a izovalérovej a vyšším pomerom acetát:propionát. Koncentrácia amoniakálneho dusíka v effluente bola pomerne rovnaká, keďže rovnaké množstvo močoviny bolo dodané do McDougallovo pufru infundovaného do všetkých fermentačných nádob umelého bachora RUSITEC (tab. I). Produkcia celkových plynov bola pri fermentácii vo všetkých nádobách rovnaká s tendenciou vyššej produkcie CO_2 a metánu vo V_3 a V_4 (tab. II).

Zo známych stoichiometrických vzťahov v bachore je možné kalkuláciou stanoviť výstupy konečných produktov fermentácie v RUSITECU (Czerkawski, 1986) a energetickú výťažnosť UMK (Orskov a i., 1968). Ako je vidieť z tab. III pri fermentácii kŕmnej dávky vo V_3 a V_4 bola výrazne nižšia energetická výťažnosť UMK (E), podiel energie UMK na fermentovanú hexózovú energiu (E_1) a podiel energie v bakteriálnej biomase na fermentovanú hexózovú energiu (E_3), avšak výrazne vyšší podiel energie metánu na fermentovanú hexózovú energiu (E_2) oproti fermentácii kŕmnej dávky vo V_1 a V_2 . Ostatné ukazovatele — využitie glukózy a produkcia adenosintrifosfátu (ATP) neboli ovplyvnené pri fermentácii. ATP je jednotkou miery energie vytvorenej počas fermentácie. Na základe produkcie ATP a produkcie mikrobiálnej biomasy vyjadrených na kg strávenej sušiny kŕmnej dávky je možné stanoviť účinnosť syntézy mikrobiálnej hmoty — Y_{ATP} . V tomto experimente Y_{ATP} vykazuje tendenciu vyšších hodnôt pri fermentácii diéty vo V_3 a V_4 (tab. III). Czerkawski (1986) uvádza hodnotu Y_{ATP} — 10,5 pre koncentrátové a miešané diéty a 7,0 pre objemové diéty. Množstvo fermentovanej organickej hmoty vypočítanej podľa vzorca (Van Navel a Demeyer, 1977) ako aj produkcia a utilizácia vodíka (H_2) vykazovali tiež tendenciu vyšších hodnôt pri fermentácii vo V_3 a V_4 .

Na základe stanovenia $\alpha-NH_2$ skupín v krmive, nestrávených zbytkoch krmiva a v effluente a kyseliny diaminopimelovej (DAPA) v zbytkovom krmive a effluente ako aj bakteriálnej biomasy v effluente a zbytkovom krmive diferenciálnou centrifugáciou sme kalkuláciou zistili proteosyntézu (Czerkawski, 1986). Zo získaných výsledkov týchto stanovení sme vypočítali nasledujúce ukazovatele proteosyntézy — celkový proteín krmiva (P_0), mikrobiálny proteín effluentu a nestrávených zbytkov krmiva (P_M), nezmenený proteín (P_F), proteínový konverzný pomer (R), pomer utilizácie nebielkovinového dusíka NPN (Q), NPN krmiva (No), pravý proteínový obsah (T), degradabilitu proteínu (D) a účinnosť mikrobiálnej proteosyntézy (E).

I. Stráviteľnosť sušiny a produkcie unikavých mastných kyselín (UMK) počas fermentácie — Dry matter digestibility and production of volatile fatty acids (VFA)

Ukazateľ ¹	V ₁	V ₂	V ₃	V ₄	Štatistika ²
Stráviteľnosť sušiny (DM) diéty ³ [%]	46,99 ±0,69	46,41 ±1,06	51,28 ±0,88	51,29 ±1,29	1-3 — 1-4 $P < 0,01$ 2-3 2-4
NH ₃ -N v effluente ⁴ [mmol . deň ⁻¹]	9,96 ±0,40	9,54 ±0,29	9,46 ±0,52	9,10 ±0,52	nevýznamné ¹²
Produkcia celkových UMK ⁵ [mmol . deň ⁻¹]	41,69 ±1,56	41,84 ±2,18	43,02 ±1,19	47,11 ±2,36	nevýznamné ¹²
Produkcia kyseliny octovej ⁶ [mmol . deň ⁻¹]	24,33 ±0,99	24,64 ±1,30	26,60 ±0,75	29,05 ±1,55	1-4 $P < 0,05$ 2-4
Produkcia kyseliny propiónovej ⁷ [mmol . deň ⁻¹]	12,57 ±0,61	12,38 ±0,72	10,97 ±0,40	12,63 ±0,65	1-3 $P < 0,05$ 3-4
Produkcia kyseliny n-maslovej ⁸ [mmol . deň ⁻¹]	3,06 ±0,17	2,99 ±0,18	3,69 ±0,09	3,48 ±0,20	1-3 $P < 0,01$ 2-3
Produkcia kyseliny n-valérovej ⁹ [mmol . deň ⁻¹]	1,12 ±0,07	1,28 ±0,07	0,99 ±0,07	1,20 ±0,08	2-3 $P < 0,01$ 3-4 $P < 0,05$
Produkcia kyseliny izo-valérovej ¹⁰ [mmol . deň ⁻¹]	0,39 ±0,02	0,42 ±0,04	0,58 ±0,02	0,63 ±0,08	1-3 $P < 0,001$ 1-4 $P < 0,05$ 2-4 $P < 0,01$ 2-3
Pomer acetátu a propionátu ¹¹	1,96 ±0,09	2,00 ±0,08	2,43 ±0,10	2,31 ±0,23	1-3 $P < 0,05$ 2-3 1-4 $P < 0,001$ 2-4

¹parameter, ²statistics, ³dry matter (DM) digestibility of feed ration, ⁴NH₃-N in the effluent, ⁵production of total volatile fatty acids, ⁶production of acetic acid, ⁷production of propionic acid, ⁸production of n-butyric acid, ⁹production of n-valeric acid, ¹⁰production of isovaleric acid, ¹¹acetate:propionate ratio, ¹²insignificant

II. Unikavé masné kyseliny [mol %] a produkcia plynov — Volatile fatty acids [mol %] and gas production

Ukazovateľ ¹	V ₁	V ₂	V ₃	V ₄	Štatistika ²
Kyselina octová ³ [mol %]	58,62 ± 1,00	58,89 ± 0,76	61,82 ± 0,68	61,62 ± 0,63	1-3 <i>P</i> < 0,01 2-3 1-4 <i>P</i> < 0,05 2-4
Kyselina propiónová ⁴ [mol %]	30,14 ± 0,91	29,58 ± 0,89	25,47 ± 0,36	26,75 ± 0,83	1-3 <i>P</i> < 0,001 2-3 1-4 <i>P</i> < 0,05 2-4
Kyselina n-maslová ⁵ [mol %]	7,33 ± 0,26	7,23 ± 0,08	8,60 ± 0,25	7,39 ± 0,23	1-3 <i>P</i> < 0,01 3-4 2-3 <i>P</i> < 0,001
Kyselina n-valérová ⁶ [mol %]	2,68 ± 0,15	3,08 ± 0,12	2,28 ± 0,11	2,54 ± 0,12	1-3 <i>P</i> < 0,05 2-3 <i>P</i> < 0,001 2-4 <i>P</i> < 0,01
Kyselina izovalérová ⁷ [mol %]	0,94 ± 0,04	1,01 ± 0,07	1,35 ± 0,07	1,34 ± 0,17	1-3 <i>P</i> < 0,001 1-4 <i>P</i> < 0,05 2-3 <i>P</i> < 0,01
Celková produkcia plynov ⁸ [ml . deň ⁻¹]	2319,16 ± 77,12	2530,00 ± 41,81	2402,50 ± 65,24	2536,66 ± 128,03	1-2 <i>P</i> < 0,05
Produkcia metánu ⁹ [mmol . deň ⁻¹]	8,28 ± 1,03	9,08 ± 0,55	11,56 ± 1,11	9,78 ± 1,04	1-3 <i>P</i> < 0,05
Produkcia CO ₂ ¹⁰ [mmol . deň ⁻¹]	17,91 ± 3,03	23,70 ± 3,08	20,72 ± 1,98	22,57 ± 2,47	1-3 <i>P</i> < 0,05

For 1-2 see Tab. I; ³acetic acid, ⁴propionic acid, ⁵n-butyric acid, ⁶n-valeric acid, ⁷isovaleric acid, ⁸total gas production, ⁹methane production, ¹⁰CO₂ production

III. Stoichiometrické vzťahy pri fermentácii v RUSITECU — Stoichiometric relations during fermentation in RUSITEC

Ukazovateľ ¹	V ₁	V ₂	V ₃	V ₄	Statistika ²
E [%]	78,13 ±0,43	77,92 ±0,39	76,26 ±0,18	76,65 ±0,35	1-3 P < 0,01 2-3 1-4 P < 0,05 2-4
E ₁ [%]	78,93 ±0,32	78,91 ±0,42	76,91 ±0,18	77,41 ±0,39	1-3 P < 0,001 2-3 1-4 P < 0,01 2-4 P < 0,05
E ₂ [%]	11,43 ±0,32	11,47 ±0,42	13,49 ±0,19	12,95 ±0,39	1-3 P < 0,001 2-3 1-4 P < 0,01 2-4 P < 0,05
E ₃ [%]	38,47 ±0,08	38,35 ±0,06	37,98 ±0,14	38,37 ±0,08	1-3 P < 0,001 2-3 3-4 P < 0,01
Využitie glukózy ³ [mmol . deň ⁻¹]	22,67 ±0,85	22,78 ±1,17	23,46 ±0,63	25,51 ±1,25	nevýznamné ⁸
Produkcia ATP ⁴ [mmol . deň ⁻¹]	104,30 ±4,28	105,30 ±5,28	108,00 ±3,60	116,30 ±5,52	nevýznamné ⁸
Produkcia mikrobiálnej DM [g . kg ⁻¹] strávenej DM ⁵	120,02 ±1,74	123,05 ±2,72	124,42 ±2,21	125,47 ±3,09	nevýznamné ⁸
Produkcia ATP strávenej DM ⁶ [mol . kg ⁻¹]	15,29 ±0,57	15,81 ±0,83	14,68 ±0,62	15,85 ±0,85	nevýznamné ⁸
Y _{ATR} [g . mol ⁻¹]	7,82 ±0,34	7,85 ±0,37	8,52 ±0,29	8,00 ±0,34	nevýznamné ⁸
Organická hmota fermento- vaná ⁷ [g . deň ⁻¹]	3,67 ±0,18	3,69 ±0,19	3,80 ±0,10	4,13 ±0,20	nevýznamné ⁸

For 1—2 see Tab. I; ³glucose utilization, ⁴ATP production, ⁵production of microbial DM (g per kg), of ingested DM, ⁶ATP production (mol per kg) of ingested DM, ⁷fermented organic matter, ⁸insignificant

IV. Ukazovatele proteosyntézy v RUSITECU — Parameters of proteosynthesis in RUSITEC

Ukazovateľ ¹	V ₁	V ₂	V ₃	V ₄	Štatistika ²
Produkcia H ₂ ³ [mmol . deň ⁻¹]	77,01 ±2,92	77,48 ±4,03	81,88 ±2,12	88,21 ±4,43	nevýznamné ⁶
Utilizácia H ₂ ⁴ [mmol . deň ⁻¹]	74,35 ±4,83	78,45 ±3,50	86,61 ±5,09	82,22 ±4,74	nevýznamné ⁶
P _O [mg . deň ⁻¹]	467,57	467,57	467,57	467,57	—
P _M [mg . deň ⁻¹]	187,83	220,56	266,98	275,80	—
P _F [mg . deň ⁻¹]	83,89	150,93	132,25	93,03	—
R	0,489	0,696	0,796	0,736	—
Q	0,829	0,436	0,256	0,358	—
No [mg . deň ⁻¹]	364,89	363,22	355,30	341,35	—
T	0,561	0,562	0,568	0,578	—
D	0,820	0,677	0,717	0,801	—
E	0,225	0,265	0,324	0,341	—
Bakteriálna biomasa effluentu a zbytkov krmiva [g . deň ⁻¹]	0,809	0,819	0,916	0,922	—

For 1—2 see Tab. I; ³H₂ production, ⁴H₂ utilization, ⁵bacterial biomass of effluents and of feed residues, ⁶insignificant

Vysvětlivky pro tab. I—IV — Explanatory notes to Tabs. I—IV:

± štandardná stredná chyba (SEM) — ± standard mean error (SEM)

V₁, V₂ = fermentačná nádoba s inokulom daniela — V₁, V₂ = fermentation vessel with fallow-deer inoculum

V₃, V₄ = fermentačná nádoba s inokulom barana — V₃, V₄ = fermentation vessel with ram inoculum

Z výsledkov uvedených v tab. IV je zrejmé, že proteosyntéza prebieha účinnejšie vo fermentovaných nádobách V_3 a V_4 s inokulum barana o čom svedčia výsledky hlavných ukazovateľov proteosyntézy — P_M , R , T a E . Tieto výsledky sú aj v úzkej súvislosti s vyššou produkciou bakteriálnej biomasy získanej z effluentu a nestrávených zvyškov krmiva pri fermentácii kŕmnej dávky vo fermentačných nádobách V_3 a V_4 .

V závere je možné konštatovať, že fermentácia základnej kŕmnej dávky v umelom bachore RUSITEC prebieha účinnejšie s inokulum barana než daniela, čo sa najviac prejavilo v stráviteľnosti sušiny kŕmnej dávky, v produkcii UMK a v procese proteosyntézy. Táto práca je určitým príspevkom k poznaniu procesov trávenia v bachore u danielov a v budúcnosti by sa štúdium tejto problematiky mohlo rozšíriť aj na iné druhy divožijúcich prežúvavcov.

Literatúra

- ALIEV, A. A. — DŽAVALOV, A. K.: Opredelenie količestva infuzornoj massy v soderžimom predžaludku životnyh. Dokl. VASCHNIL, 11, 1986, s. 24—26.
- CONWAY, E. J. — O'MALLEY, F.: Microdiffusion methods. Ammonia and urea using buffered absorbents. Biochem. J., 36, 1942, s. 655—661.
- COTTYN, B. G. — BOUCQUE, C. V.: Rapid method from the gas chromatographic determination of volatile fatty acids in rumen fluid. J. agric. fd. Chem., 16, 1968, s. 105—107.
- CZERKAWSKI, J. W.: Methods for determining 2—6 diaminopimelic acid and 2-aminoethylphosphonic acid in gut contents. J. Sci. Fd Agric, 25, 1974, s. 45—55.
- CZERKAWSKI, J. W.: An introduction to rumen studies. Oxford-New York-Toronto-Sydney-Frankfurt, Pergamon Press 1986.
- CZERKAWSKI, J. W. — BRECKENRIDGE, G.: Design and development of a long term simulation technique (RUSITEC). Brit. J. Nutr., 38, 1977, s. 371—384.
- CZERKAWSKI, J. W. — BRECKENRIDGE, G.: Metabolism of protein supplements studied by the Rumen Simulation Technique (RUSITEC). Arch. Tierernähr., 35, 1985, s. 261—277.
- CZERKAWSKI, J. W. — CLAPPERTON, J. L.: Analysis of gas produced metabolism of microorganisms. Lab. Pract., 17, 1968, s. 994—996.
- KAY, R. N. B. — GOODALL, E. D.: The intake, digestibility and retention time of roughage diets by red deer (*Cervus elaphus*) and sheep. Proc. Nutr. Soc., 35, 1976, 98A (abstract).
- MCDUGALL, E. J.: Studies on rumen saliva. 1. The composition and output of sheep's saliva. Biochem. J., 43, 1948, s. 99—109.
- ORSKOV, E. R. — FLATT, W. P. — MOE, P. W.: Fermentation balance approach to estimate extent of fermentation and efficiency of VFA formations in ruminants. J. Dairy Sci., 51, 1968, s. 1429—1435.
- SPIES, J. R.: An ultraviolet spectrophotometric micromethod for studying protein hydrolysis. J. Biol. Chem., 195, 1952, s. 65—74.
- TILLY, J. M. A. — TERRY, R. A.: A two stage techniques for the *in vitro* digestion of forage crops. J. Brit. Grassl. Soc., 18, 1963, s. 104—111.
- VAN NEVEL, C. J. — DEMEYER, D. O.: Effects of monensin on rumen metabolism *in vitro*. Appl. Environ. Microbiol., 34, 1977, s. 251—257.

Došlo dne 5. 3. 1990

JALČ, D. — OBLAKOV, N. — BARAN, M. — VENDRÁK, T. — SIROKA, P. (Institute of Animal Physiology of the Slovak Academy of Sciences, Košice; Zooveterinary University, Stará Zagora, Bulgaria): *Feed ration fermentation by means of the rumen contents of fallow-deer and ram in an artificial rumen (RUSITEC)*. Veter. Med. (Praha), 36, 1991 (3): 165—173.

An experiment was conducted in the RUSITEC (Rumen Simulation Technique) artificial rumen. The inoculum — solid rumen contents with the rumen fluid of fallow-deer (V_1 , V_2) and ram (V_3 , V_4) was put to four fermentation vessels (V_1 , V_2 , V_3 , V_4). A basal feed ration consisting of hay and barley meal (80:20 %) was subjected to

fermentation. An addition of 200 mg urea dissolved in 1 l McDougall buffer provided for the 13% content of crude protein (CP) in the feed ration in each fermentation vessel. The experiment lasted twelve days: so called steady state period took the first six days, in the course of which the fermentation conditions in the RUSITEC artificial rumen got stabilized. The feed ration fermentation was more effective in the vessels V₃ and V₄, containing the ram inoculum. This was manifested by the higher dry matter digestibility of feed ration, higher production of acetic acid, n-butyric and isovaleric acid, higher acetate:propionate ratio, but also by the insignificantly higher production of CO₂ and methane, glucose utilization, adenosine triphosphate production, organic matter fermentation and effectiveness of microbial matter synthesis (Y_{ATP}). There was a significant decrease in the following parameters: energy yield (E) of volatile fatty acids (VFA), proportion of VFA energy with respect to the fermented hexose energy (E₁) and the proportion of energy in bacterial cells with respect to the fermented hexose energy (E₃), and an increase in the proportion of methane energy with respect to the fermented hexose energy (E₂), in the course of the feed ration fermentation in V₃ and V₄. The inoculum prepared from the ram rumen contents had better effects also in the process of proteosynthesis if the course of fermentations is evaluated. These better effects resulted in the higher production of microbial protein (P_M), higher protein conversion ratio (R), and especially higher effectiveness of microbial proteosynthesis (E).

(RUSITEC) artificial rumen; volatile fatty acids; methane; final products of fermentation; proteosynthesis; feed ration fermentation

Adresy autorov:

MVDr. Dušan Jalč, CSc., MVDr. Miroslav Baran, CSc., MVDr. Tibor Vendrák, RNDr. Peter Siroka, Ústav fyziológie hospodárskych zvierat SAV, ul. Duklianských hrdinov 1/B, 040 01 Košice
Dr. Nikolaj Oblakov, Vysoká škola zooveterinárska, zootechnická fakulta, 6000 Stará Zagora, Bulharsko

AGROINDEX na disketách

Vážení uživatelé,

nabízíme Vám novou formu služby AGROINDEX.

Od července 1991 lze AGROINDEX — rešerše SDI/ARI odebírat na disketách formátu 1.2 MB a 360 kB.

Informace budou mít obdobnou formu jako u tištěných rešerší AGROINDEXu, tj. textové řádky čitelné v běžných editorech.

Provozovat jej lze na všech typech osobních počítačů kompatibilních s IBM na všech dostupných disketách.

Cena za jedno zpracování individuálního profilu bude snížena na asi 50 Kčs + cena diskety.

Doufáme, že oceníte výhody nové služby a stanete se našimi odběrateli.

Rádi Vám poskytneme další informace na adrese:

Ústav vědeckotechnických informací pro zemědělství
Dokumentační odbor
Slezská 7

120 56 Praha 2

telefon: 02/25 75 41—9, linky 563 nebo 434

fax: 02/25 70 90

VYUŽITÍ KUŘECÍHO ZÁRODKU K PREDIKCI NĚKTERÝCH EMBRYOTOXICKÝCH ÚČINKŮ MYKOTOXINŮ NA SAVCÍCH

D. Veselý, D. Veselá

VESELÝ, D. — VESELÁ, D. (Ústav experimentální biofarmacie ČSAV, Hradec Králové): *Využití kuřecího zárodku k predikci některých embryotoxických účinků mykotoxinů na savcích*. Veter. Med. (Praha), 36, 1991 (3): 175—181.

Embryotoxické účinky 25 mykotoxinů jsme studovali na dvou-, tří- a čtyřdenních kuřecích zárodcích s vyhodnocením v osmém dni jejich vývoje. Nalezená embryotoxicita byla v rozmezí 0,0001—0,1 μg na zárodek pro T-2 toxin, aflatoxiny B₁, G₁, B₂ a M₁, cytochalasin E, ochratoxin A a PR-toxin; 0,1—1,0 μg na zárodek pro sterigmatocystin, aflatoxin G₂, vomitoxin (4-deoxynivalenol), patulin, rubratoxin B, sekalonovou kyselinu D, mykofenolovou kyselinu a 1,0 až > 100 μg na zárodek pro penicilliovou kyselinu, cyklopiazonovou kyselinu, tenuazonovou kyselinu, citrinin, brevianamid A, zearalenon, fusariovou kyselinu, griseofulvin, kojovou kyselinu a 8-methoxypsolaren. Akutní kardiotoxický efekt jsme pozorovali u PR-toxinu, patulinu, rubratoxinu B, penicilliové kyseliny, citriniu a zearalenonu. Teratogenní efekt s různým spektrem malformací zárodků vykazovaly T-2 toxin, ochratoxin A, PR-toxin, patulin, sekalonová kyselina D, mykofenolová kyselina a citrinin. Embryotoxické účinky, které jsme zjistili na kuřecích zárodcích, byly v korelaci se známými literárními údaji o savcích. Vzhledem k rozdílnému chemickému složení a biologickým účinkům mykotoxinů předpokládáme, že test embryotoxicity na kuřecích zárodcích je vhodný také pro testování jiných biologicky aktivních látek v životním prostředí.

mykotoxiny; kuřecí zárodek; embryotoxicita; teratogenita

Kuřecí zárodek je exaktním a levným biologickým modelem, používaným více než jedno století. V průběhu let se pokusili někteří autoři o zavedení systému, ve kterém by se sjednotily nejdůležitější zásady pro práci s kuřecím zárodkem, jako jsou jeho stáří, způsob aplikace testované látky zárodku a vyhodnocení účinků. Při práci s toxickými sekundárními metabolity mikromycet se nám osvědčily pracovní postupy CHEST I a CHEST II (Chick embryotoxicity screening test), které podrobně popsal Jelínek (1979, 1982). Obě metody se osvědčily při testování léčiv a některých průmyslových škodlivin. Jejich předností je definovaný způsob podání látky kuřecímu zárodku, který rozhodujícím způsobem ovlivňuje reprodukovatelnost a citlivost metod.

Pokusně jsme ověřili aplikací (¹⁴C) octanu sodného, že subgerminální způsob podání u dvoudenního a intraamniální u tří- a čtyřdenního zárodku, se kterými se pracuje v CHEST I a II jsou skutečně nejefektivnější (Veselý aj., 1990). Díky bezprostřednímu kontaktu zkoušené látky

při jejím podání do amnia se inkorporuje do zárodku kolem 12 % podané radioaktivity již během 30 min a dosahuje zde maxima. Subgerminální podání, nutné u dvoudenního zárodku, je méně účinné. Radioaktivita inkorporovaná zárodkem narůstá s časem a dosahuje po 24 hodinách 3–4 % původně podané dávky. Časté způsoby aplikace testované látky ke kuřecím zárodkům jsou do vzdušného vaku, žloutkového vaku nebo vaječného bílku. Testovaná látka se tak dostává k zárodku až po delší době a v podstatně nižší koncentraci. Proto může její účinek nastoupit až po kritické periodě vyvíjejícího se zárodku a snižuje se validita i citlivost metody. Při aplikaci (^{14}C) octanu sodného do žloutkového vaku inkorporovaná radioaktivita ve dvou-, tří- a čtyřdenních zárodcích zvolna narůstá a po 24 h dosahuje pouze 1 % podané dávky.

Metoda CHEST I používá kuřecího zárodku starého 40 h a účinek látky se vyhodnocuje 24 h po aplikaci. Pro stanovení embryotoxicity neznámé látky postačí 36 zárodků. Je výhodná a postačující v případech, kdy chceme znát především cytotoxicitu testovací látky, odhad LD_{50} pro savce a koncentrační pásmo, ve kterém budeme pracovat při CHEST II. Metody CHEST I jsme úspěšně využili k testování mykotoxinů, kdy její výsledky korelovaly v rozmezí jednoho koncentračního řádu s akutním toxickým účinkem mykotoxinů na savcích i tkáňových a buněčných kulturách (Veselý aj., 1982). Pro svoji jednoduchost a citlivost se osvědčila i při testování toxinogenních mikromycet (Veselý aj., 1984).

Metoda CHEST II využívá testování látky na dvou-, tří- a čtyřdenním kuřecím zárodku s vyhodnocením na osmém dni vývoje. Zpřesňuje výsledky metody CHEST I a umožňuje sledování dalších účinků testované látky. Z porovnání embryotoxicity na jednotlivých dnech podání je možné zjistit nejen mechanismy působení uvedené v metodě (cytotoxicita a teratogenita), ale i účinek látek hormonálního charakteru na čtyřdenní zárodek (Peterka a Jelínek, 1983), nebo účinek akutně kardiotoxický (Peterka aj., 1980). Po předběžném otestování CHEST I stačí k analýze látky 50 zárodků. Metoda CHEST II se nám osvědčila při studiu embryotoxicity několika mykotoxinů (Veselý aj., 1983, 1985; Veselá aj., 1985). Proto jsme touto metodou otestovali soubor 25 mykotoxinů a pokud to bylo možné, porovnali jsme výsledky s literárními poznatky získanými dosud na savcích. Kdyby se splnil předpoklad dobré korelace obou pokusných systémů, bylo by možné CHEST II využít nejen k predikci biologických účinků mykotoxinů, ale i dalších cizorodých látek v životním prostředí.

MATERIÁL A METODY

Mykotoxiny aflatoxin B_1 a G_1 , brevianamid A, citrinin, cykloplazonovou kyselinu, cytochalasin E, mykofenolovou kyselinu, ochratoxin A, patulin, penicilliovou kyselinu, PR-toxin, rubratoxin B, sekalonovou kyselinu D, sterigmatocystin, tenuazonovou kyselinu, T-2 toxin, vomitoxin (4-deoxynivalenol) a zearalenon, jsme získali izolací z produkčních kmenů mikromycetů kultivovaných na vhodných substrátech. Aflatoxin M_1 jsme izolovali z mléka kozy, které byl podán aflatoxin B_1 . Aflatoxiny B_2 a G_2 , fusariovou kyselinu, griseofulvin, kojovou kyselinu a 8-methoxypsolaren jsme koupili u firmy Sigma, USA. Základní roztoky mykotoxinů o známých koncentracích jsme připravili, podle jejich rozpustnosti, v redestilované vodě, 20% ethanolu nebo 1% NaHCO_3 . Roztoky nižších koncentrací vznikly naředěním základních roztoků redestilovanou vodou.

Skupině deseti morfologicky normálních zárodků jsme aplikovali vždy jednu zvolenou koncentraci mykotoxinu ve 3 nebo 10 μl jeho roztoku. Subgerminálně ve 2. dni, intraamniálně ve 3. a 4. dni vývoje. Dávky jsme volili tak, aby nejvyšší byla letální

a nejnižší netoxická pro celou skupinu zárodků. Po aplikaci mykotoxinu jsme zárodky dále inkubovali do 8. dne vývoje, vyjmuli z vejce, zvážili a pod preparačním mikroskopem pozorovali vnější abnormality zárodku a jeho srdce. Počet uhynulých a malformovaných zárodků v každé podané koncentraci jsme použili k výpočtu střední efektivní dávky (ED_{50}). Metodiku jsme popsali v pracích Veselý aj. (1983), Veselý aj. (1985).

VÝSLEDKY A DISKUSE

ED_{50} testovaných mykotoxinů s vypočteným variačním rozpětím uvádí tab. I. Hodnoty ED_{50} dvoudenního zárodku v tab. I. koreluje s citlivostí savčích a buněčných kultur i s LD_{50} pokusných savců. Jsou zpřesněním krátkodobého testu embryotoxicity mykotoxinů na kuřecím zárodku uvedeném v práci Veselý aj. (1982).

Z toxicity mykotoxinů na různých dnech podání je možné odhadnout i mechanismus účinku. Nejcitlivější na cytotoxický účinek látek je dvoudenní kuřecí zárodek a citlivost rychle klesá s jeho stářím. Takový průběh embryotoxicity vykazují nejzřetelněji mykotoxiny z počátku tab. I. Má-li látka též jiné toxické účinky, může se cytotoxický efekt zastírat. Za mykotoxiny s převážně cytotoxickým účinkem můžeme považovat T-2 toxin, aflatoxiny B_1 , G_1 , B_2 , G_2 a M_1 , cytochalasin E, PR-toxin, sterigmatocystin, vomitoxin, mykofenolovou kyselinu, tenuazonovou kyselinu, brevianamid A a fusariovou kyselinu. Cytotoxický účinek není tak výrazný u ochratoxinu A, který má při všech dnech podání široké rozmezí teratogenní dávky.

Bezprostředně po aplikaci mykotoxinů tří- a čtyřdennímu kuřecímu zárodku můžeme u některých pozorovat akutní účinky na srdce a krevní oběh. U patulinu, rubratoxinu B, PR-toxinu a zearalenonu dochází k arytmií, síňokomorové disociaci až zástavě srdce. Krev uniká do tkáňových prostor zárodku. Penicilliová kyselina způsobuje síňokomorovou disociaci, dilataci srdce, extravazáty a hemoragie orgánů zárodku. Při podání citrininu nastává kontrakce amnia, žloutkového vaku a periferního krevního řečiště. Dochází k rupturám v krevním oběhu a vylévání krve do zárodku i amnia. Kontrakce amnia výrazně zprohýbá neurální trubici. Smrt nastává v těchto případech selháním krevního oběhu a cytotoxický účinek se při vyšších dávkách těchto mykotoxinů nestačí projevit. Na vyšší toxicitě zearalenonu u tří- a čtyřdenního zárodku v porovnání s dvoudenním se podílí jeho estrogenní účinek, prokázaný u savců (Long a Diekman, 1984).

Sedm mykotoxinů, které měly teratogenní účinek na kuřecí zárodek, shrnuje tab. II. Za teratogenní účinek jsme považovali, když rozmezí teratogenní dávky mykotoxinu bylo alespoň na jednom ze dnů podání v rozpětí jednoho řádu. Malformace jsou uvedeny v pořadí četnosti, v jakém se na zárodcích vyskytovaly.

Velké rozmezí teratogenní dávky na dvoudenním kuřecím zárodku má T-2 toxin, na dvou- a čtyřdenním PR-toxin a při všech dnech podání ochratoxin A a sekalonová kyselina D. Slabší teratogenní účinky mají patulin, mykofenolová kyselina a citrinin. Až na poslední tři zástupce, kde jsme nedosáhli embryotoxické dávky, jsou ostatní mykotoxiny uvedené v tab. I. pouze embryocidní.

Výsledky z tab. I. a II. jsme konfrontovali s literárními údaji o teratogenitě testovaných mykotoxinů na savcích. Silný teratogenní účinek na savčí zárodek vykazuje T-2 toxin, zvláště v raných stádiích zárodku

[Hood, 1979, 1986], dále ochratoxin A [Hood, 1979; Mayura aj., 1984] a sekalonová kyselina D [Mayura aj., 1982; Reddy aj., 1986]. Embryotoxický účinek vyznačující se především embryoletalitou, resorpcí zárodků nebo růstovou retardací, ale jen malým procentem malformací, mají aflatoxiny B₁ a G₁, rubratoxin B, citrinin, patulin, penicilliová kyselina, zearalenon [Hood, 1979; Okada aj., 1984; Reddy aj., 1982], vomitoxin [Khera aj., 1984] a cyklopiazonová kyselina [Morrissey aj., 1984; Nishie aj., 1987]. Teratogenní účinky těchto mykotoxinů se projevily pouze při *i. p.*, *s. c.* nebo *i. v.* způsobu podání. Při aplikaci *p. o.* se objevily resorpce a snížení hmotnosti zárodků, a to především při vysokých pokusných dávkách a často pod vlivem otravy organismu matky.

I. Embryotoxicita mykotoxinů na dvoudenní, třídenní a čtyřdenní kuřecí zárodky —
Mycotoxin embryotoxicity for two-day, three-day and four-day chick embryos

Myko- toxin ₁	ED ₅₀ [μg na zárodek ²]		
	2. den ³	3. den ³	4. den ³
T-2	0,0019(0,0013—0,0028)	0,0094(0,008—0,011)	0,012(0,010—0,015)
AB ₁	0,008(0,004—0,014)	0,029(0,019—0,045)	0,047(0,036—0,060)
AG ₁	0,017(0,008—0,031)	0,045(0,029—0,070)	0,110(0,065—0,190)
CE	0,016(0,008—0,032)	0,050(0,034—0,079)	0,180(0,095—0,342)
OA	0,036(0,029—0,045)	0,020(0,018—0,023)	0,030(0,022—0,040)
PR	0,048(0,037—0,062)	0,070(0,058—0,084)	0,125(0,110—0,143)
AB ₂	0,086(0,048—0,160)	0,190(0,140—0,270)	0,210(0,140—0,330)
AM ₁	0,110(0,065—0,190)	0,160(0,110—0,230)	0,180(0,140—0,330)
ST	0,130(0,11—0,15)	0,37(0,32—0,43)	0,56(0,50—0,63)
AG ₂	0,22(0,16—0,30)	0,30(0,19—0,46)	>1
VM	0,32(0,21—0,48)	2,30(1,80—2,94)	2,5(1,95—3,20)
PT	0,50(0,42—0,60)	0,32(0,27—0,37)	0,43(0,37—0,49)
RB	0,62(0,50—0,77)	0,14(0,11—0,18)	0,26(0,22—0,31)
SD	0,90(0,60—1,30)	2,80(1,80—4,30)	3,80(2,60—5,80)
MA	0,94(0,81—1,09)	5,0(3,0—8,3)	15,0(13,3—17,0)
PA	1,6(1,1—2,2)	7,4(7,2—7,6)	5,4(4,8—6,0)
CP	2,4(1,7—3,5)	4,7(2,1—10,3)	2,7(1,7—4,3)
TA	8,0(4,7—13,6)	7,1(6,1—8,2)	32,0(23,7—43,2)
CT	12,0(10,3—13,9)	5,8(4,8—7,0)	9,4(7,8—11,3)
BA	16,0(12,3—20,9)	30,0(22,2—40,5)	47,0(32,4—68,2)
ZN	100,0(71,4—140,0)	28,0(22,4—37,8)	30,0(23,1—31,0)
FA	40,0(27,6—58,0)	49,0(32,7—73,5)	100(56—180)
GR	>100	>100	>100
KA	>100	>100	>100
MP	>100	>100	>100

¹mycotoxin, ²ED₅₀ [μg per embryo], ³day

AB₁, AB₂, AG₁, AG₂ a AM₁ = aflatoxin B₁, B₂, G₁, G₂ a M₁; BA = brevianamid A; CE = cytochalasin E; CP = cyklopiazonová kyselina; CT = citrinin; FA = fusariová kyselina; GR = griseofulvin; KA = kojová kyselina; MA = mykofenolová kyselina; MP = 8-methoxy-psolaren; OA = ochratoxin A; PA = penicilinová kyselina; PR = PR-toxin; PT = patulin; RB = rubratoxin B; SD = sekalonová kyselina D; ST = sterigmatocystin; TA = tenuazonová kyselina; T-2 = T-2 toxin; VM = vomitoxin; ZN = zearalenon — AB₁, AB₂, AG₁, AG₂ and AM₁ = aflatoxins B₁, B₂, G₁, G₂ and M₁; BA = brevianamide A; CE = cytochalasin E; CP = cyclopiazonic acid; CT = citrinine; FA = fusaric acid; GR = griseofulvin; KA = kojic acid; MA = mycophenolic acid; MP = 8-methoxy-psolaren; OA = ochratoxin A; PA = penicillic acid; PR = PR-toxin; PT = patulin; RB = rubratoxin B; SD = secalonic acid D; ST = sterigmatocystin; TA = tenuazonic acid; T-2 = T-2 toxin; VM = vomitoxin; ZN = zearalenone

Žádné údaje o teratogenitě na savčí organismy jsme nenalezli pro PR-toxin, aflatoxiny B₂, G₂ a M₁, cytochalasin E, sterigmatocystin, mykofenolovou kyselinu, tenuazonovou kyselinu, brevianamid A, fusariovou kyselinu, griseofulvin, kojovou kyselinu a 8-methoxypsolaren.

Literární údaje o teratogenních účincích mykotoxinů při aplikacích *i. p.*, *s. c.* a *i. v.* korelují s výsledky uvedenými v tab. I. a II. Interpretace výsledků získaných na kuřecím zárodku na savčí zárodek při podání *p. o.* je obtížnější. Do přenosu mykotoxinu k savčímu zárodku zasahuje mnoho faktorů, jako vstřebávání a reakce v zažívacím traktu, metabolické pochody v mateřském organismu, embryotoxicita metabolitů, afinita podané látky a jejich metabolitů ke krvi matky a mnoho dalších.

Porovnáme výsledky testování 25 mykotoxinů testem CHEST II s literárními údaji známými z pokusů na savcích. Metoda CHEST II upřesňuje odhad toxicity mykotoxinů, který získáme metodou CHEST I. Kromě toho umožňuje sledování některých mechanismů působení testovaných látek, jako cytotoxicitu, vliv na krevní oběh, estrogení účinek a především teratogenitu. Teratogenní účinky na kuřecí zárodek jsou v naprosté shodě s teratogenními účinky na savcích, kterým byl testovaný mykotoxin podáván *i. p.*, *s. c.* nebo *i. v.* Kuřecí zárodek nemůže ovšem imitovat vliv mateřského organismu savce při podání *p. o.* Na základě uvedených výsledků však můžeme konstatovat, že test CHEST II zachytí mykotoxiny potenciálně teratogenní pro savčí zárodek.

II. Teratogenní účinky mykotoxinů na dvoudenní, třídní a čtyřdní kuřecí zárodky — Teratogenic effects of mycotoxins on two-day, three-day and four-day chick embryos

Mykotoxin ¹	2. den ²		3. den ²		4. den ²	
	RTD	malformace ³	RTD	malformace ³	RTD	malformace ³
T-2	0,0001— —0,05	SCR, Mm	0		0	
OA	0,02—1	SCR, BU, HM, CLCP	0,01—0,5	E, HM, MO, BU, ev., Am, Mm, def.	0,02—0,5	E, HM, CLCP
PR	0,01—2	SCR, MO	0		0,1—2	CLCP, MO, BU, ev., hl, Mm
PT	0,1—2	SCR, MO	0,07—1	ev., CLCP	0,3—3	ev., CLCP, Mm, Am, hl
SD	0,5—5	MO, CLCP, def.	2—10	CLCP, def.	1—30	CLCP, MO, Mm
MA	0,1—3	MO, CLCP, SCR	2—10	CLCP, SCR	0	
CT	5—40	CLCP, SCR	5—10	CLCP, SCR	0	

RTD: Rozmezí teratogenní dávky mykotoxinu (μg na zárodek) — RTD: range of mycotoxin teratogenic dose (μg per embryo)

malformace: Am, Mm = amelia, mikromelia; BO, MO = buftalmie, mikroftalmie; CLCP = oboustranný rozštěp zobáku; hl. = hyperlardose; ev. = eventrace tělní stěny; SCR = syndrom kaudální regrese — malformations: Am, Mm = amelia, micro-melia; BO, MO = buphthalmia, microphthalmia; CLCP = bilateral fissure of the beak; hl. = hyperlardose; ev. = eventration of body wall; SCR = syndrome of caudal regression

¹mycotoxin, ²day, ³malformations

Pokusy na hospodářských i pokusných zvířatech jsou velmi nákladné. Probíhají poměrně dlouho, pokusné a kontrolní skupiny zvířat musejí být dostatečně početné a rostou náklady na velikost chovu a výdaje s ním spojené. Cena pokusných zvířat stále roste a v mnoha zemích se projevuje odpor veřejnosti vůči pokusům na zvířatech z humanitních důvodů. Kuřecí zárodek v testu CHEST II může podat řadu informací při velmi malých nárocích na náklady, místo a čas. Pro kompletní vyhodnocení sloučeniny metodami CHEST I a II postačí 190–220 kuřecích zárodků a 10 mg testované látky. Oba navazující testy vyžadují 11 až 12 dní, souběžně může skupina dvou až tří pracovníků testovat tři látky.

Chemickým složením jsou mykotoxiny zcela odlišné sloučeniny s různými toxickými účinky. Můžeme proto předpokládat, že stejně dobrých výsledků bude dosahovat metoda CHEST II i při testování jiných cizorodých látek vyskytujících se v životním prostředí hospodářských zvířat a tím i v potravinovém řetězci lidí. Je to stále rozsáhlejší skupina sloučenin, zahrnující veterinární léčiva, různá aditiva, konzervační a desinfekční přípravky a mnoho dalších cizorodých látek, které pronikají nekontrolovaně do krmiv, včetně již uvedených mykotoxinů. O negativních biologických účincích některých cizorodých látek nemáme často informace. Pokud se při testování na kuřecím zárodku objeví závažné toxické účinky zkoušené látky, které je třeba ověřit pokusem na savcích, poskytuje test cenné vodítko pro následující práci na pokusných zvířatech.

Literatura

- HOOD, R. D.: Effects of mycotoxins on development. In: PERSAUD, T. V. N. (ed): Teratological testing. Advances in the study of birth defects. Lancaster, MTP Press 1979, s. 191–210.
- HOOD, R. D.: Effects of concurrent prenatal exposure to rubratoxin B and T-2 toxin in the mouse. Drug and Chem. Toxicol., 9, 1986, s. 185–190.
- JELÍNEK, R.: Embryotoxicity assay on morphogenetic systems. In: BENEŠOVÁ, O. — RYCHTER, Z. — JELÍNEK, R. (eds): Evaluation of embryotoxicity, mutagenicity and carcinogenicity risks in new drugs. Praha, Universita Karlova 1979, s. 195–205.
- JELÍNEK, R.: Use of chick embryo in screening for embryotoxicity. Teratogenesis, Carcinogenesis, and Mutagenesis, 2, 1982, s. 255–261.
- KHERA, K. S. — ARNOLD, D. L. — WHALEN, C. — ANGERS, G. — SCOTT, P. M.: Vomitin (4-deoxynivalenol): Effects on reproduction of mice and rats. Toxicol. appl. Pharmacol., 74, 1984, s. 345–356.
- LONG, G. L. — DIEKMAN, M. A.: Effect of purified zearalenone on early gestation in gilts. J. anim. Sci., 59, 1984, s. 1662–1670.
- MAYURA, K. — HAYES, A. W. — BERNDT, W. O.: Teratogenicity of secalonid acid D in rats. Toxicology, 25, 1982, s. 311–322.
- MAYURA, K. — PARKER, R. — BERNDT, W. O. — PHILLIPS, T. D.: Effect of simultaneous prenatal exposure to ochratoxin A and citrinin in the rat. J. Toxicol. Environ. Health, 13, 1984, s. 553–561.
- MORRISSEY, R. E. — COLE, R. J. — DORNER, J. W.: The effects of cyclopiazonic acid on pregnancy and fetal development of Fischer rats. J. Toxicol. Environ. Health, 13, 1984, s. 585–594.
- NISHIE, K. — COLE, R. J. — DORNER, J. W.: Toxic effects of cyclopiazonic acid in the early phase of pregnancy in mice. Res. Comm. Pathol. and Pharmacol., 55, 1987, s. 303–315.
- OKADA, K. — SURJONO, T. W. — KAMEYAMA, Y.: Teratogenicity of single dose administration of rubratoxin B in ICR mice. Environ. Med., 28, 1984, s. 81–84.
- PETERKA, M. — JELÍNEK, R.: Origin of hydrocortisone induced orofacial clefts in the chick embryo. J. Cleft Palate, 20, 1983, s. 35–42.
- PETERKA, M. — JELÍNEK, R. — BENEŠOVÁ, O.: Cardiotoxicity of drugs detected on chicken embryos. Arch. Toxicol., Suppl. 4, 1980, s. 413–414.
- REDDY, C. S. — HANUMAIHAH, B. — HAYES, T. G. — EHRLICH, K. C.: Developmental stage specificity and dose response of secalonid acid D-induced cleft palate and the

absence of cytotoxicity in developing mouse palette. *Toxicol. appl. Pharmacol.*, **84**, 1986, s. 346–354.

REDDY, R. V. — MAYURA, K. — HAYES, A. W. — BERNDT, W. O.: Embryocidal teratogenic and fetotoxic effects of citrinin in rats. *Toxicology*, **25**, 1982, s. 151–160.

VESELÁ, D. — VESELÝ, D. — FASSATIOVÁ, O. — NEUMANNOVÁ, V.: Produkce secalonové kyseliny D kmeny *Penicillium oxalicum* a její toxické účinky na kuřecí zárodek. *Veter. Med. (Praha)*, **30**, 1985, s. 571–575.

VESELÁ, D. — VESELÝ, D. — JELÍNEK, R.: Toxic effects of ochratoxin A and citrinin, alone and in combination, on chicken embryos. *Appl. Environ. Microbiol.*, **45**, 1983, s. 91–93.

VESELÝ, D. — VESELÁ, D. — JELÍNEK, R.: Nineteen mycotoxins tested on chicken embryos. *Toxicol. Lett.*, **13**, 1982, s. 239–245.

VESELÝ, D. — VESELÁ, D. — JELÍNEK, R.: Comparative assessment of the aflatoxin B₁, B₂, G₁, G₂, and M₁ embryotoxicity in the chick embryo. *Toxicol. Lett.*, **15**, 1983, s. 297–300.

VESELÝ, D. — VESELÁ, D. — JELÍNEK, R.: Use of chick embryo in screening for toxin-producing fungi. *Mycopathologia*, **88**, 1984, s. 135–140.

VESELÝ, D. — VESELÁ, D. — JELÍNEK, R.: The bioavailability of mycotoxins to chick embryos in dependence on the route of administration, 1990.

VESELÝ, D. — VESELÁ, D. — NEUMANNOVÁ, V.: Produkce cyklopiazonové kyseliny, její účinky na kuřecí zárodek a na jednodenní kohoutky. *Veter. Med. (Praha)*, **30**, 1985, s. 345–352.

Došlo dne 14. 2. 1990

VESELÝ, D. — VESELÁ, D. (Institute of Experimental Biopharmacy, Czechoslovak Academy of Sciences, Hradec Králové): *The use of chick embryo for prediction of some embryotoxic effects of mycotoxins in mammals*. *Veter. Med. (Praha)*, **36**, 1991 (3): 175–181.

Embryotoxic effects of 25 mycotoxins were investigated in two-, three- and four-day chick embryos; the results were evaluated on the eighth day of development. The embryotoxicity ranged from 0.0001 to 0.1 µg per embryo in T-2 toxin, aflatoxin B₁, G₁, B₂ and M₁, cytochalazin E, ochratoxin A and PR-toxin; from 0.1 to 1.0 µg per embryo in sterigmatocystin, aflatoxin G₂, vomitoxin [4-deoxynivalenol], patulin, rubratoxin B, secalononic acid D, mycophenolic acid, and from 1.0 to 100 µg per embryo in penicillic acid, cyclopiazonic acid, tenuazonic acid, citrinine, brevianamide A, zearalenone, fusaric acid, griseofulvin, kojic acid and 8-methoxypsoralen. Acute cardiotoxic effects were observed in PR-toxin, patulin, rubratoxin B, penicillic acid, citrinine and zearalenone. Teratogenic effects with a spectrum of different embryonal malformations occurred in T-2 toxin, ochratoxin A, PR-toxin, patulin, secalononic acid D, mycophenolic acid and citrinine. The embryotoxic effects demonstrated in chick embryos correlated with the well-known literary data on mammals. Considering the different chemical composition and biological effects of mycotoxins, we suppose that the embryotoxicity test of chick embryos will also be suitable for testing other biologically active substances in the environment.

mycotoxins; chick embryo; embryotoxicity; teratogenicity

Adresa autorů:

Ing. Drahomír Veselý, ing. Doubravka Veselá, Ústav experimentální biofarmacie ČSAV, Hradec Králové, pracoviště 517 83 Olešnice v Orlických horách 14

Vědecký časopis

POTRAVINÁŘSKÉ VĚDY

vydává od roku 1983 Československá akademie zemědělská — Ústav vědeckotechnických informací pro zemědělství.

Časopis slouží vědeckým, technickým a hospodářským pracovníkům v oboru potravinářství. Jeho cílem je integrovat jednotlivé úseky potravinářské vědy od potravinářské chemie přes biochemii, mikrobiologii, potravinářské inženýrství a bioinženýrství, otázky hygienické a nutriční až po kvalitu produktů pro potravinářský průmysl a ekonomické otázky potravinářského průmyslu.

Časopis Potravinářské vědy uveřejňuje původní vědecké práce v češtině a slovenštině, ale i v angličtině. Články jsou doplněny obšírnějším anglickým (příp. českým či slovenským) souhrnem a všechny popisy tabulek a obrázků mají uvedeny anglické ekvivalenty.

Kromě vědeckých prací jsou v rubrice Přehledy uváděny kompilační články týkající se nových technik užívaných v potravinářském výzkumu. Čtenáři mohou v časopisu najít aktuální informace z vědeckého života (zprávy z konferencí, recenze nových knih atd.). Časopis také uveřejňuje inzeráty tuzemských i zahraničních firem.

Časopis Potravinářské vědy vychází 4krát ročně v celkovém rozsahu 320 tiskových stran.

Z. Pecka

PECKA, Z. [Parazitologický ústav ČSAV, České Budějovice]: *Studium patogenity Tetratrichomonas gallinarum*. Veter. Med. [Praha], 36, 1991 (3): 183–188.

Ze slepých střev či kloaky kachen a husí domácích bylo izolováno osm axenických kmenů *Tetratrichomonas gallinarum*. Pro všechny kmeny byly stanoveny růstové křivky a vypočítány generační doby, které se pohybovaly od 2 h 36 min do 4 h 44 min. Axenické kultury sedmi kmenů *T. gallinarum* byly podrobeny Honigbergově testu na inbredních myších. Průměrné objemy šestidenních podkožních abscesů se pohybovaly od 129,98 do 185,63 mm³. Vybranými kmeny trichomonád byla provedena experimentální nákaza kachen a husí. Při makroskopickém ani mikroskopickém vyšetřování nebyly zjištěny žádné významné patologické změny sliznice coeka ptáků, ačkoliv trichomonády byly pozorovány ve velkém množství mezi klky a v kryptách. Na základě dosažených výsledků se domníváme, že druh *T. gallinarum* není primárně patogenní pro specifické hostitele.

kachny; husy; inbrední myši; patogenita; trichomonóza; *Tetratrichomonas gallinarum*

Prvoci druhu *Tetratrichomonas gallinarum* se běžně vyskytují v trávicím traktu drůbeže. U zdravých jedinců jsou lokalizováni především ve slepém střevě.

Názory na patogenitu těchto bičíkovců jsou různé. Někteří autoři považují *T. gallinarum* za původce enterohepatitidy s charakteristickými lézemi na coeku a játrech (Hadley, 1916; Allen, 1941). Podobné onemocnění působené trichomonádami u krůt, kuřat a některých dalších ptáků popisují také Ciolca aj. (1960), Zavadil (1963) a Podlewska a Wachnik (1971). Weinzirol (1917) považoval *T. gallinarum* u kuřat za původce katarální enteritidy. Lee (1972), který studoval ultrastrukturu epitelu slepého střeva kuřat, experimentálně infikovaných *T. gallinarum*, nalézal trichomonády mezi epitelovými buňkami v mukóze a v lamina propria.

Početná skupina autorů se domnívá, že *T. gallinarum* může sekundárně pronikat do tkání či krevního oběhu hostitele (Delappe, 1957; Lund a Farr, 1965; Mohan aj., 1966).

Názor, že bičíkovci druhu *T. gallinarum* jsou nepatogenní prvoci, zastává třetí skupina autorů. Tyzzer (1919) prokázal, že původcem infekční enterohepatitis nejsou trichomonády, ale prvok *Histomonas meleagridis*. K podobným závěrům dospěli také Hinshaw aj. (1938)

a Hinshaw (1959). Řada autorů popisuje neschopnost *T. gallinarum* vyvolat onemocnění po experimentální infekci [Delappe, 1957; Reid, 1967]. Suchánková (1972) a Kulda aj. (1974), kteří se věnovali této problematice u nás, předpokládají, že intenzivní pomnožení trichomonád ve střevě drůbeže nemocné histomonózou může být příčinou diagnostických omylů.

Ke studiu patogenity *T. gallinarum* nás vedly případy častých úhynů husí s příznaky tzv. trichomonózy.

MATERIÁL A METODY

IZOLACE A KULTIVACE TRICHOMONÁD

Všech osm kmenů *T. gallinarum*, použitých v této studii, bylo izolováno v Československu. Šest kmenů (H1, H3—H7) bylo izolováno ze slepých střev či kloaky husí domácích a dva kmeny (A2, A6) ze slepých střev kachen domácích. Kromě kmene H7, který byl izolován z housera s příznaky tzv. trichomonózy (silně dilatovaná coeka šedobílé barvy, jejíchž lumen byl vyplněn odlitkem fibrinózně nekrotických hmot), byly všechny ostatní kmeny získány z hostitelů náhodně vybraných, bez klinických známek onemocnění.

Axenické kultury byly získány migrační technikou [Kulda, 1965] na půdě pro trichomonády (Imuna, Šarišské Michalany) nebo v médiu TYM [Diamond, 1957] s 10 % inaktivovaného koňského séra a s antibiotiky (1000—2000 IU penicilinu, 1 mg streptomycinu a 2 mg kanamycinu v 1 ml). Po dvou pasážích v tomto médiu byli bičíkovci přeočkováni do média bez antibiotik. Kultury ve třetí až páté pasáži byly s přísadou 5 % dimetylsulfoxidu zmrazeny a uchovávány v tekutém dusíku. Před experimentem byly tyto stabiláty rychle rozmrazeny a vyočkovány do média bez antibiotik. Celková doba kultivace v aktivní kultuře při teplotě 37 °C nepřesáhla tři týdny. Sterilita izolovaných kmenů byla ověřena standardními testy sterility.

Růstové křivky byly stanoveny v půdě pro trichomonády. Výchozí koncentrace byla 1×10^5 buněk v 1 ml média.

TESTY VIRULENCE

Virulence *T. gallinarum* byla hodnocena pomocí Honigbergova testu [Honigberg, 1961]. Každý kmen trichomonád byl otestován na 20 inbredních myších kmene CBA [samci o hmotnosti 20 g]. Každá myš, oholená na zádech a bocích, byla očkována dvěma vpichy subkutánně do střední oblasti boků. Jedním vpichem bylo injikováno 0,5 ml inokula, které obsahovalo 7×10^5 organismů. Velikost vytvořených podkožních abscesů byla měřena šestý den po inokulaci.

EXPERIMENTY NA KACHNÁCH A HUSÁCH

K experimentální infekcí byla používána kachňata a housata ve věku čtyř týdnů, která byla od prvního dne po vylhnutí chována v izolovaných místnostech a krmena směsí VKCH 1, resp. VCH 1. Ptáci byli infikováni metodou podle Dwyera a Honigberga (1970). Patnáct minut před inokulací byli zavěšeni do obrácené polohy — hlavou dolů. Každý jedinec obdržel 1 ml média TYM obsahujícího 2×10^6 trichomonád ve dvou 0,5 ml dávkách, pipetovaných do kloaky v půlhodinovém intervalu. Kontrolním ptákům byl do kloaky pipetován 1 ml sterilního média TYM výše uvedeným způsobem. Po druhé dávce zůstali ptáci ještě půl hodiny viset hlavou dolů.

Ptáci byli utráceni ve dvou- až tří denních intervalech od 6. do 21. dne po infekci. Z každého coeka a přilehlé oblasti tenkého střeva byly odebírány vzorky k histologickému i elektronmikroskopickému zpracování. Materiál určený k histologickému zpracování byl fixován 10% neutrálním formaldehydem a zpracován běžnou parařinovou technikou. Řezy silně 4—5 μ m byly barveny Harrisovým hematoxylinem a eosinem. Materiál určený pro elektronovou mikroskopii byl fixován 4% puřrovaným parařinalemdehydem (pH 7,2—7,4), dořixován 2% OsO₄ v kakodylátovém puřru, odvodněn alkoholovou řadou a přes propylenoxid montován do pryskyřice Durcupan ACM. Ultratenké řezy byly kontrastovány uranylacetátem a citrátem olova. Zároveň bylo prováděno rutinní bakteriologické vyřetřování.

VÝSLEDKY

RŮSTOVÉ POKUSY

Pro všechny kmeny použité v této práci byly stanoveny růstové křivky a vypočítány příslušné růstové konstanty, které jsou souhrnně uspořádány v tab. I. Generační doba se pohybovala od 2 h 36 min u kmene A2 do 4 h 44 min pro kmen H3. Nejrychleji rostoucí kmen A2 dosahoval na daném typu média také nejvyššího nárůstu. U všech kmenů byla zaznamenána lag fáze a fáze zrychlení.

TESTY VIRULENCE NA MYŠÍCH

Sedm kmenů *T. gallinarum* bylo podrobeno Honigbergovu testu na myších. Každý kmen byl otestován na 20 myších. V některých případech však docházelo k praskání vytvořených podkožních abscesů, takže byly neměřitelné. U všech kultur použitých k inokulaci myší byly provedeny zkoušky sterility. Stejným způsobem byla kontrolována sterilita obsahu namátkou vybraných abscesů. Ani v jediném případě nebyla zjištěna bakteriální kontaminace.

Průměrné objemy šestidenních podkožních abscesů (obr. 1) byly u testovaných kmenů rozdílné (tab. I). Hodnoty se pohybovaly od 129,98 do 185,63 mm³. Statistická průkaznost těchto rozdílů byla hodnocena srovnáním intervalů spolehlivosti průměrů, za předpokladu normálního rozložení, na 95% hladině významnosti. V níže uvedeném schématu, v němž jsou testované kmeny seřazeny podle vzrůstající virulence pro myši, nebyly statisticky významné rozdíly zjištěny mezi jednotlivými kmeny v podtržených skupinách.

H4 A6 H6 H5 A2 H3 H7

I. Výsledky růstových pokusů a subkutánních testů studovaných kmenů *T. gallinarum*
— Results of growth tests and subcutaneous tests with the studied strains of *T. gallinarum*

Kmen ¹	Generační doba ² hod : min	Celkový nárůst, počet organismů v 1 ml ³	Průměrný objem abscesů v 1 mm ³ ⁴
A2	2 : 36	10 473 000	173,38
A6	3 : 41	7 470 000	136,05
H1	4 : 42	3 097 000	netestován ⁵
H3	4 : 44	4 530 000	
H4	3 : 43	5 100 000	129,98
H5	3 : 32	5 063 000	154,18
H6	3 : 43	6 210 000	148,29
H7	4 : 06	5 434 000	185,63

¹strain, ²generation time, ³over-all increase, number of organisms in 1 ml, ⁴average number of abscesses in 1 mm³, ⁵not tested



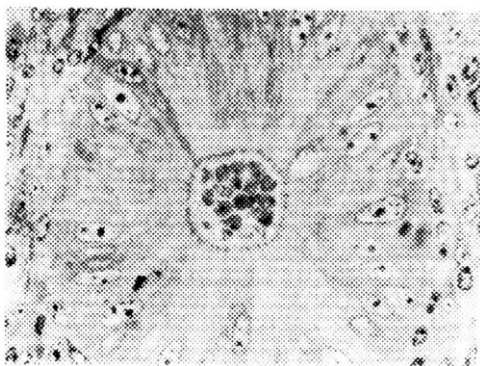
1. Podkožní abscesy šestého dne po inokulaci myši axenickou kulturou *T. gallinarum* — Subcutaneous abscesses on the sixth day after inoculation of mice with the axenic culture of *T. gallinarum*

EXPERIMENTÁLNÍ INFEKCE KACHEN A HUSÍ

Na základě výsledků Honigbergova testu byly k dalším experimentům na přirozených hostitelích vybrány kmeny H7 a A2 jako zástupci více virulentních a kmen A6 jako zástupce méně virulentních kmenů. Ve dvou experimentech bylo infikováno celkem 17 housat kmenem H7, 19 kachňat kmenem A6 a 20 kachňat kmenem A2.

Trichomonády byly zjištěny ve slepém střevě všech infikovaných ptáků. V coeku kontrolních ptáků (5 housat, 6 kachňat) nalezeny nebyly. Makroskopicky nebyly na játrech ani ve slepém střevě pozorovány žádné patologické změny. Bakteriologickým vyšetřením byla ve střevním obsahu prokázána přítomnost *E. coli* a *Proteus sp.* U všech skupin pokusných i kontrolních ptáků byly bakteriologické nálezy totožné.

Jak na histologických preparátech, tak i na elektronmikroskopických snímcích jsme nepozorovali žádné poškození epitelu, ani průnik trichomonád do tkání, přestože jsme je nalézali ve velkém množství mezi klky a v lumenu Lieberkühnových krypt (obr. 2, 3).



2. *T. gallinarum* v kryptě coeka [polotenký řez, zv. 600×] — *T. gallinarum* in a crypt in the caecum [half-thin slice, magnif. 600×]



3. *T. gallinarum* v coeku mezi klky [TEM, zv. 5200×] — *T. gallinarum* in the caecum between the villi [TEM, magnif. 5200×]

DISKUSE

Jak vyplývá z této studie, rozdíly mezi jednotlivými kmeny *T. gallinarum* zjištěné na základě subkutánních myších testů se neprojevíly po naočkování do specifických hostitelů. Ke stejnému závěru dospěli také K u l d a aj. (1974). Neprokázali jsme ani korelaci mezi velikostí abscesů a růstovou rychlostí, která je důležitým faktorem určujícím virulenci mnoha patogenních mikroorganismů.

Z výsledků uvedených v této práci je zřejmé, že námi testované kmeny *T. gallinarum* nejsou primárními patogeny kachen a husí, přestože jeden z použitých kmenů byl izolován z případu tzv. trichomonózy. Tento závěr je v rozporu s názory těch autorů, kteří považují *T. gallinarum* za původce vážných onemocnění dolního zažívacího traktu drůbeže. Patologické změny popsané při tzv. trichomonádových enterohepatitidách jsou téměř nerozeznatelné od histomonózy. Ačkoliv se A l l e n o v á (1941) pokusila vymezit difference mezi jaterními lézemi způsobenými trichomonádami a histomonádami, další poznatky uvádějí takováto rozlišení v pochybnost (D e s o w i t z, 1951). Je tedy pravděpodobné, že údajné trichomonádové enterohepatitidy byly ve skutečnosti působené histomonádami. V některých případech je to zcela zřejmé z morfologického popisu prvoků (H a d l e y, 1916; C i o l c a aj., 1960).

Velká skupina autorů, kteří považují trichomonády za příčinu vážných onemocnění, se opírá pouze o kultivační či mikroskopický nález těchto prvoků v orgánech. V tomto případě může snadno dojít k omylu, zejména jde-li o současnou infekci trichomonád a histomonád. Je známo, že mikroskopická diagnostika histomonád je velmi obtížná, zvláště pokud není vyšetřován čerstvý materiál. Navíc k vyvolání enterohepatitidy stačí inokulace pouhých deseti jedinců *H. meleagridis* (L u n d, 1955).

V našich experimentech nebyl prokázán průnik *T. gallinarum* do tkáňní hostitele, což je v souladu se závěry L e v i n a (1961), R e i d a (1967) a K u l d y aj. (1974). L e e (1972) však nalézal tyto bičíkovce na ultratenkých řezech coekem klinicky asymptomatických kuřat mezi epitelovými buňkami v mukóze a sporadicky též v *lamina propria*. V místech těsného kontaktu trichomonád s epitelovými buňkami pozoroval redukci mikrovilů. Poněvadž, jak autor uvádí, byly v materiálu přítomné i bakterie, nelze vyloučit možnost, že měly určitý význam v počátku invaze tkání.

Závěrem je možné konstatovat, že *T. gallinarum* lze stěží považovat za závažného patogena. Ovšem jeho intenzivní pomnožení ve střevě drůbeže může být příčinou diagnostických omylů.

Literatura

- ALLEN, E. A.: Macroscopic differentiation of lesions of histomoniasis and trichomoniasis in turkeys. Amer. J. veter. Res., 2, 1941, s. 214—217.
CIOLCA, A. L. — MEDREA, N. — NEGRU, D. — SIRBU, Z. — SÂNDULESCU, S. — STOICAN, E.: Cercetari epizootologice si de laborator in trei focare de trichomonoza aviara produsa de *Trichomonas gallinarum*. Lucr. stiint. Inst. Patol. Ig. anim., 10, 1960, s. 277—288.
DELAPPE, I. P.: Effect of inoculating the chicken and the turkey with a strain of *Trichomonas gallinarum*. Exp. Parasit., 6, 1957, s. 412—417.
DESOWITZ, R. S.: Age as a factor influencing fatal infections of histomoniasis in chickens. J. Comp. Path. Ther., 61, 1951, s. 231—236.
DIAMOND, L. S.: The establishment of various trichomonads of animals and man in axenic cultures. J. Parasit., 43, 1957, s. 488—490.

- DWYER, D. M. — HONIGBERG, B. M.: Effect of certain laboratory procedures on the virulence of *Histomonas meleagridis* for turkeys and chickens. J. parasit., 56, 1970, s. 698—700.
- HADLEY, P. B.: The avenue and development of tissue infection in intestinal trichomoniasis. Rhod. Isl. Agric. Exp. Station Bull., 168, 1916, s. 1—64.
- HINSHAW, W. R.: Diseases of the turkey. In: Biester-Schwarte: Diseases of Poultry, Iowa State Univ. Press, Amer., 4th ed., 1959, s. 974—1076.
- HINSHAW, W. R. — McNEIL, E. — KOFOID, C. A.: The relationship of *Hexamita* sp. to an enteritis of turkey poults. Cornell Veter., 28, 1938, s. 281.
- HONIGBERG, B. M.: Comparative pathogenicity of *Trichomonas vaginalis* and *Trichomonas gallinae* for mice. I. Gross pathology, quantitative evaluation of virulence, and some factors affecting pathogenicity. J. Parasit., 47, 1961, s. 545—571.
- KULDA, J.: Studie o morfologii, kultivaci a testování virulence bičíkovců čeledi *Trichomonadidae*. [Kandidátská disertace.] Praha 1965. — Univerzita Karlova. Fakulta přírodovědecká.
- KULDA, J. — SUCHÁNKOVÁ, E. — SVOBODA, S.: Studies on pathogenicity of *Tetratrichomonas gallinarum* in mice and turkey poults. Acta Veter. [Brno], 43, 1974, s. 53—64.
- LEE, D. L.: Changes in the ultrastructure of the caecum of chickens caused by *Trichomonas gallinarum*. Parasitology, 65, 1972, s. 71—76.
- LEVINE, N. D.: Protozoan parasites of domestic animals and of man. Burgess, Minneapolis, Minnesota, 1961.
- LUND, E. E.: The progress of histomoniasis (Blackhead) in turkeys as related to the size of the infective dose. Poult. Sci., 34, 1955, s. 127—130.
- LUND, E. E. — FARR, M. M.: Protozoa: In: Biester-Schwarte: Diseases of Poultry, Iowa State Univ. Press, Amer., 5th ed., 1965, s. 1056—1148.
- MOHAN, R. N. — SHARMA, K. N. — MEHROTRA, M. L.: *Tetratrichomonas gallinarum* in the blood of chickens infected with spirochetes. J. Protozool., 13, 1966, s. 341—344.
- PODLEWSKA, D. — WACHNIK, Z.: Trichomonadoza u kurczat. Med. wet., 27, 1971, s. 75—76.
- REID, M. W.: Etiology and dissemination of the blackhead disease syndrome in turkeys and chickens. Exp. Parasit., 21, 1967, s. 249—275.
- SUCHÁNKOVÁ, E.: Otázka patogenity *Tetratrichomonas gallinarum*. [Diplomová práce.] Praha 1972. — Univerzita Karlova. Fakulta přírodovědecká.
- TYZZER, E. E.: Developmental phase of the protozoan of "blackhead" in turkeys. J. med. Res., 40, 1919, s. 1—30.
- WEINZIRL, J.: Trichomoniasis of chick: a new and highly fatal disease. J. Bact., 2, 1917, s. 441—445.
- ZAVADIL, R.: Trichomonioza slepých střev u mladých krůtat. Sbor. Vys. Šk. zeměd., Brno, B 11, 1963, s. 109—114.

Došlo dne 3. 4. 1990

PECKA, Z. (Parasitology Institute of the Czechoslovak Academy of Sciences, České Budějovice): Study on the pathogenicity of *Tetratrichomonas gallinarum*. Veter. Med. [Praha], 36, 1991 [3]: 183—188.

Eight axenic strains of *Tetratrichomonas gallinarum* were isolated from the caeca or cloacae of ducks and geese. Different growth curves were determined for each of the strains and the generation times were calculated, ranging from 2 h 36 min to 4 h 44 min. The axenic cultures of seven *T. gallinarum* strains were subjected to the Honigberg test on inbred mice. The average volumes of the six-day-old subcutaneous abscesses ranged from 129.98 to 185.63 mm³. Selected strains of trichomonads were used for experimental infection of ducks and geese. Neither the macroscopic examination nor the microscopic analysis did find any greater pathological changes in the mucosa of the caecum of the birds, though the *Trichomonas* organisms were observed in large quantities among the villi in the crypts. It is believed on the basis of the results that the species *T. gallinarum* carries no primary pathogenicity to the specific hosts.

ducks; geese; inbred mice; pathogenicity; trichomonosis; *Trichomonas gallinarum*

Adresa autora:

RNDr. Zdeněk Pecka, CSc., Parazitologický ústav ČSAV, Branišovská 31, 370 05 České Budějovice

POKYNY PRO AUTORY VĚDECKÉHO ČASOPISU VETERINÁRNÍ MEDICÍNA

Časopis Veterinární medicína uveřejňuje původní práce, recenze apod.

Autor je plně odpovědný za původnost práce a za její věcnou i formální správnost. K práci musí být připojeno prohlášení autora o tom, že práce nebyla publikována jinde.

O uveřejnění práce rozhoduje redakční rada časopisu, a to se zřetelem k lektorským posudkům, vědeckému významu a přínosu i kvalitě prací.

Je třeba, aby autoři přesně dodržovali tyto pokyny:

Jednotlivé práce nemají mít rozsah větší než 10 až 12 stran psaných na stroji se všemi přílohami. Autoři nechtě se vyvarují nadměrného množství tabulek a zařazují raději grafy.

Technická úprava rukopisu

Úprava rukopisu má odpovídat ČSN 88 0220 (formát A4, 30 řádek na stránku, 60 úhozů na řádku, tzn., že mezi řádky se dělají dvojité mezery). Ilustrace, grafy, tabulky a fotografie (černobílé) mají vyhovovat ČSN 88 2109, dodávají se zvlášť a nepodlepují se. Rýsují se tuší na bílý nebo pauzovací papír a popisují se jednotnou velikostí písma (šablona 3,5 mm). Na zadní straně se vyznačí tužkou pořadové číslo obrázku a napíše se jméno autora článku. Texty k obrázkům se dodávají na zvláštním listě, umístění obrázků se označuje na levém okraji příslušné strany rukopisu číslicí v kroužku. Tabulky se číslují římskými číslicemi. Na všechny obrázky i tabulky musí být v textu práce odkazy. Pro překlad do angličtiny je nutné vysvětlit všechny použité zkratky.

Úprava vlastní práce

Název práce (titul) nemá přesahovat 85 úhozů. Je nutné se v názvu vyvarovat obecných frází jako: Studie o . . . , Příspěvek k . . . , Pokus o . . . Každý zaslaný článek musí být samostatnou prací, nemohou být publikovány články na pokračování, označené např.: Studie o . . . I., II., III. atd., stejně tak jsou vyloučeny podtituly článků.

Jména autorů se uvádějí bez titulů — příjmení a první písmeno jména.

Souhrn

Vypracování souhrnu je nutné věnovat obzvláštní péči. Autor do něho má shrnovat vše, co je na jeho práci pozoruhodné

a nové a co má být dokumentováno. Souhrn má být nekritickým informačním výběrem významného obsahu a závěru, nikoliv však jeho pouhým popisem. Musí vyjádřit všechno podstatné, co je obsaženo ve vědecké práci, nemá ji však nahradit. Nesmí překročit rozsah 170 slov. Je třeba, aby byl psán celými větami, nikoliv telegrafickým způsobem. Pro překlad do angličtiny se požaduje souhrn delší (do dvou rukopisných stran) s odkazy na tabulky a obrázky, popř. s anglickými odbornými termíny nebo už přeložený do angličtiny. Souhrn začíná jménem autorů, názvem pracoviště a jeho sídlem (v závorce), titulem článku a citací: Veter. Med. (Praha), 00, 1990. Místa označená nulami doplní na kompletní citaci při korektuře redakce.

Klíčová slova (Key words, index terms)

Pod souhrn je nutno po vynechání řádky připojit klíčová slova. Ta mají sloužit:

- a) k rychlé orientaci (jakýsi „zkrácený referát“);
- b) při zařazování práce do kartotéky.

Klíčových slov by nemělo být méně než 3 a více než 12. Začínají malým písmenem a oddělují se středníkem.

Úvod

Úvod má obsahovat hlavní důvody, proč byla práce uskutečněna, a velmi stručnou formou stav studované otázky. Je nutné se v něm vyhnout rozsáhlým historickým přehledům. Uvádí se bez nadpisu, je možné v něm uvést k práci se vztahující citaci autorů (doporučuje se co nejnížší počet citací — čtyři až osm autorů).

Materiál a metody

Metody se popisují pouze tehdy, jsou-li původní, jinak postačuje citovat autora metod a uvádět jen případné odchylky. Je v nich popsán pokusný materiál. Popis metod by měl umožnit, aby kdokoliv z odborníků mohl podle něho a při použití uvedených citací práci opakovat.

Výsledky

Doporučuje se nepoužívat k vyjádření kvantitativních stavů tabulek a dát přednost grafům nebo tabulky shrnout ve statistickém hodnocení naměřených hodnot. Tato část by neměla obsahovat teoretické závěry ani dedukce, ale pouze faktické nálezy.

Diskuse

Diskuse obsahuje zhodnocení práce. Diskutuje se o možných nedostacích a práce se konfrontuje s výsledky dříve publikovanými (požaduje se citovat jen ty autory, kteří mají k publikované práci bližší vztah), pokud mají souvislost, nebo pokud jsou s předloženou prací nějak srovnatelné.

Poděkování

Je-li to nutné, uvádí se stručné poděkování (jedna až dvě věty), např.: za technickou spolupráci, za pomoc při statistickém zpracování a poskytnutí méně běžného léčiva apod.

Literatura

V textu se při citaci uvede jméno autora a rok publikování. Do seznamu se zařadí všechny práce citované v textu článku, a to podle abecedy, bez číslování, každá citace na novém řádku. Je-li více prací od téhož autora ve stejném roce, přidá se k letopočtu označení a, b, c.

Literatura musí odpovídat ČSN 01 0197.

Zkratky názvů časopisů je třeba dodržovat podle publikace doc. Bojňanského a kol., vydané v roce 1982 Slovenskou akadémiou vied pod názvom Periodiká z oblasti biologicko-poľnohospodárskych vied, ich citácie a skratky.

Adresa autora

Na zvláštním listě uvede autor akademický titul, jméno (ne jen zkratku), příjmení, vědeckou hodnost a podrobnou adresu pracoviště s PSČ. Totéž uvede i pro spoluautory.

INZERCE

Redakce časopisu nabízí tuzemským i zahraničním firmám možnost inzerce na stránkách časopisu VETERINÁRNÍ MEDICÍNA. Prostřednictvím inzerátů uveřejňovaných v našem časopise budou o Vašich výrobcích informováni pracovníci z výzkumu a provozu u nás i v zahraničí.

Bližší informace získáte na adrese:

Redakce časopisu VETERINÁRNÍ MEDICÍNA

k rukám ing. Z. Radošové

Ústav vědeckotechnických informací pro zemědělství

Slezská 7

120 56 Praha 2

ADVERTISEMENT

The Editors of the magazine offer to the Czechoslovak as well as foreign firms the possibility of advertising on pages of the VETERINÁRNÍ MEDICÍNA magazine. Through your adverts published in our magazine, the specialists both from the field of research and production will be informed about your products.

For a more detailed information, please contact:

VETERINÁRNÍ MEDICÍNA

atth. ing. Zdena Radošová

Ústav vědeckotechnických informací pro zemědělství

Slezská 7

120 56 Praha 2

Upozorňujeme čtenáře, že v čísle 4/91 vědeckého časopisu

VETERINÁRNÍ MEDICÍNA

mají být uveřejněny tyto příspěvky:

- I. Šimoník, J. Pavelka, E. Kudláč: Kontaminace cervikálního hleny krav chemickými prvky ve vztahu ke koncepci a věku
- J. Feješ, I. Breyl, H. Šalित्रová: Detekcia reziduí niektorých cudzorodých látok v tkanivách genitálu býkov a kráv a v sperme býkov
- J. Mazurová, P. Vinter: Účinnost vybraných antibiotik na mikroorganismy kontaminující ejakuláty kanců
- M. Kudweis, Z. Lojda, I. Juliš: β -D-glukosidáza mikrovilózní zóny enterocytů tenkého střeva při experimentální kokcidióze sajících selat
- V. Svobodová: Sarkocystóza jehňat
- J. Ruprich, V. Ostrý: Enzymoimunologické stanovení mykotoxinu ochratoxin A
- I. Tomancová, L. Steinhäuser, Z. Matyáš: Technologické vlivy působící na přežívání *Campylobacter jejuni* v potravinách živočišného původu

Rukopisy odevzdány k tisku 8. 4. 1991 — Podepsáno k tisku 22. 8. 1991

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 25 75 41 • Vytiskly OSTRAVSKÉ TISKÁRNY, s. p., Ostrava 1, Novinářská 7 © 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, 28. října 206, 709 90 Ostrava 9.