

VĚDECKÝ ČASOPIS

NKF

1166/92

II. díl



# VETERINÁRNÍ MEDICÍNA

P II 4

15. září 1993



7

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

ČESKOSLOVENSKÁ AKADEMIE ZEMĚDĚLSKÁ  
ÚSTAV VĚDECKOTECHNICKÝCH INFORMACÍ  
PRO ZEMĚDĚLSTVÍ

Řídí redakční rada: doc. MVDr. Karel Hruška, CSc. [předseda], prof. MVDr. Jan Bouda, DrSc., prof. MVDr. Bohumír Hofírek, DrSc., doc. MVDr. Gabriel Kováč, DrSc., doc. MVDr. Imrich Maraček, CSc., MVDr. Zdeněk Pospíšil, CSc., doc. MVDr. Ivan Rosíval, CSc., prof. MVDr. Bohumil Ševčík, DrSc.

Vedoucí redaktorka ing. Zdeňka Radošová

## OBSAH

|                                                                                                                                                                                                                                                                            |     |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| Lazár L., Hajurka J.: Koncentrácie cAMP, cGMP, 17 beta-estradiolu a progesteronu vo folikulárnej tekutine najväčšieho folikulu kráv z folikulárnej fázy pohlavného cyklu a po superovulačnom ošetrení so sérovým gonadotropínom . . . . .                                  | 385 |
| Růžičková V.: Nové poznatky v biotypizaci <i>Staphylococcus aureus</i> z prvovýroby mléka . . . . .                                                                                                                                                                        | 393 |
| Kudweis M., Lojda Z., Juliš I., Lenhardt L., Marčaník J.: Aktivita dehydrogenáz ve sliznici tenkého střeva při experimentální kokcidioze sajících selat . . . . .                                                                                                          | 401 |
| Holub A.: Konzum vody selaty časné odstavovanými v různém věku na tekutou dietu . . . . .                                                                                                                                                                                  | 415 |
| Žuffa A., Salajka E., Zajac J., Salajková Z., Žuffa T., Alexa P.: Protilátková odpoveď myši, králikov a prasiat vyvolaná očkovaním inaktivovanou olejovou vakcínou s obsahom rotavírusu a kmeňov <i>Escherichia coli</i> s fimbriovými antigénmi K88, K99 a 987P . . . . . | 423 |
| Bekeová E., Krajničáková M., Hendrichovský V., Maraček I.: Vplyv synchronizačného ošetrenia v sezónnom období a v gravidite oviec na koncentrácie tyroxínu, trijódtyronínu, 17 beta-estradiolu, progesterónu a cholesterolu . . . . .                                      | 433 |

## CONTENTS

|                                                                                                                                                                                                                                                                                      |     |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| Lazár L., Hajurka J.: Concentrations of cAMP, cGMP, 17 beta-estradiol and progesterone in the follicular fluid of the largest cow follicle in the follicular phase of sexual cycle and after superovulation treatment with serum gonadotrophin . . . . .                             | 391 |
| Růžičková V.: Recent knowledge of biotypes of <i>Staphylococcus aureus</i> strains isolated in dairy farms . . . . .                                                                                                                                                                 | 398 |
| Kudweis M., Lojda Z., Juliš I., Lenhardt L., Marčaník J.: The activity of dehydrogenases in the small intestine mucosa during experimental coccidiosis of suckling piglets . . . . .                                                                                                 | 412 |
| Holub A.: Water consumption in weaning piglets transferred to liquid food at different age . . . . .                                                                                                                                                                                 | 422 |
| Žuffa A., Salajka E., Zajac J., Salajková Z., Žuffa T., Alexa P.: Development of antibodies in mice, rabbits and pigs after administration of an inactivated oil vaccine containing rotavirus and <i>Escherichia coli</i> strains with fimbrial antigens K88, K99 and 987P . . . . . | 431 |
| Bekeová E., Krajničáková M., Hendrichovský V., Maraček I.: Influence of synchronization treatment in the seasonal period and of sheep gravidity on concentrations of thyroxine, triiodothyronine, 17 beta-estradiol, progesterone and cholesterol . . . . .                          | 443 |

NÁRODNÍ KNIHOVNA



1000931348

# KONCENTRÁCIE cAMP, cGMP, 17 BETA-ESTRADIOLU A PROGESTERÓNU VO FOLIKULÁRNEJ TEKUTINE NAJVÄČŠIEHO FOLIKULU KRÁV Z FOLIKULÁRNEJ FÁZY POHLAVNÉHO CYKLU A PO SUPEROVULAČNOM OŠETRENÍ SO SÉROVÝM GONADOTROPÍNOM

L. Lazár, J. Hajurka

LAZÁR, L. — HAJURKA, J. (Ústav experimentálnej veterinárnej medicíny, Košice): *Koncentrácie cAMP, cGMP, 17 beta-estradiolu a progesterónu vo folikulárnej tekutine najväčšieho folikulu kráv z folikulárnej fázy pohlavného cyklu a po superovulačnom ošetrení so sérovým gonadotropínom*. Veter. Med. (Praha), 36, 1991 (7): 385—392.

Porovnávali sme koncentrácie 17 beta-estradiolu ( $E_2$ ), progesterónu ( $P_4$ ), cyklického adenosínmonofosfátu (cAMP) a cyklického guanosínmonofosfátu (cGMP) vo folikulárnej tekutine najväčších folikulov kráv v závislosti na steroidnej dominancii (estrogén dominantné-ED, progesterón dominantné-PD) z vaječníkov získaných od kráv so synchronizovanou rujou cloprostenolom (Oestrophon, Spofa) a superovulovaných PMSG (Sérový gonadotropín, Bioveta, Ivanovice na Hané) a to 48 a 72 hodín po druhej dávke cloprostenolu a kontrolných kráv vo folikulárnej fáze neovplyvneného pohlavného cyklu. Priemerné koncentrácie cAMP boli v ED folikuloch z folikulárnej fázy pohlavného cyklu významne vyššie než pri kravách so stimulovaným rastom folikulov 48 resp. 72 hodín po druhej dávke cloprostenolu. Pri PD folikuloch boli koncentrácie cAMP a cGMP z folikulárnej fázy pohlavného cyklu tiež vyššie ako po stimulácii rastu folikulov, ale bez signifikancie. Priemerné koncentrácie  $E_2$  v ED folikuloch boli najvyššie 48 hodín po druhej dávke cloprostenolu, významne vyššie ako po 72. hodine pri  $P < 0,01$ , alebo vo folikulárnej fáze pohlavného cyklu pri  $P < 0,01$ . Pri PD folikuloch sa najvyššie koncentrácie  $E_2$  zistili vo folikuloch z folikulárnej fázy pohlavného cyklu vyššie ako po navodení ich rastu v 48. hodine resp. 72 hodín po druhej dávke cloprostenolu bez zistenia štatistickej významnosti. Priemerné koncentrácie  $P_4$  boli vyššie ako v ED, tak PD folikuloch po ošetrení syntetickým analógom PGF $_{2\alpha}$  so sérovým gonadotropínom v porovnaní s folikulmi z folikulárnej fázy pohlavného cyklu kráv pri PD folikuloch vysoko signifikantne ( $P < 0,001$ ). Výrazné rozdiely v koncentráciách cAMP, cGMP a  $P_4$  vo folikuloch z folikulárnej fázy pohlavného cyklu a po superovulačnom ošetrení s PMSG poukazujú na možný negatívny vplyv sérového gonadotropínu na vnútorné prostredie a vývoj predovulačných folikulov.

cAMP; cGMP; 17 beta-estradiol; progesterón; superovulácia; PMSG (sérový gonadotropín)

Rozmnožovanie cicavcov je zložitý proces, ktorý je založený na produkcii oocyту, ktorý je schopný oplodnenia a ďalšieho vývoja v plnohodnotné embryo. Preto poznatky okolo vývoja a rastu folikulov pri normálne cykľujúcich zvieratách sú východiskom pri výbere používania synchronizačných a superovulačných postupov, resp. terapie ovulačných porúch.

Pohlavný cyklus je regulovaný interakciou hormónov hypotalamo-hypofyzáro-ovariálnej osi. Hlavnú bezprostrednú úlohu zohrávajú gonadotropíny, ktoré prostredníctvom adenylát cyklázového systému a cAMP ako druhého posla [Kolena a Channing, 1972; Marsch, 1975] aktiváciou bunecných enzýmov steroidogenézy [Robinson a i., 1970] regulujú rast a zrenie folikulov a syntézu steroidov folikulárnymi bunkami [Erickson, 1986]. Dynamika zmien v syntéze steroidov odráža steroidogénnu kapacitu folikulov [Byskov a i., 1979] a je dobrým indikátorom ako morfológických, tak funkčných zmien folikulov [Brailly a i., 1981; Lazár, 1987]. Estrogénna dominancia folikulov je znakom rastúceho vyvíjajúceho sa folikulu, progesterónová znakom atrezie a luteinizácie. Zmena estrogénnej dominancie predovulačných folikulov po LH vrchole na dominanciu progesterónovú krátko pred ovuláciou [Dieleman, 1984] má veľký význam pri zrení oocytov [McGaughery, 1977] pravdepodobne odstránením určitého inhibičného vplyvu estradiolu na pokračovanie meiotického zrenia oocytov [Ainsworth a i., 1980]. Účinok cyklických nukleotidov a steroidov na harmonické zrenie oocytov je komplexný proces. Odchýlky od fyziologických zmien steroidogenézy predovulačných folikulov môžu mať negatívny vplyv na plnohodnotnosť produkovaných oocytov [Kruip a i., 1983].

Cieľom práce bolo porovnať úroveň koncentrácií 17 beta-estradiolu, progesterónu, cAMP a cGMP vo folikulárnej tekutine najväčšieho folikulu kráv z folikulárnej fázy fyziologického pohlavného cyklu a folikulov po synchronizácii [PGF<sub>2</sub>alfa] ruje cloprostenolom a superovulačnom ošetroaní so sérovým gonadotropínom (PMSG) v závislosti od steroidnej dominancie folikulov.

## MATERIÁL A METÓDY

Na superovulačné ošetrovanie sa zaradilo na základe rektálneho nálezu 2×25 kráv kríženiek SS×NČ určených na vyraďenie. Vybrané boli len zvieratá s aktívnym žltým telieskom. Na synchronizáciu ruje sa aplikoval cloprostenol čs. proveniencie Oestrophon Spofa v dávke 500 µg v jednej dávke. Na 11. deň od prvej dávky sa aplikovala druhá dávka 500 µg cloprostenolu, pričom 48 hodín pred druhou dávkou sa podal Sérový gonadotropín (Bioveta, Ivanovice na Hané) v dávke 2500 m. j. Zvieratá sa po 48. hodine resp. 72. hodine po druhej dávke cloprostenolu zabili na bitútku. Do sledovania sa vybrali vaječníky od 2×13 kráv, ktoré dobre reagovali na synchronizáciu a superovuláciu.

Vaječníky od kontrolných kráv vo folikulárnej fáze pohlavného cyklu sa získali na bitútku po ich vykrvení do 30 minút od ich zabitia. Fáza pohlavného cyklu sa určila podľa metódy Irelanda a i. (1980) na základe morfológického vzhľadu žltého telieska [žlté teliesko v regresii menšie ako 1 cm, svetlohnedé až biele, po narezaní oranžové až žlté] a prítomnosti veľkého predovulačného folikulu. Správnosť určenia fázy pohlavného cyklu sa podložila stanovením priemernej koncentrácie progesterónu v krvnom sére ( $2,71 \pm 0,6 \text{ nmol.l}^{-1}$ , t. j.  $0,85 \text{ ng.ml}^{-1}$ ) zvierat, od ktorých sa vaječníky odobrali, ako aj prítomnosti čierneho hlienu v maternici. Pri porovnávaní koncentrácií sledovaných parametrov sa to vždy robilo medzi rovnakými kategóriami folikulov, v približne rovnakom štádiu rastu (estrogén dominantné folikuly s estrogén dominantnými folikulami a progesterón dominantné s progesterón dominantnými). Získané vaječníky sa uložili do ľadového fyziologického roztoku až do spracovania. Do pokusu sa zaradilo 31 párov vaječníkov, na ktorých zo 47 ks najväčších folikulov bola spirovaná folikulárna tekutina. Táto sa centrifugovala na chladiacej centrifúge pri 3000 G. Supernatant sa oddelil a uložil do mrazničky pri teplote  $-18^\circ\text{C}$  až do spracovania.

K stanoveniu 17 beta-estradiolu a progesterónu vo folikulárnej tekutine sa použili súpavy z ÚRVJT [Košice] pod typovým označením RIA-testo-Estra [SI-125-9] resp.

RIA-test-Prog (SI-125-6). Folikulárna tekutina bola riedená 1,5% hovädzím gamaglobulínom. Intra- a interassay koeficientom variácií použitej metódy spracovania 17 beta-estradiol RIA súpravy bola 10,1 a 13,3 % pre progesterón RIA-súpravy 11,4 a 13,7 %.

Koncentrácie cyklických nukleotidov sa stanovili RIA súpravami z ÚVVVR (Praha). Koeficient variácií intra- a interassay zvolenej metódy s použitými súpravami pre cAMP tapového označenia cAMP<sup>125</sup>I RIA kit (RIO12) boli 9,1 a 11,4 %. Koeficient variácií pre súpravy cGMP<sup>125</sup>I RIA (RIO42) bol 9,8 a 11,6 %. Na určenie steroidnej dominancie folikulov sa použila metóda Callesen a i. [1986], založená na vyjadrení vzájomného indexu pomeru medzi progesterónom a 17 beta-estradiolom. Folikuly s indexom podielu koncentrácií progesterónu a estradiolu menším ako 0,8 sa považovali za estrogén dominantné, od 0,8 až 1,2 za folikuly v prechodnej fáze vývoja a s indexom nad 1,2 za folikuly progesterón dominantné.

Testovanie významnosti medzi dvoma súbormi hodnôt sa robilo nepárovým Studentovým *t*-testom po predchádzajúcom testovaní významnosti rozdielu medzi smerodajnými odchýlkami pomocou *F*-testu (Sokal a Rohlf, 1989). Štatistická závislosť korelačných vzťahov jednotlivých dvojíc hodnôt sa analyzovala metódou lineárnej korelácie. Samotné štatistické analýzy boli robené na mikropočítači ZX Spectrum štatistickým programom Stat 87. Výsledky sú uvádzané v  $\text{nmol.l}^{-1} \pm \text{SEM}$ .

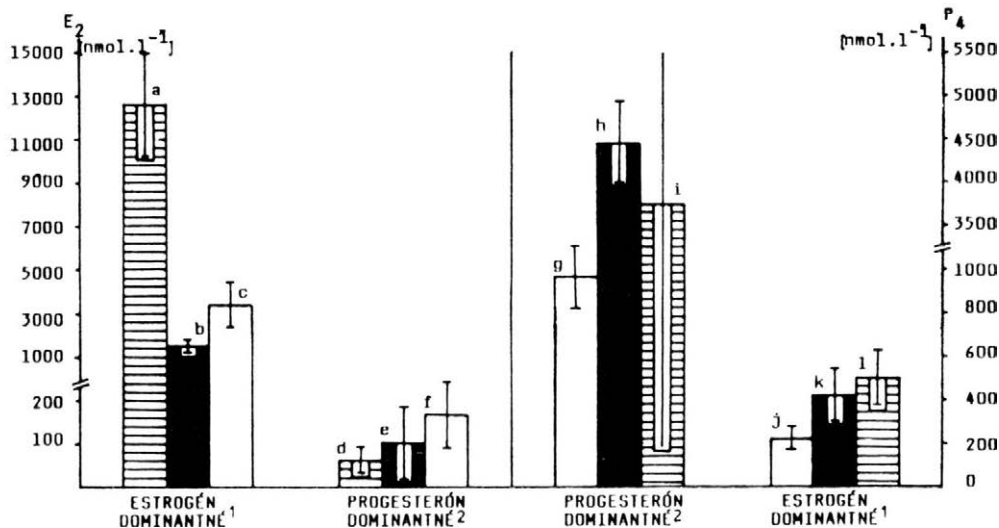
## VÝSLEDKY

Pri porovnaní priemerných koncentrácií steroidov vo folikulárnej tekutine medzi folikulami z folikulárnej fázy fyziologického pohlavného cyklu a folikulmi po superovulačnom ošetrení sérovým gonadotropínom (PMSG) 48 a 72 hodín po aplikácii druhej dávky cloprostenolu sa zistilo, že priemerné koncentrácie estradiolu v estrogén dominantných folikuloch z fyziologického pohlavného cyklu boli vyššie  $3402,2 \pm 1237,1 \text{ nmol.l}^{-1}$  oproti koncentráciám v estrogén dominantných folikuloch superovulovaných kráv, 72 hodín po aplikácii druhej dávky cloprostenolu  $1502,8 \pm 238,4 \text{ nmol.l}^{-1}$  folikulárnej tekutiny. Na druhej strane boli významne nižšie než vo folikuloch 48 hodín po aplikácii druhej dávky cloprostenolu  $12\,614,0 \pm 2404,0 \text{ nmol.l}^{-1}$  tekutiny, a to je na hranici štatistickej významnosti. Priemerné koncentrácie estradiolu v progesterón dominantných folikuloch boli vyššie v čase folikulárnej fázy cyklu  $167,0 \pm 77,5 \text{ nmol.l}^{-1}$  folikulárnej tekutiny oproti folikulom zvierat superovulačne ošetrených 48 hodín  $59,13 \pm 30,0$  a 72 hodín  $100,19 \pm 86,86 \text{ nmol.l}^{-1}$  od aplikácie druhej dávky cloprostenolu.

Priemerné koncentrácie progesterónu ako v estrogén tak v progesterón dominantných folikuloch  $219,9 \pm 53,5 \text{ nmol.l}^{-1}$  resp.  $883,1 \pm 355,5 \text{ nmol.l}^{-1}$  boli nižšie vo folikulárnej fáze pohlavného cyklu ako po superovulačnom ošetrení s PMSG 48 hodín od aplikácie druhej dávky cloprostenolu  $490,81 \pm 125,0 \text{ nmol.l}^{-1}$  resp.  $3729,4 \pm 2857,7 \text{ nmol.l}^{-1}$  a 72 hodín  $421,7 \pm 124,8$  resp.  $4436,1 \pm 489,1 \text{ nmol.l}^{-1}$  pri progesterón dominantných folikuloch významne  $P < 0,001$  (obr. 1).

Koncentrácie cAMP pri superovulačnom ošetrení v estrogén dominantných folikuloch boli signifikantne nižšie po 48 hodinách od aplikácie druhej dávky cloprostenolu  $26,17 \pm 0,4 \text{ nmol.l}^{-1}$  folikulárnej tekutiny po 72 hodinách  $26,3 \pm 3,2 \text{ nmol.l}^{-1}$  ako v estrogén dominantných folikuloch a folikulárnej fázy pohlavného cyklu  $71,4 \pm 0,7 \text{ nmol.l}^{-1}$  v oboch prípadoch významné  $P < 0,01$ . Pri progesterón dominantných folikuloch sa medzi porovnávanými skupinami nezistili žiadne signifikantné zmeny. Pri superovulovaných kravách 48 a 72 hodín po aplikácii druhej dávky cloprostenolu boli priemerné koncentrácie cAMP  $2,1 \text{ nmol.l}^{-1}$  vo folikulárnej fáze pohlavného cyklu  $20,3 \pm 4,6 \text{ nmol.l}^{-1}$ .

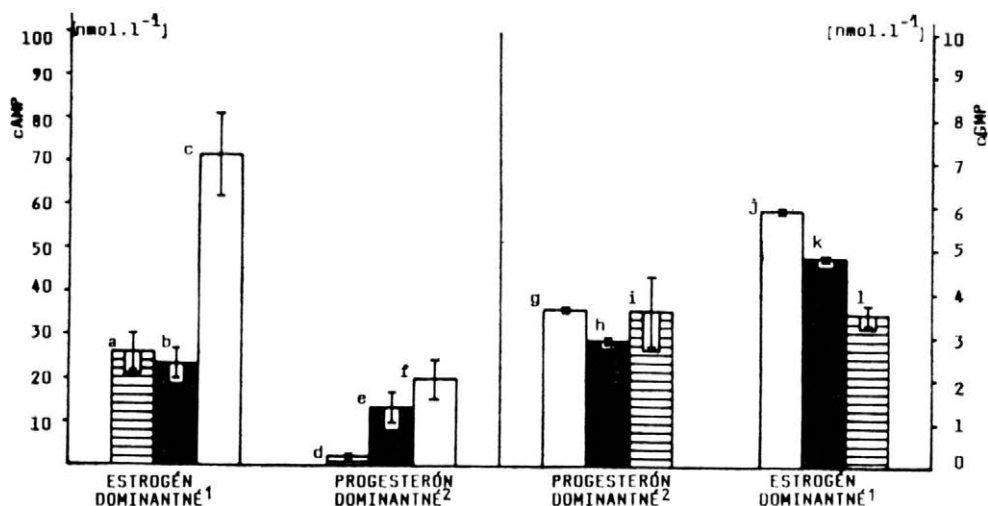
Priemerné koncentrácie cGMP v estrogén dominantných folikuloch po



1. Priemerné koncentrácie 17 beta-estradiolu (E<sub>2</sub>) a progesterónu (P<sub>4</sub>) vo folikulárnej tekutine kráv 48 h [šrafovaný sloupec], 72 h [plný sloupec], po druhej dávke cloprostenolu a folikulárnej fáze cyklu [prázdny sloupec] v závislosti na steroidnej dominancii folikulov — Average concentrations of 17 beta-estradiol (E<sub>2</sub>) and progesterone (P<sub>4</sub>) in the follicular fluid of sows in 48 hours (hatched column), and 72 hours (full column) since the administration of the second dose of cloprostenol and follicular phase of the sexual cycle (empty column) in dependence on the steroidal dominance of follicles

<sup>1</sup>estrogen-dominant, <sup>2</sup>progesterone-dominant

a, b —  $P < 0$ ; a, c —  $P < 0,1$ ; g, h —  $P < 0,001$



2. Priemerné koncentrácie cyklického adenzín- a guanozínmonofosfátu vo folikulárnej tekutine kráv 48 h [šrafovaný sloupec], 72 h [plný sloupec], po druhej dávke cloprostenolu a folikulárnej fáze cyklu [prázdny sloupec] v závislosti na steroidnej dominancii folikulov — Average concentrations of cyclic adenosine and guanosine monophosphate in the follicular fluid of sows in 48 hours (hatched column), and 72 hours (full column) after the administration of the second dose of cloprostenol and follicular phase of the sexual cycle (empty column) in dependence on the steroidal dominance of follicles

a, c —  $P < 0,01$ ; b, c —  $P < 0,01$ ; j, l —  $P < 0,01$ ; k, l —  $P < 0,05$

For 1, 2 see Fig. 1

superovulačnom ošetrení 48 a 72 hodín po aplikácii druhej dávky cloprostenolu boli  $3,5 \pm 0,2 \text{ nmol} \cdot \text{l}^{-1}$  resp.  $4,8 \pm 0,03 \text{ nmol} \cdot \text{l}^{-1}$ , čo je významne nižšie ako v rovnakých typoch folikulov z folikulárnej fázy pohlavného cyklu  $5,9 \pm 0,03 \text{ nmol} \cdot \text{l}^{-1}$  v oboch prípadoch pri  $P < 0,01$ . Pri progesterón dominantných folikuloch sa koncentrácie cGMP významne nelíšili (obr. 2).

## DISKUSIA

Významne vyššie koncentrácie 17 beta-estradiolu vo folikulárnej tekutine estrogén dominantných folikulov kráv 48 hodín po druhej dávke cloprostenolu v porovnaní s folikulami z obdobia 72 hodín po aplikácii cloprostenolu sú v zhode s poznatkami autorov Dieleman (1984), Ireland a Roche (1982). Po začiatku ruje tesne pred LH vrcholom dominantný predovulačný folikul má najvyššie koncentrácie 17 beta-estradiolu vo folikulárnej tekutine, zatiaľ čo koncentrácie progesterónu sú nízke (Dieleman, 1984). Po LH vrchole tieto vysoké koncentrácie 17 beta-estradiolu sa len pomaly znižujú. Najväčší pokles Dieleman (1984) zaznamenal medzi 6.—20. hodinou po vrchole gonadotropínov. Od 20. hodiny až po ovuláciu sú koncentrácie úplne na nízkej úrovni, zatiaľ čo koncentrácie progesterónu sa výrazne zvyšia až pred ovuláciou (Dieleman, 1984). Za jednu z príčin týchto zmien pri predovulačných folikuloch sa považuje strata schopnosti aromatázového systému folikulu syntetizovať 17 beta-estradiol ako dôsledok straty schopnosti buniek granulózy reagovať na ďalšiu stimuláciu s LH v dôsledku zániku citlivosti adenylát-cyklázového systému buniek na tento gonadotropín (Hunzicker-Dunn, 1979). V dôsledku straty citlivosti adenylát-cyklázového systému dochádza k zníženiu uvoľňovania cAMP ako druhého posla pri regulácii syntézy 17 beta-estradiolu bunkami granulózy (Hunzicker-Dunn, 1979).

Signifikantne vyššie koncentrácie cAMP a cGMP v estrogén dominantných folikuloch z folikulárnej fázy fyziologického pohlavného cyklu v porovnaní s folikulmi tej istej steroidnej dominancie po superovulačnom ošetrení s PMSG poukazujú na významne nižšiu aktivitu adenylcyklázového systému v týchto folikuloch. Prítomnosť vysoko citlivého adenylcyklázového systému v predovulačných folikuloch je nevyhnutná (Hunzicker-Dunn, 1979; Richards, 1975). Chýbanie takéhoto systému resp. jeho nedostatočnosť môže mať za následok, že ani prebehnutý LH vrchol nevyvolá ovuláciu. Odchýlky resp. asynchronnosť produkcie steroidov ako aj cyklických nukleotidov môže mať za následok produkciu málo životaschopných oocytov a následne embryí ako to opísali (Kruip a i., 1983; Moor a i., 1984, 1985; Liebfried-Rutledge a i., 1985). Za jednu z príčin rozdielov v produkcii ako cyklických nukleotidov tak steroidov, vysvetľujú Yada a i. (1986). Tí uvádzajú, že maximálne koncentrácie estradiolu v krvnom sére pri krávach po superovulácii s PMSG sa vyskytujú už 36—56 hodín po podaní PGF<sub>2</sub>alfa, čo ovplyvňuje aj skorší výskyt LH vrcholu pri týchto zvieratách vo fyziologickom pohlavnom cykle. Následok je aj skorší výskyt ovulácií u týchto zvierat. Autori zistili, že po LH vrchole dochádza k zvyšovaniu sa koncentrácií progesterónu v krvnom sére kráv ošetrovaných s PMSG už za 44 hodín, zatiaľ čo u kontrolných bez ošetrovania až za 99 hodín (Yada a i., 1986).

Z uvedených výsledkov vyplýva, že produkcia cyklických nukleotidov hlavne cAMP je vo folikuloch ošetrovaných kráv s cloprostamolom a sérovým gonadotropínom výrazne nižšia ako vo folikuloch z folikulárnej fázy neovplyvneného pohlavného cyklu. Tiež sa zistila výrazná luteinizácia folikulov po ošetrovaní so sérovým gonadotropínom, na čo poukazujú vysoké koncentrácie progesterónu ako v estrogén tak v progesterón dominantných folikuloch.

Výrazné rozdiely v koncentráciách cAMP, cGMP a  $P_4$  vo folikuloch z folikulárnej fázy pohlavného cyklu a po superovulačnom ošetrovaní s PMSG poukazujú na možný negatívny vplyv sérového gonadotropínu na vnútorné prostredie a vývoj predovulačných folikulov a tým aj na kvalitu produkovaných oocytov týmito folikulmi.

## Literatúra

- AINSWORTH, L. — TSANG, B. K. — DOWNEY, B. R.: Interrelationships between follicular fluid levels, gonadotrophic stimuli, and oocyte maturation during preovulatory development of porcine follicles. *Biol. Reprod.*, 23, 1980, s. 621—630.
- BRAILLY, S. — GOUGEON, A. — MILGRAM, E. — BOMSEL-HELMREICH, O. — PAPIERNIK, E.: Androgen and progestins in the human ovarian follicles: differences in the evolution of preovulatory, healthy nonovulatory and atretic follicles. *J. clin. Endocrinol.*, 53, 1981, s. 128—132.
- BYSKOV, A. G. — ATRESIA. In: MIDGLEY, A. R. and SADLER (eds). Ovarian follicular development and function. Raven Press, N. Y. 1979, s. 41—57.
- CALLESEN, H. — GREVE, T. — HYTTEL, F.: Preovulatory endocrinology and oocyte maturation in superovulated cattle. *Theriogenology*, 25, 1986, s. 71—86.
- DIELMAN, S. J.: Steroids of preovulatory bovine follicles relation to the peak of luteinizing hormone. *Utrecht*, 1984, s. 1—220.
- ERICKSON, G. F.: An analysis of follicle development and ovum maturation. *Seminare in Reprod. Endocrinol.*, 4, 1986, s. 233—253.
- HUNZICKER-DUNN, M. — JUNGWANE, R. A. — BIRNBAUMER, L.: Hormone action in ovarian follicles. Adenyl cycles and protein kinase enzyme systems. In: MIDGLEY, A. R. — SADLER, W. A.: Ovarian follicular development and function. New York, Raven Press, 1979, s. 267—304.
- IRELAND, J. J. — MURPHEE, E. L. — COULSON, P. B.: Accuracy of predicting stage of bovine estrous cycle by cross appearance of the corpus luteum. *J. anim. Sci.*, 63, 1980, s. 155—160.
- IRELAND, J. J. — ROCHE, J. F.: Development and regression of individual ovulatory and nonovulatory follicles cattle following prostaglandin induced luteolysis: Changes in steroids in follicular fluid and gonadotrophins receptor. *Endocrinology*, 111, 1982, s. 2077—2083.
- KOLENA, J. — CHANNING, C. P.: Stimulatory effects of LH, FSH and prostaglandins upon cyclic 3,5 — AMP, levels in porcine granulosa cells. *Endocrinology*, 90, 1972, s. 1543—1550.
- KRUIP, T. A. M. — CRAN, D. G. — VAN BUNEDEN, T. M. — DIELMAN, S. J.: Structural changes in bovine oocytes during final maturation *in vivo*. *Gamete Res.*, 8, 1983, s. 39—47.
- LAZÁR, L.: Folikulogenéza kráv z hľadiska niektorých biochemických ukazovateľov. [Kandidátska dizertácia.] Košice 1987. 156 s. — Ústav experimentálnej veterinárnej medicíny.
- LEIBFRIED-RUTLEDGE, M. L. — CRITSER, E. S. — FIRST, N. L.: Fertilization potential of follicular oocytes clasified by stage of cycle and size of follicle. *Theriogenology*, 23, 1985, s. 753—760.
- MARSCH, J. M.: The role of cAMP in gonadal functional. *Adv. cyclic nucleotide. Res.*, 6, 1975, s. 137—199.
- McGAUGHEY, R. W.: The culture of pig oocytes in minimal medium and the influence of progesterone and estradiol 17 beta on meiotic maturation. *Endocrinology*, 100, 1977, s. 39—45.
- MOOR, R. M. — KRUIP, A. M. — GREEN, D.: Intraovarian control of folliculogenesis: Limits to superovulation? *Theriogenology*, 21, 1984, s. 103—116.

- MOOR, R. M. — OSBORN, J. C. — CROSBY, I. M.: Gonadotrophin — induced abnormalities in sheep oocytes after superovulation. *J. Reprod. Fertil.*, 74, 1985, s. 167—172.
- RICHARDS, J. S.: Estradiol receptor content in rat granulosa cells during follicular development: Modification by estradiol and gonadotrophins. *Endocrinology*, 97, 1975, s. 1174—1179.
- ROBINSON, G. A. — BUTCHER, R. W. — SUTHERLAND, E. W.: On the relation of hormone receptors to adenyl cyclase. In: DANIELLE, J. F. — MORAN, J. F. — TRIGGLE, D. J.: Fundamental concept in drug-receptor interaction. New York, Academic Press, 1970, s. 59—91.
- SOKAL, R. R. — ROHLF, F. J.: Biometry. The principles and practices of statistics in biological research. San Francisco, Freeman and Co. 1969.
- YADAV, M. C. — WALTON, J. S. — LESLIE, K. E.: Plasma concentrations of luteinizing hormone and progesterone during superovulation of dairy cows using follicle stimulating hormone of pregnant mare serum gonadotrophins. *Theriogenology*, 26, 1986, s. 523—540.

Došlo dňa 13. 8. 1990

LAZÁR, L. — HAJURKA, J. (Institute of Experimental Veterinary Medicine, Košice): Concentrations of cAMP, cGMP, 17 beta-estradiol and progesterone in the follicular fluid of the largest cow follicle in the follicular phase of sexual cycle and after superovulation treatment with serum gonadotrophin. *Veter. Med. (Praha)*, 36, 1991 (7): 385—392.

The objective of this study was to compare the concentrations of 17 beta-estradiol, progesterone, cAMP and cGMP in the follicular fluid of the largest cow follicle from the follicular phase of physiological sexual cycle and of follicles after synchronization of rut by cloprostenol (PGF<sub>2</sub>α) and superovulation treatment with serum gonadotrophin (PMSG), in dependence on steroidal dominance of follicles. 2 × 25 cows, Slovak Pied × Lowland Black-Pied crossbreds with active corpus luteum, were subjected to superovulation treatment on the basis of rectal examination. Rut synchronization was achieved by cloprostenol of Czechoslovak provenience (Oestrophan Spofa), administered at the amount of 500 µg per dose. Serum gonadotrophin (Bioveta Concern, Ivanovice na Hané) at the amount of 2500 I. U. was administered forty-eight hours before the second dose of cloprostenol. The animals were killed in slaughterhouses 48 hours later, or 72 hours later, since administration of the second dose of cloprostenol. The phase of the sexual cycle of control animals was determined by the method after Ireland et al. (1980) on the basis of morphological appearance of corpus luteum, presence of large preovulatory follicle and by means of average concentrations of progesterone in blood serum. Aspirated follicular fluid was centrifuged using a cooling centrifuge at 3000 G. After separation, the supernatant was stored in a freezer at -18 °C until further treatment. 17 beta-estradiol and progesterone in the follicular fluid were determined by means of kits under the brand-names RIA-test-ESTRA (SI-125-9), or RIA-test-Prog (SI-125-6). Concentrations of cyclic nucleotides were determined by the RIA kits from the Institute for Radioisotope Research, Production and Use (Prague), cAMP by <sup>125</sup>I RIA kit (RIO12) and cGMP by <sup>125</sup>I RIA (RIO42). The method after Callesen et al. (1986), based on the expression of the mutual index of progesterone and 17 beta-estradiol ratio, was used to determine the steroidal dominance of the follicles. Average concentrations of estradiol in the estrogen-dominant follicles from the physiological sexual cycle were higher (3402.2 ± 1237.1 nmol.l<sup>-1</sup>) compared to the concentrations in the estrogen-dominant follicles of the superovulated cows in 72 hours since the administration of the second dose of cloprostenol (1502.8 ± 238.4 nmol.l<sup>-1</sup> of follicular fluid). They were, however, significantly lower than in the follicles examined 48 hours after the administration of the second dose of cloprostenol and amounted to 12 614.0 ± 2404.0 nmol.l<sup>-1</sup> of fluid, corresponding to the level of statistical significance. In the progesterone-dominant follicles higher concentrations were recorded during the follicular phase of the cycle (167.0 ± 77.5 nmol.l<sup>-1</sup> of follicular fluid) compared to the follicles of animals subjected to superovulation treatment and examined 48 hours (59.13 ± 30.0) and 72 hours (100.19 ± 86.86 nmol.l<sup>-1</sup>) after the administration of the second dose of cloprostenol. Average concentrations of progesterone both in the estrogen-dominant follicles (219.9 ± 53.5 nmol.l<sup>-1</sup>, 883.1 ± 355.5 nmol.l<sup>-1</sup>, resp.) were lower in the follicular phase of the sexual cycle than after the superovulation treatment with PMSG, in 48 hours since the administration of the second dose of cloprostenol (490.81 ± 125.0 nmol.l<sup>-1</sup>, 3729.4 ± 2857.7 nmol.l<sup>-1</sup>, resp.), or in 72 hours (421.7 ± 124.8 nmol.l<sup>-1</sup>, 4436.1 ± 489.1

nmol.l<sup>-1</sup>, resp.) in the progesterone-dominant follicles, at the significance level  $P < 0.001$  [Fig. 1]. Concentrations of cAMP in the estrogen-dominant follicles were significantly lower 48 hours after the administration of the second dose of cloprostenol ( $26.17 \pm 0.4$  nmol.l<sup>-1</sup> of follicular fluid) as well as after 72 hours ( $26.3 \pm 3.2$  nmol.l<sup>-1</sup>) than in the estrogen-dominant follicles and follicular phase of the sexual cycle ( $71.4 \pm 0.7$  nmol.l<sup>-1</sup>), in both cases at the level  $P < 0.01$ . No significant changes between the compared groups were observed for the progesterone-dominant follicles. Average concentrations of cGMP in the estrogen-dominant follicles after the superovulation treatment, 48 and 72 hours after the administration of the second dose of cloprostenol, were equal to  $3.5 \pm 0.2$  nmol.l<sup>-1</sup> and  $4.8 \pm 0.03$  nmol.l<sup>-1</sup>, resp., which is in both cases significantly lower than in the same types of follicles from the follicular phase of the sexual cycle ( $5.9 \pm 0.03$  nmol.l<sup>-1</sup>) at the level  $P < 0.01$ . In the progesterone-dominant follicles cGMP concentrations did not differ significantly (Fig. 2). The presented results indicate significantly lower production of cyclic nucleotids, particularly cAMP, in the follicles of the cows treated with cloprostenol and serum gonadotrophin compared to the follicles from the follicular phase of unaffected sexual cycle. Moreover, pronounced luteinization of follicles was also observed after the administration of serum gonadotrophin, which is indicated by high concentrations of progesterone both in estrogen-dominant and in progesterone dominant follicles. Marked differences in concentrations of cAMP, cGMP and P<sub>4</sub> in follicles from the follicular phase of the sexual cycle and after the superovulation treatment with PMSG suggest the possible negative influence of serum gonadotrophin on the internal environment and development of pre-ovulation follicles and at the same time on the quality of oocytes produced by these follicles.

cAMP; cGMP; 17 beta-estradiol; progesterone; superovulation; PMSG (serum gonadotrophin)

---

*Adresa autorov:*

MVDr. Ladislav Lazár, CSc., MVDr. Ján Hajurka, Ústav experimentálnej veterinárnej medicíny, Duklianských hrdinov 1/A, 040 01 Košice

---

**V. Růžicková**

---

RŮŽICKOVÁ, V. (Výzkumný ústav veterinárního lékařství, Brno): *Nové poznatky v biotypizaci Staphylococcus aureus z prvovýroby mléka*. Veter. Med. (Praha), 36, 1991 (7): 393—399.

Byla provedena detailnější analýza biotypové příslušnosti kmenů *Staphylococcus aureus* ve vztahu k jejich původu a enterotoxinogenitě. Vyšetřili jsme celkem 432 kmenů vykultivovaných z různých materiálů úzce souvisejících z prvovýrobou mléka. Biotypizace prokázala značnou převahu biotypů C<sub>1</sub> a C<sub>2</sub> v mléčné žláze matitidních krav. Nález 13 % kmenů náležejících biotypu A a 8 % kmenů biotypu D indikuje i jiné zdroje infekce mléčné žlázy. Ve směsných vzorcích syrového mléka dominoval biotyp C<sub>1</sub>, kterému náleželo 81 % izolátů. Téměř 19 % kmenů izolovaných od lidí a dva kmeny vykultivované z mastitidních čtvrtí bylo určeno k nově označenému biotypu G. Při sledování enterotoxinogenity jsme zjistili, že produkce enterotoxinu se vážala převážně na kmeny izolované od lidí a na biotypy G a A. Tři enterotoxinogenní kmeny *S. aureus* náležely biotypu B a jeden kmen nebyl klasifikován do žádného z biotypů.

prvovýroba mléka; *Staphylococcus aureus*; biotypizace; enterotoxinogenita kmenů

---

Bližším studiem koaguláza-pozitivních stafylokoků se zjistilo, že kmeny *S. aureus* se navzájem liší ve svých biochemických vlastnostech. S rozpoznáním variability v enzymové aktivitě se vyskytly návrhy na diferenciaci kmenů *S. aureus* podle živočišných druhů, z nichž byly izolovány. Původní snahy o rozlišení tzv. zvířecích a lidských kmenů později vyústily v úspěšnou diferenciaci do biotypů, které vyjadřují úzký vztah izolátů k určitým druhům hostitele (Hájek a Maršálek, 1971; Skaálka a Smola, 1981; Devriese, 1984). V současné době je možné s využitím šesti biochemických testů rozlišit kmeny *S. aureus* na čtyři standardní biotypy A, B, C a D podle hostitele: biotyp A — člověk; biotyp B — kur domácí, prase; biotyp C (někdy diferencovaný na subtypy C<sub>1</sub> a C<sub>2</sub>) — skot, ovce a biotyp D — zajíc. Z dosavadních zkušeností vyplývá, že ne všechny kmeny *S. aureus* jsou klasifikovatelné do známých biotypů. To je s největší pravděpodobností způsobeno proměnlivostí vlastností stafylokoků, které jsou ve svém prostředí vystaveny účinkům antibiotik, dezinfekčních prostředků nebo zásahům při technologické úpravě potravin a surovin živočišného původu (Hájek aj., 1983; Schlemmerová, 1987). Z praktických důvodů nelze považovat za nový biotyp každou variantu odpovídající kombinaci různých

kritérií u známých biotypů. Někdy však lze výjimečně přijmout nové označení pro ty kmeny *S. aureus*, u nichž neobvyklá kombinace biochemických vlastností úzce souvisí s jiným významným fenotypovým znakem, např. s produkcí stafylokokového enterotoxinu.

V naší práci jsme se s využitím některých biochemických kritérií pokusili diferencovat do biotypů a srovnat s produkcí enterotoxinů kmeny *S. aureus* získané z různých materiálů úzce souvisejících s prvovýrobou mléka.

## MATERIÁL A METODY

Byl studován soubor 432 kmenů *S. aureus*, z nichž 288 kmenů pocházelo ze 30 vzorků syrového kravského mléka z úchovných nádob, 52 kmenů z 24 stěrů z dojících zařízení, 60 kmenů z 54 čtvrtvých vzorků mléka mastitidních krav a 32 kmenů z 21 výtěrů z nosu a krku ošetřovatelů skotu a dojiček. Izolace kmenů *S. aureus* byla provedena přímo na selektivním Baird-Parkerově agaru nebo po pomnožení v tekutém B-P bujónu (Van Doorne aj., 1981). Po subkultivaci na krevním agaru byla zjišťována příslušnost izolátů k *S. aureus* pomocí konvenčních biochemických testů (Hájek aj., 1983) a komerční soupravy STAPHY-test (Lachema, Brno).

Při diferenciaci do biotypů byly použity testy, které pro biotypizaci navrhli Hájek aj. (1983).

Přukaz tvorby enterotoxinů A, B a C byl proveden imunodifúzním mikrottestem v supernatantech z kultur stafylokoků získaných celofánovou kultivací (Petráš, 1980). Čisté enterotoxiny A a B a příslušné protilátky byly získány od prof. M. S. Bergdolla z Food Research Institute, University of Wisconsin v USA a enterotoxin C s antisérem byly získány z IHE Praha.

K přípravě pevných půd byly použity základy pro krevní agar č. 2 a 4, dále základ pro Baird-Parkerův agar z n. p. IMUNA. Půdy byly doplněny příslušnými ingrediencemi podle receptur. Tekuté živné půdy byly připraveny z masopeptonového bujónu č. 2 (n. p. IMUNA) a z mozkosrdcového bujónu (OXOID). V testu na detekci enterotoxinů byl použit Special Agar Noble (DIFCO).

## VÝSLEDKY

Výsledky biotypizačních testů, koagulázové aktivity v králičí plazmě a tvorby termonukleázy jsou uvedeny v tab. I. Bylo zjištěno, že většina kmenů vykultivovaných ze syrového mléka, stěrů a čtvrtí byla pozitivní v následujících testech: tvorba pigmentu, koagulace hovězí plazmy a společná produkce hemolysinů alfa a beta. Téměř 89 % izolátů z mléka a stěrů vyrůstalo na KV agaru v oranžových koloniích (tj. CV-test, typ A). U kmenů izolovaných z mastitidních čtvrtí převažoval růstový typ C s fialovými koloniemi o 20 % proti typu A a počet kmenů tvořících hemolysin alfa převyšoval producenty hemolysinu beta o 5 %.

Kmeny *S. aureus* pocházející od lidských bacilonosičů netvořily ve stejné hojné počtu pigment a méně než polovina koagulovala hovězí plazmu. Naproti tomu 93,8 % humánních kmenů produkovalo hemolysin alfa a 65,6 % kmenů vykazovalo fibrinolytickou aktivitu. U těchto kmenů v CV-testu mírně převažoval růstový typ C.

astoupení biotypů u souboru 432 kmenů *S. aureus* ve vztahu k jejich původu je uvedeno v tab. II. Při diferenciaci izolátů bylo zjištěno, že mezi kmeny vykultivovanými ze syrového mléka dominoval biotyp C<sub>1</sub>, ke kterému náleželo 81 % kmenů. K ostatním biotypům byly zbývající kmeny zařazeny takto: k biotypu C<sub>2</sub> 18 % kmenů, k biotypu A dva kmeny a k biotypu B jeden kmen. Mezi kmeny izolovanými ze stěrů z dojících zařízení byl zjištěn opět nejvyšší počet kmenů (84,6 %) biotypu C<sub>1</sub>. K biotypu C<sub>2</sub> náleželo 11,5 % kmenů a k biotypu B pouze dva kmeny.

I. Výsledky biotypizačních testů ve vztahu k tvorbě plazmoagulázy a termonukleázy u kmenů *S. aureus* — Relations between biotypes of *S. aureus* and production of plasmoagulase and thermonuclease

| Test <sup>1</sup>                      | Počet (procento) pozitivních kmenů <sup>13</sup> |                     |                         |                    |
|----------------------------------------|--------------------------------------------------|---------------------|-------------------------|--------------------|
|                                        | mléko <sup>14</sup>                              | stěry <sup>15</sup> | mastitidy <sup>16</sup> | lidé <sup>17</sup> |
| Fibrinolysin <sup>2</sup>              | 2 (0,7)                                          | 0 (0)               | 10 (16,7)               | 21 (65,6)          |
| Koagulace hovězí plazmy <sup>3</sup>   | 285 (98,9)                                       | 50 (96,2)           | 46 (76,7)               | 13 (65,6)          |
| Pigment <sup>4</sup>                   | 284 (98,6)                                       | 52 (100)            | 46 (76,7)               | 21 (65,6)          |
| CV-test, typ A <sup>5</sup>            | 255 (88,5)                                       | 46 (88,5)           | 24 (40,0)               | 15 (46,9)          |
| CV-test, typ C <sup>6</sup>            | 33 (11,5)                                        | 6 (11,5)            | 36 (60,0)               | 17 (53,1)          |
| Alfa hemolysin <sup>7</sup>            | 4 (1,4)                                          | 3 (5,8)             | 10 (16,7)               | 30 (93,8)          |
| Beta hemolysin <sup>8</sup>            | 30 (10,4)                                        | 4 (7,7)             | 7 (11,7)                | 0 (0)              |
| Alfa + beta hemolysin <sup>9</sup>     | 252 (87,5)                                       | 44 (84,6)           | 43 (71,6)               | 0 (0)              |
| Koagulace králičí plazmy <sup>10</sup> | 288 (100)                                        | 52 (100)            | 60 (100)                | 32 (100)           |
| Termonukleáza <sup>11</sup>            | 288 (100)                                        | 52 (100)            | 60 (100)                | 32 (100)           |
| Celkový počet kmenů <sup>12</sup>      | 288                                              | 52                  | 60                      | 32                 |

<sup>1</sup>test, <sup>2</sup>fibrinolysin, <sup>3</sup>bovine plasma coagulation, <sup>4</sup>pigment, <sup>5</sup>CV-test, type A, <sup>6</sup>CV-test, type C, <sup>7</sup>alpha-haemolysin, <sup>8</sup>beta-haemolysin, <sup>9</sup>alpha+beta haemolysin, <sup>10</sup>rabbit plasma coagulation, <sup>11</sup>thermonuclease, <sup>12</sup>total number of strains, <sup>13</sup>number (percentage) of positive strains, <sup>14</sup>milk, <sup>15</sup>smears, <sup>16</sup>mastitis, <sup>17</sup>people

II. Zastoupení biotypů v souboru 432 kmenů *S. aureus* ve vztahu k jejich původu — Relations between biotypes and origin of 432 strains of *S. aureus*

| Původ kmenů <sup>1</sup>               | Počet kmenů <sup>7</sup> | Počet (procento) kmenů zařazených do biotypu <sup>8</sup> |          |                |                |         |          |
|----------------------------------------|--------------------------|-----------------------------------------------------------|----------|----------------|----------------|---------|----------|
|                                        |                          | A                                                         | B        | C <sub>1</sub> | C <sub>2</sub> | D       | G        |
| Syrové mléko <sup>2</sup>              | 288                      | 2 (0,7)                                                   | 1 (0,35) | 233 (81)       | 52 (18)        | 0 (0)   | 0 (0)    |
| Stěry z dojících zařízení <sup>3</sup> | 52                       | 0 (0)                                                     | 2 (3,9)  | 44 (84,6)      | 6 (11,5)       | 0 (0)   | 0 (0)    |
| Mastitidní čtvrtě <sup>4</sup>         | 60                       | 8 (13,3)                                                  | 1 (1,7)  | 21 (35)        | 23 (38,3)      | 5 (8,3) | 2 (3,4)  |
| Ošetřovatelé skotu <sup>5</sup>        | 32                       | 15 (47)                                                   | 2 (6,2)  | 8 (25)         | 0 (0)          | 0 (0)   | 6 (18,8) |
| Celkem <sup>6</sup>                    | 432                      | 25                                                        | 6        | 306            | 81             | 5       | 8        |
| %                                      | 100                      | 5,8                                                       | 1,4      | 70,8           | 18,8           | 1,2     | 1,9      |

<sup>1</sup>origin of strains, <sup>2</sup>raw milk, <sup>3</sup>smears from milking machines, <sup>4</sup>mastitic udder quarters, <sup>5</sup>cattle tenders, <sup>6</sup>total, <sup>7</sup>number of strains, <sup>8</sup>number (percentage) of strains classified to the biotype

V souboru kmenů izolovaných z mastitidních čtvrtí bylo zaznamenáno zastoupení všech známých biotypů A až D, včetně nově označeného biotypu G. Nejvíce izolátů bylo zařazeno do bovinních biotypů, přičemž k biotypu C<sub>1</sub> bylo určeno 35 % kmenů a k biotypu C<sub>2</sub> 38 % kmenů. Zbývajících 13,3 % kmenů náleželo biotypu A, 8,3 % biotypu D, dva kmeny biotypu G a jeden kmen biotypu B.

Z humánních kmenů, získaných od ošetrovatelů skotu a dojiček, bylo diferencováno 47 % kmenů biotypu A, 6,2 % kmenů biotypu B, 25 % kmenů biotypu C<sub>1</sub>, 18,8 % kmenů biotypu G a jeden kmen nebyl klasifikován do žádného z biotypů.

V tab. III je uveden přehled jednotlivých biotypů ve vztahu k jejich produkci enterotoxinů A, B a C. V mléce byly nalezeny dva kmeny produkující enterotoxin C, ve stěrech z dojicích zařízení jeden kmen tvořící rovněž enterotoxin C a ve čtvrtvých vzorcích mléka jeden kmen, který syntetizoval enterotoxin A. V souboru 32 kmenů od lidských bacilonosičů bylo zjištěno celkem 9 enterotoxinogenních kmenů, z nichž tři produkovaly enterotoxin A, jeden enterotoxin B, čtyři enterotoxin C a jeden kombinaci enterotoxinů A a B. Z výsledků je dále patrné, že produkce enterotoxinu A byla zjištěna u kmenů, které náležely výlučně biotypu G. Enterotoxin B produkoval jeden kmen určený k biotypu B. Enterotoxin C tvořily tři biotypy A, dva biotypy B a jeden biotyp G. Jeden kmen nebyl klasifikován do žádného z biotypů. Současná produkce enterotoxinů A a B byla prokázána u jednoho kmene náležejícího biotypu A.

III. Zastoupení biotypů u kmenů *S. aureus* ve vztahu k tvorbě enterotoxinů A, B a C  
— Relations between biotypes of *S. aureus* and production of enterotoxins A, B and C

| Původ kmenů <sup>1</sup>               | Produkovaný typ enterotoxinu <sup>7</sup> | Počet kmenů <sup>8</sup> | Počet kmenů zařazených do biotypů <sup>9</sup> |      |      |                          |
|----------------------------------------|-------------------------------------------|--------------------------|------------------------------------------------|------|------|--------------------------|
|                                        |                                           |                          | A                                              | B    | G    | nezařazeno <sup>10</sup> |
| Syrové mléko <sup>2</sup>              | C                                         | 2                        | 2                                              | 0    | 0    | 0                        |
| Stěry z dojicích zařízení <sup>3</sup> | C                                         | 1                        | 0                                              | 1    | 0    | 0                        |
| Mastitidní čtvrtě <sup>4</sup>         | A                                         | 1                        | 0                                              | 0    | 1    | 0                        |
| Ošetrovatelé skotu <sup>5</sup>        | A                                         | 3                        | 0                                              | 0    | 3    | 0                        |
|                                        | B                                         | 1                        | 0                                              | 1    | 0    | 0                        |
|                                        | C                                         | 4                        | 1                                              | 1    | 1    | 1                        |
|                                        | A+B                                       | 1                        | 1                                              | 0    | 0    | 0                        |
| Celkem <sup>6</sup>                    |                                           | 13                       | 4                                              | 3    | 5    | 1                        |
| %                                      |                                           | 100                      | 30,8                                           | 23,1 | 38,4 | 7,7                      |

For 1—6 see Tab. II; <sup>7</sup>produced type of enterotoxin, <sup>8</sup>number of strains, <sup>9</sup>number of strains classified to the biotypes, <sup>10</sup>not classified

## DISKUSE

Základním biotypizačním testem pro odlišení tzv. lidských kmenů *S. aureus* od zvířecích je průkaz fibrinolytické aktivity (Hájek a Maršálek, 1971; Devriese, 1984). Z našich výsledků lze učinit podobný závěr, neboť z celkem 23 izolátů vykazujících fibrinolytickou aktivitu 21 kmenů pocházelo od lidských bacilonosičů a pouze dva kmeny byly izolovány ze syrového mléka. Pro kmeny *S. aureus*, které se vyskytují u skotu, je charakteristická koagulace hovězí plazmy. Zjištěná po-

zitivní koagulázová aktivita v hovězí plazmě u 98 % kmenů z mléka a u 96 % kmenů ze stěrů z dojících zařízení potvrzuje skutečnost, že mléko a mléčná žláza skotu jsou kontaminovány s naprostou převahou bovinním biotypem C.

Typ růstu na agaru s krystalovou violetí a produkce hemolyzinů alfa a beta jsou označovány jako variabilní znaky, neboť jsou do značné míry závislé na původu kmenů (V ý m o l a, 1983). Zastoupení vysokého podílu tvorby alfa hemolyzinu, které jsme zjistili u 93,8 % kmenů izolovaných od lidí dobře koreluje s některými literárními údaji, např. E l e k a L e v y (1950), H á j e k a M a r š á l e k (1971). U kmenů z mléka, stěrů a mléčné žlázy jsme zjistili značnou převahu společné produkce hemolyzinů alfa a beta. Tato zjištění jsou v souladu s výsledky, které uvádí např. J a s p e r a j. (1985). V našich šetřeních jsme však nepotvrdili vysoký stupeň korelace mezi koagulázovou aktivitou a tvorbou pigmentu, zejména u kmenů izolovaných z mastitidních čtvrtí a od lidských bacilonosičů. S podobnou anomálií se setkali H á j e k a j. (1972) u kmenů izolovaných z norků, S k a l k a (1977) u bovinních kmenů a O p l e t a l (1987) u kmenů z mléčné žlázy mastitidních krav.

Při biotypizační klasifikaci souboru 432 kmenů *S. aureus* jsme identifikovali biotyp A ve všech skupinách izolátů z mléka, z mastitidních čtvrtí a od lidských bacilonosičů, u kterých měl početně nejvyšší zastoupení. Biotyp B se vyskytl ojediněle ve všech skupinách *S. aureus* a lze proto považovat kmeny tohoto biotypu spíše za sekundární kontaminanty či tranzitní mikroflóru.

Bovinní biotypy C byly zjištěny v značné převaze ve všech souborech kmenů s výjimkou lidských kmenů, přičemž v mléce a stěrech dominoval biotyp C<sub>1</sub>. Biotyp C<sub>2</sub> se vyskytl v převaze pouze u kmenů z mastitidních čtvrtí, u nichž početně přesáhl druhou variantu C<sub>1</sub> o 3 %. Biotyp D jsme našli pouze mezi izoláty z mastitid. Jeden kmen získaný od lidského bacilonosiče nebyl klasifikován do žádného z biotypů. Obdobné zastoupení biotypů uvádí O p l e t a l (1987), který však zjistil ve skupině 157 kmenů *S. aureus* z mastitidních čtvrtí vysoké zastoupení biotypu A, které činilo 27 %. Naše zjištění biotypu A u 13,3 % kmenů vykultivovaných rovněž ze čtvrtí podporuje jeho předpoklad existence jiných zdrojů infekce pro mléčnou žlázu.

Kmeny *S. aureus* izolované ze surovin živočišného původu jsou někdy obtížně klasifikovatelné do známých biotypů. Např. v Japonsku byly z laboratorních myší, krys a morčat izolovány kmeny, které produkovaly fibrinolysin jako biotyp A, ale současně koagulovaly hovězí plazmu jako biotyp C. Kmeny s těmito vlastnostmi byly popsány jako biotyp G (S h i m i z u a j., 1986). Stejně označení biotypu jsme použili pro šest kmenů izolovaných od lidí a pro dva kmeny vykultivované z mastitidních čtvrtí.

Syrové kravské mléko je potencionálním rezervoárem enterotoxinních kmenů *S. aureus*, ty však svým počtem ovlivňují celkový počet mikroorganismů jen nepatrně. U enterotoxinních kmenů z mléka je nejčastěji prokázána produkce enterotoxinu A, dále enterotoxinu C a enterotoxinu D (B r y a n, 1983; H a r v e y a G i l m o u r, 1985; B a u t i s t a a j., 1988). Ve většině publikovaných prací, ve kterých bylo cílem sledovat u stafylokoků vztah mezi biotypem a produkcí enterotoxinu, dospěli autoři k závěru, že nejvíce enterotoxinních kmenů se

vyskytuje mezi biotypy A (Hájek a Maršálek, 1971; Olsvik aj., 1981; Schlemmerová, 1987). Naše výsledky tento závěr potvrzují jen do určité míry, neboť téměř 31 % izolátů produkujících enterotoxiny náleželo biotypu A, avšak nejvíce enterotoxinogenních kmenů, tj. 38,4 %, bylo zařazeno k nově označenému biotypu G. Naše výsledky jsou v souladu s literárními údaji rovněž v tom, že nález enterotoxinogenních kmenů je více spjat s člověkem jako hostitelem, než s příslušností k biotypu A. Potvrzuje se tím nesporný význam humánní kontaminace ve výrobě mléka a mléčné výživy. Tato závažná skutečnost zasahuje do celé oblasti produkce zdravotně nezávadné výživy lidí.

## Literatura

- BAUTISTA, L. — GAYA, P. — MEDINA, M. — NUÑEZ, M.: A quantitative study of enterotoxin production by sheep milk staphylococci. *Appl. environ. Microbiol.*, 54, 1988, s. 566—569.
- BRYAN, F. L.: Epidemiology of milk-borne diseases. *J. Fd Protec.*, 46, 1983, s. 637—647.
- DEVRIESE, L. A.: A simplified system for biotyping of *Staphylococcus aureus*. *J. appl. Bact.*, 56, 1984, s. 215—216.
- DOORNE, H. van — BAIRD, R. M. — HENRIKSZ, D. T. — KRECK, D. M. — PAUWELS, H. P.: Liquid modification of Baird-Parkers medium for the selective enrichment of *Staphylococcus aureus*. *Antonie van Leeuwenhoek*, 47, 1981, s. 267—278.
- ELEK, S. D. — LEVY, E.: Distribution of haemolysins in pathogenic and non-pathogenic staphylococci. *J. Path. Bact.*, 62, 1950, s. 541—553.
- HÁJEK, V. — MARŠÁLEK, E.: The differentiation of pathogenic staphylococci a suggestion for their taxonomic classification. *Zentbl. Bakt. Parasit. - Kde, A*, 217, 1971, s. 176—182.
- HÁJEK, V. a kol.: Diagnostika stafylokoků a stafylokokových infekcí. *Acta hyg. epidem. microbiol.*, příloha č. 5, Praha, IHE 1983, s. 3—30.
- HARVEY, J. — GILMOUR, A.: Application of current methods for isolation of staphylococci in raw bovine milk. *J. appl. Bact.*, 59, 1985, s. 207—221.
- JASPER, D. E. — INFANTE, F. — DELLINGER, J. D.: Relationship among the results of coagulase, staphylococcal toxin and thermonuclease tests on staphylococci from cow milk. *J. clin. Microbiol.*, 21, 1985, s. 582—584.
- OLSVIK, O. — BERDAL, B. P. — FOSSUM, K. — OMALD, T.: Enterotoxin production by *Staphylococcus aureus* related to the origin of the strains. *Acta path. microbiol. scand.*, B, 89, 1981, s. 423—426.
- OPLETAL, A.: Některé biologické vlastnosti a patogenita *Staphylococcus aureus* pro mléčnou žlázu skotu. [Kandidátská dizertace.] Brno 1987, 180 s. — Výzkumný ústav veterinárního lékařství.
- PETRÁŠ, P.: Detection of staphylococcal enterotoxigenicity. I. Methods. *J. Hyg. Epidem. Microbiol. Immun.*, 24, 1980, s. 22—28.
- SHIMIZU, A. — KAWANO, J. — KIMURA, S.: Biotyping of coagulase-positive *Staphylococcus aureus* and *Staphylococcus intermedius* strains isolated from various animals in Japan. *Jap. J. Sci.*, 48, 1986, s. 1227—1235.
- SCHLEMMEROVÁ, L.: Stafylokoky v poživatinách, metody kultivace a hodnocení nálezů. [Kandidátská dizertace.] Praha 1987, 330 s. — Institut hygieny a epidemiologie.
- SKALKA, B.: Diagnostika koagulázopozitivních stafylokoků se zřetelem na možnost jejího epizootologického využití. [Výzkumná zpráva.] Brno, Vysoká škola veterinární, 1977, 40 s.
- SKALKA, B. — SMOLA, J.: Praktický význam biotypizace *Staphylococcus aureus*. *Veterinářství*, 31, 1981, s. 303—305.
- VÝMOLA, F. a kol.: Stafylokokové infekce. Praha, Avicenum 1983, s. 69—81.

Došlo dne 3. 7. 1990

RŮŽIČKOVÁ, V. (Veterinary Research Institute, Brno): *Recent knowledge of biotypes of Staphylococcus aureus strains isolated in dairy farms.* *Veter. Med. (Praha)*, 36, 1991 (7): 393—399.

A detailed analysis of biotypes of *Staphylococcus aureus*, as related to their origin and enterotoxigenicity, was performed, using 432 strains isolated from bulk milk, milking machines, quarter milk samples collected from mastitic cows, and cowherds and milkers. All strains coagulated rabbit blood plasma and produced thermonuclease (Tab. I). Human strains differed from bovine ones mostly in the production of alpha-haemolysin (94 %) and fibrinolysin (66 %). Biotypes C<sub>1</sub> (35 %) and C<sub>2</sub> (38 %) dominated clearly among the strains isolated from quarter milk samples. The findings of 13 % of biotype A and 8 % of biotype D suggest that other sources of udder infections than mastitic cows were involved. Almost 19 % of human strains and two strains isolated from quarter milk samples were identified as the recently defined type G. The production of enterotoxins (Tab. III) was associated mostly with strains of human origin (69 %) and with biotypes G (35 %) and A (31 %). Three enterotoxigenic strains belonged to the biotype B and one strain was not classifiable.

milk production; *Staphylococcus aureus*; biological typification; enterotoxigenicity

---

*Adresa autorky:*

RNDr. Vladislava Růžičková, CSc., Výzkumný ústav veterinárního lékařství,  
Hudcova 70, 621 32 Brno

---

## 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

# AKTIVITA DEHYDROGENÁZ VE SLIZNICI TENKÉHO STŘEVA PŘI EXPERIMENTÁLNÍ KOKCIDIÓZE SAJÍCÍCH SELAT

M. Kudweis, Z. Lojda, I. Juliš, L. Lenhardt, J. Marcaník

KUDWEIS, M. — LOJDA, Z. — JULIŠ, I. — LENHARDT, L. — MARCANÍK, J. (Výzkumná a diagnostická histochemická laboratoř, nemocnice, Český Krumlov; Laboratoř pro histochemii při lékařské fakultě Univerzity Karlovy, Praha; Vysoká škola veterinární, Košice): *Aktivita dehydrogenáz ve sliznici tenkého střeva při experimentální kokcidióze sajících selat*. Veter. Med. (Praha), 36, 1991 (7): 401—413.

Ve sliznici duodena, jejuna i ilea 19 konvenčních selat infikovaných první den po porodu (DPP) oocystami kokcidie *Eimeria deblickei* (infekční dávka 200 000 oocyst) jsme mikrodenzitometricky vyhodnotili aktivitu 3- $\beta$ -hydroxybutyrát dehydrogenázy (EC. 1.1.1.30.; HBD) a izocitrát dehydrogenázy (EC. 1.1.1.41.; ICD). Syntézu obou dehydrogenáz jsme ve sliznici tenkého střeva studovali v období 1.—10. den po infekci (DPI). Aktivitu HBD i ICD jsme sledovali také v tenkém střevě čtyř kontrolních konvenčních selat ve věku 2—5 dnů. Zjistili jsme, že obě dehydrogenázy vykazují topografický gradient, přičemž jejich aktivita stoupá ve sliznici tenkého střeva od duodena směrem aborálním. Více je sliznice střešní vybavena aktivitou ICD, u které jsme prokázali výraznější topiku, kdežto HBD má svoji aktivitu rozloženou na úrovni enterocytů disperzně. U infikovaných selat jsme prokázali, že denzita obou enzymů klesá již první DPI a nejnižší hodnoty denzity dosahuje osmý (ICD), resp. devátý (HBD) DPI. Statisticky významnou predispozici k hypoaktivitě studovaných dehydrogenáz a její zřetelný posun jsme v období experimentální infekce nezaregistrovali. Rychlejší rekonstrukci syntézy jsme prokázali u ICD, úroveň jejíž aktivity 10. DPI ve sliznici střešní odpovídala 93 % aktivity této dehydrogenázy, zjištěné v tenkém střevě kontrolních selat. Denzita HBD se ke stejnému dni (10. DPI) upravila pouze na 44,7 % hodnoty, prokázané ve sliznici střešní kontrolní skupiny zvířat.

*Eimeria deblickei*; experimentální infekce; konvenční selata; histochemie; mitochondriální enzymy; mikrodenzitometrie

*Eimeria deblickei*, vedle *E. perminuta* a *E. scabra*, patří v našich podmínkách k těm druhům kokcií rodu *Eimeria*, u které byla zjištěna nejvyšší frekvence výskytu v různých velkochovech prasat (Nápravník a Fajkoš, 1978; Chroustová, 1980).

Patogenezi a patologii infekcí, etiologicky vázaných na *E. deblickei* se zabýval Vetterling (1965) a Lindsay aj. (1987).

Poměrně dobré představy o značně rozdílné patologii enterálních změn vyvolaných jednotlivými druhy kokcií uveřejnili Stuart a Lindsay (1986).

Téměř žádné znalosti nejsou o funkčních defektech sliznice tenkého střeva selat a prasat, spontánně či experimentálně infikovaných kokcií

*E. deblickei*. Touto problematikou se zabýval pouze Kudweis aj. (1991), přičemž podstatně širší jsou současné znalosti o histochemii enzymů sliznice střešní selat a běhounů infikovaných kokcií *I. suis* (Kudweis a Lojda, 1989a), popř. druhem *E. scabra* (Kudweis aj., 1987).

Histochemii dehydrogenáz se ve veterinární patologii doposud věnovalo pouze několik autorů (Marcaník, 1980; Lenhardt aj., 1988; Kudweis aj., 1989).

Široké spektrum dehydrogenáz a jejich aktivitu ve sliznici střešní lidských novorozenců a různých mláďat hospodářských zvířat včetně selat studovali Lojda (1969a, 1974), Frič aj. (1975) a Kudweis a Lojda (1989b, c).

Pro pochopení histochemie a významu dehydrogenáz v metabolismu enterocytů a některých dalších buněk mají zásadní význam poznatky, které uveřejnil Lojda (1969b, 1974, 1983), Lojda aj. (1979), Klein a McKenzie (1983) a Firmansyah aj. (1989).

O značném významu a rozšíření dehydrogenázových komplexů v živočišném organismu svědčí studie, které publikovali Kataoka (1970), Iijimou a Imai (1976), Elias aj., 1982; Elias, 1985, Gullotta (1985) a Skolek-Winnisch aj. (1986).

Cílem naší práce je posoudit funkční stav sliznice tenkého střeva experimentálně infikovaných selat kokcií *E. deblickei* prostřednictvím studia aktivity vybraných enzymů dehydrogenázového systému.

Studie přináší také v našich podmínkách prioritní výsledky objektivně posouzené topochemické distribuce obou sledovaných dehydrogenáz v absorpčních buňkách jednotlivých úseků tenkého střeva u zdravých selat.

## MATERIÁL A METODA

Přehled experimentálně infikovaných a kontrolních konvenčních selat, včetně časových údajů (DPP, DPI, věk) uvádí tab. I.

O způsobu odběru vzorků jednotlivých úseků tenkého střeva, jejich zpracování a technice přípravy zmrazených řezů jsme referovali dříve (Kudweis aj., 1989).

Selata byla infikována kmenem oocyst *E. deblickei* (infekční dávka 200 000 oocyst), který jsme získali separací, očistěním a pomnožením oocyst této kokcie ze spontánní infekce běhounů ve věku tří měsíců a chovaných v podmínkách velkovýrobní technologie. Připravené infekční inokulum bylo staré dva měsíce a k infekci jsme použili jicín rourku.

Zmrazené řezy, pořízené na zařízení Frigocut Mod. 2700 (Reichert Jung, SRN), tlusté maximálně 10  $\mu$ m jsme inkubovali v médiu připraveném pro detekci HBD i ICD podle Barka a Andersona (1963) v modifikačních úpravách, jak je uvádějí Lojda aj. (1979).

Jako substrátu volby pro průkaz HBD jsme užili DL-3-hydroxybutyrát sodný a pro detekci ICD trojsodnou sůl DL-izocitronové kyseliny. Akceptorem v obou inkubačních roztocích byl nikotinamidadenin dinukleotid (NAD).

Aktivitu obou studovaných dehydrogenáz jsme na úrovni absorpčních buněk všech studovaných úseků tenkého střeva (duodenum, střední a zadní jejunum, ileum) vyhodnotili na počítačem řízeném (SAPI-ZPS-2) skanujícím a integrujícím mikrodenzitometru Vickers M-86 při použití objektivu 20 $\times$  a clony č. 2 (průměr 2  $\mu$ m).

Denzitu reakčního produktu HBD i ICD jsme měřili při vlnové délce 480 nm, která ve zvolené konfiguraci přístroje odpovídala maximální absorpci deponovaného reakčního produktu.

Koncentraci enzymů a jejich denzitu jsme měřili na 15 řezech každého úseku tenkého střeva, přičemž jsme na jednotlivých řezech hodnotili aktivitu dehydrogenáz na 15 střešních klících. Na každém prohlíženém střešním klíku jsme optickou koncentraci enzymů zjišťovali v 15–20 bodech, odpovídajících lokalizaci enterocytů.

| Sele■ ■         | DPP <sub>in</sub> * | DPI <sub>u</sub> ** | Věk <sup>1</sup> |
|-----------------|---------------------|---------------------|------------------|
| KsED 1, 2       | 1                   | 1                   | 2                |
| KsED 3          | 1                   | 2                   | 3                |
| KsED 4, 5       | 1                   | 3                   | 4                |
| KsED 6, 7       | 1                   | 4                   | 5                |
| KsED 8, 9       | 1                   | 5                   | 6                |
| KsED 10, 11, 12 | 1                   | 6                   | 7                |
| KsED 13, 14     | 1                   | 7                   | 8                |
| KsED 15, 16     | 1                   | 8                   | 9                |
| KsED 17         | 1                   | 9                   | 10               |
| KsED 18, 19     | 1                   | 10                  | 11               |
| K1—K4***        | 0                   | 0                   | 2—5              |

■ ■ KsED — konvenční sele — *E. deblickei*: \*infekce ve dnech po porodu; \*\*utracení ve dny po infekci; \*\*\*kontrolní selata — ■ ■ KsED — conventional piglet — *E. deblickei*; \*infection on days after parturition; \*\*killing on days after infection; \*\*\*control piglets  
<sup>1</sup>age

Na každém bodu jsme denzitu proměřili v pozici supra-, para- a infranukleární a výsledky jsme pak převedli do průměrných hodnot, prezentujících denzitu jednotlivých enterocytů.

Takto získané údaje jsme statisticky zpracovali (ze všech úseků tenkého střeva) a stanovili průměrnou hodnotu denzity ( $D\bar{x}$ ) reakčního produktu HBD a ICD v absorpčních buňkách pro každý úsek tenkého střeva samostatně.

Podrobnou charakteristiku denzitometrické analýzy obrazu, včetně širšího souboru statistických modelů podává ve své práci Kudweis (1989).

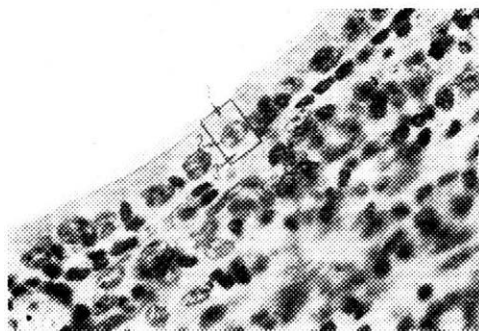
## VÝSLEDKY

Aktivitu HBD i ICD jsme studovali na úrovni supra-, infra- a paranukleární oblasti enterocytů (obr. 1).

U kontrolních konvenčních selat ve věku 2—5 dnů jsme prokázali topografický gradient u obou dehydrogenáz, jejichž aktivita od sliznice duodena směrem aborálním stoupá.

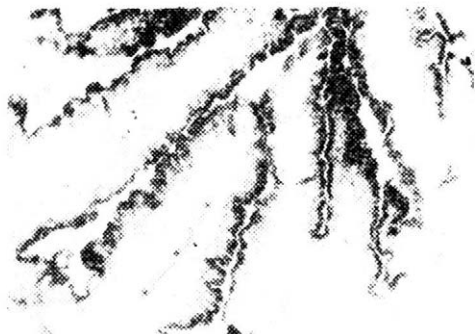
V případě HBD nárůst denzity (duodenum — ileum) odpovídá 4,3 %; u ICD je zvýšení méně zřetelné (1,9 %). V lokalizaci má lepší topiku ICD, která je deponována převážně v supranukleární zóně absorpčních buněk. Infra- a paranukleárně je anzym lokalizován pouze ve stopových koncentracích. Slabou pozitivitu ICD jsme ve sliznici střevní kontrolních selat prokázali také na úrovni stromatu střevních klků, v lokalitě *lamina muscularis mucosae* (obr. 2). V celulární lokalizaci jsme v jednotlivých úsecích tenkého střeva kontrolních selat žádné odlišnosti nezaregistrovali (obr. 3).

HBD je lokalizován disperzně, ve všech oblastech enterocytů téměř na shodné úrovni. Také v případě této dehydrogenázy se nám podařilo prokázat její depozici, ve srovnání s aktivitou ICD silnější, ve svalové vrstvě střevních klků a také v buňkách střevních krypt (obr. 4). Celkově však ve sliznici tenkého střeva kontrolních selat převažuje aktivita ICD, jejíž  $D\bar{x}$  je o 23,4 % vyšší, než je denzita HBD.



1. Absorpční povrch tenkého střeva v oblasti jejunu (detail); 1 — supra-, 2 — para-, 3 — infranukleární oblast enterocytů; □ — lokalita absorpční buňky (zv. 800×, HE) — The absorption surface of small intestine in the jejunum region (detail view); 1 — supra-, 2 — para-, 3 — infranuclear region of enterocytes; □ — absorption cell locality (enl. 800×, HE)

2. Reakce na ICD. Reakční produkt je lokalizován zejména v supranukleární zóně enterocytů (→). Kontrolní sele ve věku 3 dnů, oblast zadního jejunu; \* — pozitivita ICD v *lamina muscularis mucosae* (zv. 140×) — The reaction to ICD. The reaction product is localized mainly in the supranuclear zone of enterocytes (→). A control piglet at the age of 3 days, posterior jejunum region; \* — ICD positivity in the *lamina muscularis mucosae* (enl. 140×)



3. Reakce na ICD. Reakční produkt je lokalizován zejména v supranukleární zóně enterocytů (→). Kontrolní sele ve věku 5 dnů, oblast duodena (zv. 140×) — The reaction to ICD. The reaction product is localized mainly in the supranuclear zone of enterocytes (→). A control piglet five days old, duodenum region (enl. 140×)

4. Reakce na HBD. Reakční produkt je rozložen v celé ploše enterocytů (↔). Kontrolní sele ve věku 3 dny, oblast zadního jejunu (zv. 160×) — The reaction to HBD. The reaction product is spread over the whole area of enterocytes (↔). A control piglet at the age of 3 days, posterior jejunum region (enl. 160×)



U experimentálně infikovaných selat jsme u obou dehydrogenáz zaznamenali pokles aktivity již 1. DPI.

Denzita HBD se snižovala ve sliznici všech studovaných úseků tenkého střeva v podstatě shodně. Zbytková aktivita enzymu byla deponována především v intranukleární zóně enterocytů (obr. 5).

Statisticky významné predispozice k hypoaktivitě HBD se nám prokázat nepodařilo. Nejnižší  $Dx$  v celém tenkém střevě jsme zjistili 9. DPI (22,8 % kontrolních zjištění), přičemž se aktivita HBD pohybovala v rozmezí od 22,9 (střední jejunum; obr. 6) do 28,2 % (duodenum). 10. DPI jsme zaregistrovali nástup funkčních reparativních změn, kdy se  $Dx$  HBD v absorpčních buňkách zvýšila na 44,7 % fyziologické aktivity. Tato rekonstrukce měla variabilitu od 34,2 (střední jejunum) do 54 % (ileum).

Domníváme se, že přes poměrně vyrovnaný deficit HBD v celém tenkém střevě během experimentální infekce, je obnova aktivity tohoto enzymu reálnější v zadních partiích tenkého střeva.

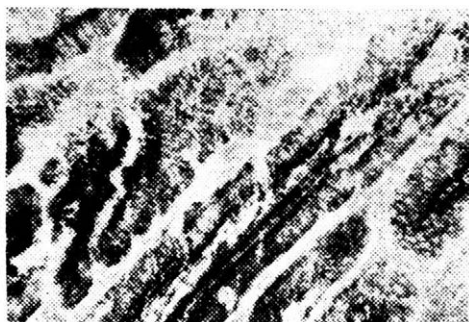
Také  $Dx$  ICD enterocytů se snižuje u infikovaných selat poměrně vyrovnaně. Výjimkou je 4. a 5. DPI, kdy je přednostně deficitní sliznice zadního jejunum a ilea (4. DPI) a duodena a středního jejunum (5. DPI).

Nejméně je sliznice tenkého střeva aktivitou ICD vybavena 8. DPI, kdy  $Dx$  dosahuje 68,1 % úrovně kontrolních hodnot s variabilitou od 67,5 (zadní jejunum; obr. 7) do 69,4 % (ileum).



5. Reakce na HBD. Zbytková aktivita deponována zejména v intranukleární zóně enterocytů 5. DPI v oblasti středního jejunum (-); \* — pozitivita HBD v buňkách střevních krypt — The reaction to HBD. The residual activity is deposited mainly in the intranuclear zone of enterocytes on DAI 5 in the middle jejunum region (-); \* — HBD positivity in the cells of intestinal crypts

6. Reakce na HBD. Značně redukována aktivita dehydrogenázy 9. DPI v oblasti středního jejunu. Aktivita stále převažuje v infranukleární zóně enterocytů (zv. 160×) — The reaction to HBD. The markedly reduced activity of dehydrogenase on DAI 9 in the middle jejunum region. The activity is still prevailing in the infranuclear zone of enterocytes (enl. 160×)



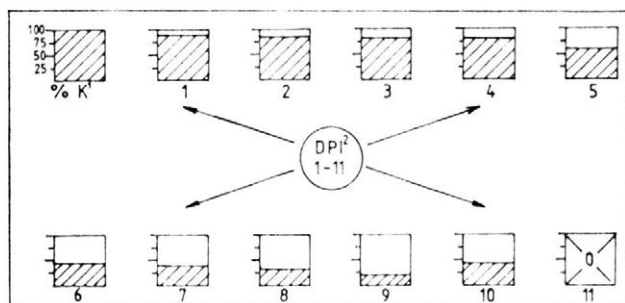
7. Reakce na ICD. Výrazný pokles aktivity ICD po celém obvodu střevních klků 8. DPI v oblasti zadního jejunu (zv. 140×) — The reaction to ICD. A marked decrease in the ICD activity along the periphery of intestinal villi on DAI 8 in the posterior jejunum region (enl. 140×)

9. a 10. DPI se nám podařila prokázat nastupující úprava aktivity ICD absorpčních buněk, která byla nepatrně vyšší v oblasti duodena a středního jejunu. 9. DPI celková úprava dosáhla  $Dx$  92,7 % (89,7 % v zadním jejunu — obr. 8 až 94,6 % v duodenu) a 10. DPI 93 % (90,3 % v ileu až 95,5 % v duodenu).

Prokázali jsme tedy, že dva enzymy téhož (dehydrogenázového) komplexu mají odlišnou topografickou rekonstrukci syntetické schopnosti, pravděpodobně ve vztahu k různé lokalizaci kmenových enterocytů, časovému působení enterálního vlivu použité kokcidie a především ke specifické citlivosti obou dehydrogenáz.

Statistiku vývoje aktivity HBD a ICD ve sliznici střevní infikovaných selat dokumentuje tab. II a obr. 9 a 10.

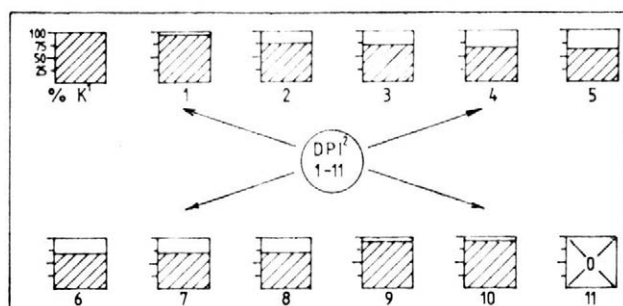
8. Reakce na ICD. Rekonstrukce aktivity ICD 9. DPI v oblasti zadního jejunu. Apex střevních klků zůstává převážně stále deficitní (\*; zv. 140×) — The reaction to ICD. The resumption of ICD activity on DAI 9 in the posterior jejunum region. The apex of intestinal villi is mostly deficient in this activity (\*; enl. 140×)



9. Vývoj aktivity HBD [%] ve sliznici tenkého střeva infikovaných selat — The development of the HBD activity [%] in the small intestine mucosa of infected piglets

Explanatory notes to Figs. 9—10: <sup>1</sup>control value, <sup>2</sup>days after infection

10. Vývoj aktivity ICD [%] ve sliznici tenkého střeva infikovaných selat — The development of ICD activity [%] in the small intestine mucosa of infected piglets



II. Vývoj aktivity HBD [a] a ICD [b] ve sliznici tenkého střeva infikovaných selat — statistika\* — The development of HBD [a] and ICD [b] activities in the small intestine mucosa in infected piglets — statistics\*

| Střevo** |                | DPI1  | DPI2  | DPI3  | DPI4  | DPI5  | DPI6 | DPI7 | DPI8 | DPI9  | DPI10 | K1—K4■ |
|----------|----------------|-------|-------|-------|-------|-------|------|------|------|-------|-------|--------|
| <b>a</b> | D              | 97,7  | 97,4  | 90,3  | 87,2  | 57,6  | 36,7 | 40,1 | 34,1 | 30,1  | 41,9  | 104,4  |
|          | J <sub>1</sub> | 101,3 | 102,4 | 81,5  | 95,9  | 62,0  | 38,5 | 32,5 | 31,3 | 24,6  | 36,7  | 105,4  |
|          | J <sub>2</sub> | 104,8 | 96,2  | 93,1  | 88,4  | 62,2  | 40,3 | 30,9 | 33,0 | 25,2  | 55,1  | 109,1  |
|          | I              | 99,8  | 100,1 | 97,7  | 87,1  | 62,7  | 41,9 | 41,7 | 34,2 | 24,7  | 57,8  | 109,0  |
|          | $\bar{x}$      | 100,9 | 99,2  | 90,3  | 89,7  | 61,1  | 39,4 | 36,3 | 33,2 | 26,2  | 47,9  | 106,9  |
|          | %■ ■           | 94,3  | 92,6  | 84,8  | 83,8  | 57,1  | 36,8 | 33,9 | 30,9 | 24,4  | 44,7  | 100,0  |
| <b>b</b> | D              | 136,8 | 95,8  | 99,0  | 100,9 | 93,1  | 95,7 | 95,5 | 95,3 | 132,1 | 133,4 | 137,0  |
|          | J <sub>1</sub> | 139,0 | 103,9 | 98,2  | 100,9 | 90,4  | 91,3 | 97,7 | 94,4 | 130,4 | 132,8 | 140,2  |
|          | J <sub>2</sub> | 137,3 | 114,6 | 101,4 | 97,2  | 100,3 | 94,1 | 96,2 | 94,3 | 125,2 | 127,2 | 140,3  |
|          | I              | 134,7 | 106,7 | 98,4  | 94,0  | 104,1 | 93,6 | 94,1 | 96,9 | 130,7 | 126,2 | 141,2  |
|          | $\bar{x}$      | 136,9 | 105,3 | 99,4  | 98,3  | 96,9  | 93,8 | 95,9 | 95,2 | 129,6 | 129,9 | 139,6  |
|          | %■ ■           | 98,1  | 75,4  | 71,1  | 70,3  | 69,4  | 67,2 | 68,6 | 68,1 | 92,7  | 93,0  | 100,0  |

\*výsledky v  $D\bar{x}$ ; \*\*D — duodenum; J<sub>1</sub> — střední jejunum; J<sub>2</sub> — zadní jejunum; I — ileum; ■ kontrolní selata; ■■ vývoj aktivity [%]  
 — \*the results in  $D\bar{x}$ ; \*\*D — duodenum; J<sub>1</sub> — middle jejunum; J<sub>2</sub> — posterior jejunum; I — ileum; ■ control piglets; ■■ activity development [%]

Kokcidióza sajících selat, etiologicky spojována s kokcidií *E. deblickei*, nemá podle některých autorů zpravidla ve vztahu k patologickému obrazu sliznice střeční tak závažný charakter, jako jiné druhy kokcidií rodu *Eimeria*, případně rodu *Isospora* (Stuart a Lindsay, 1986). Dokládá to také naše dřívější studie, ve které referujeme o minimálních změnách morfometrických dat střeční relífu selat, experimentálně infikovaných kokcidií *E. deblickei* (Kudweis aj., 1990).

Prepatentní perioda kokcie *E. deblickei* je zpravidla udávána 6,5 dne (Vetterling, 1965), patentní perioda 5 dnů (Vetterling, 1965) až 7 dnů (Lindsay, 1987). Za predispoziční lokalitu vývojových stadií kokcie uvádějí zmínění autoři přední úsek jejunu, popř. sliznici duodena.

Enzymy, řadící se do dehydrogenázového komplexu, mají ve sliznici střeční zásadní význam pro budování energetických vazeb a pro objektivní posouzení zralosti, resp. stupně opotřebování absorpčních buněk (Klein a McKenzie, 1983; Lojda, 1983).

Dehydrogenáz, které se dají podrobit vcelku seriózní histochemické analýze *in vivo* je známá v enterocytech lidského tenkého střeva celá řada (Lojda, 1974). Jedná se o skupinu enzymů, výhradně lokalizovaných v mitochondriích, případně pouze ojediněle v cytosolu (Lojda, 1969a; Frič aj., 1975; Lojda aj., 1979).

V cytoplazmatu enterocytů jsou mitochondrie lokalizovány v supra-, para- a také infranukleární zóně. Proto je aktivita dehydrogenáz nejčastěji rozložena po celé ploše absorpční buňky (Lojda, 1969a).

Z energetické příslušnosti dehydrogenáz, jak je uvádí Lojda (1974) je patrné, že v enterocytech je vysoká aktivita glykolitického, Krebsova a také pentózového cyklu. Energetického výtěžku za spoluúčasti dehydrogenáz buňka zpravidla užívá pro aktivní resorpci nejrůznějších substancí (Lojda, 1969a).

Vysokou aktivitou dehydrogenázového komplexu jsou vedle lidských absorpčních buněk vybaveny enterocyty sliznice střeční sajících selat (Marcaník, 1980; Kudweis a Lojda, 1989b, c) a běhounů (Lenhardt aj., 1988).

Značnou aktivitu dehydrogenáz obsahují rovněž absorpční buňky tenkého střeva hospodářsky významných ptáků. Dokládá to studie Marcaníka (1980), který se věnoval histochemii tenkého střeva kuřat.

3- $\beta$ -hydroxybutyrát dehydrogenáza (3-hydroxybutyrát-NAD<sup>+</sup>-transhydrogenáza; D-3-hydroxybutyrát-NAD<sup>+</sup>-oxidoreduktáza; EC. 1.1.1.30.; HBD) a izocitrát dehydrogenáza (3-DS-izocitrát-NAD<sup>+</sup>-oxidoreduktáza; EC. 1.1.1.41.; ICD) patří do skupiny koenzym-dependentních dehydrogenáz (Lojda aj., 1979).

HBD je kromě významného enzymu v metabolismu mastných kyselin konvertorem především D-3-hydroxybutyrátu na acetoacetát, který je důležitý pro získání a transformaci energie. HBD se však zúčastňuje také zpětné redukce acetoacetátu na D-3-hydroxybutyrát (Iijima a Imai, 1976) a je enzymem, majícím rozhodující úlohu pro tvorbu pohotového energetického paliva. Její deficit, kromě přímého energetického bloku, také značně redukuje biosyntézu ketonových látek, tzv. Lynelův cyklus (Firmansyah aj., 1989). Je lokalizována pouze v mitochondriích (Lojda, 1969a).

ICD se v buňkách vyskytuje ve dvou formách. ICD-NADP-dependentní (EC. 1.1.1.42.), vázané v mitochondriích a volně v cytosolu a ICD-NAD<sup>+</sup>-dependentní (EC. 1.1.1.41.), deponované výlučně na mitochondriální membrány a matrix (Lojda aj., 1979).

V naší práci jsme studovali aktivitu ICD-NAD<sup>+</sup>-dependentní, která má zásadní význam pro dekarboxylaci izocitrátu a syntézu 2-oxoglutarátu. Je enzymem, který je považován za klíčový, udávající krok a dynamiku celému citrátovému cyklu (Iijima a Imai, 1976; Elias aj., 1982).

Dehydrogenázy, včetně HBD a ICD, jsou zastoupeny kromě enterocytů také v jiných živočišných buňkách.

V žaludečních slizničních buňkách krys vysokou aktivitu některých dehydrogenáz, včetně ICD, popisuje Kataoka (1970). V některých buňkách mozku krys prokázali dehydrogenázy Iijima a Imai (1976). V srdeční svalovině pozorovali Elias aj. (1982), kromě jiných dehydrogenáz, také vysokou aktivitu HBD a ICD. V lidské mléčné žláze stejný soubor dehydrogenáz doložil Elias (1985). V lidské hladké svalovině a svalovině některých laboratorních zvířat za fyziologických podmínek dehydrogenázy (mimo jiné také HBD) zjistil Gullotta (1985). Na komplex dehydrogenáz jsou bohaté také epiteliální buňky placenty, jak při studiu histochemického obrazu placenty prasat prokázali Skolek-Winnisch aj. (1986).

Dehydrogenázové komplexy jsou značně citlivé na vlivy, které působí v negativním slova smyslu změnu vnitřního prostředí zažívacího systému.

Na úbytek aktivity mitochondriálních enzymů, včetně některých dehydrogenáz v lidské sliznici tenkého střeva u malabsorpčního syndromu upozorňuje Lojda (1969b). Nepopisuje změnu aktivity dehydrogenáz v jednotlivých oblastech enterocytů, ani ve výškové topografické depozici střevních klků a krypt.

Snížení koncentrace dehydrogenáz a dalších enzymů pozorovali ve sliznici střevní selat infikovaných kokcií *I. suis* Kudweis (1989), Kudweis a Lojda (1989a) a Kudweis aj. (1989) a při infekci běhounů kokcií *E. scabra* Kudweis aj. (1987).

Značný úbytek aktivity dehydrogenáz prokázal Marcaník (1980) ve sliznici tenkého střeva selat s experimentálně vyvolanou gastroenteritidou inokulací tzv. terénního viru IGO a v tenkém střevě kuřat intoxikovaných pyridathionem.

U mladších kategorií prasat, zaostávajících v růstu při neinfekční etiologii, popisuje snížení celého souboru enzymů, včetně aktivity vybraných dehydrogenáz ve sliznici tenkého střeva Lenhardt aj. (1988).

Při etiologicky nedefinované malnutricii krys pokles aktivity dehydrogenáz v enterocytech tenkého střeva zaregistrovali Firmansyah aj. (1989).

Z uvedeného přehledu je patrné, že hypoaktivita dehydrogenáz je obecným charakteristickým rysem, postihujícím sliznici tenkého střeva při různých infekčních a neinfekčních lézích.

V naší práci jsme prokázali, že nejvíce deficitní je tenké střevo na obě studované dehydrogenázy 8. resp. 9 DPI, tedy v období počátku patentní periody (Vetterling, 1965; Lindsay aj., 1987). Stejně výsledky jsme doložili při téže infekci u selat také v případě histochemického studia aktivity glukózo-6-fosfatázy ve střevní sliznici, u které jsme nej-

nižší hodnoty denzity prokázali 8. až 9. (resp. 10.) DPI (Kudweis aj., 1991).

Domníváme se, že na základě současných výsledků, které jsou závažným doplněním našich dřívějších poznatků (Kudweis aj., 1991), lze postulovat několik závěrů.

Předně skutečnost, že kritickým dnem infekce selat kokcií *E. deblickei* je 8.—9. DPI. V tomto období je kromě defektní diferenciacie enteroblastu (Kudweis aj., 1991) závažně poškozen energetický metabolismus, zejména pak energetika citrátového cyklu a přeměna mastných kyselin.

Předpokládáme však, že je nutné uvažovat také o patologické rekonstrukci buněčných organel, včetně mitochondrií v procesu normální, cyklické reepitelizace sliznice střevních klků, jak ji popisují Klein a McKenzie (1983).

Závěrem je možné uvést, že přes nevýrazné změny architektury tenkého střeva při infekci selat kokcií *E. deblickei*, lze přesto považovat tuto kokcií za značně patogenní, zásadně ovlivňující funkční vlastnosti slizničního povrchu.

#### Poděkování

Autoři děkují paní Ivaně Šimkové a panu Miroslavu Kolegarovi, pracovníkům technicko-hospodářské správy Jihočeského biologického centra ČSAV v Českých Budějovicích, za velmi pečlivé a kvalitní vypracování fotodokumentace, která je součástí této práce.

#### Literatura

- BARKA, T. — ANDERSON, P. J.: Histochemistry. Hoeber Medical Division, NY, 1963, s. 300—306.
- ELIAS, E. A.: Metabolic studies as a diagnostic measure for cancer I. Adenocarcinomas of different organs, especially the human mamma. Cell. and Molec. Biol. 31, 1985, s. 281—298.
- ELIAS, E. A. — ELIAS, R. A. — DE VRIES, G. P. — MEIJER, A. E. F. H.: Early and late changes in the metabolic pattern of the working myocardial fibres and Purkinje fibres of the human heart under ischaemic and inflammatory conditions: an enzyme histochemical study. Histochem. J., 14, 1982, s. 445—459.
- FIRMANSYAH, A. — PENN, D. — LEBENTHAL, E.: Isolated colonocyte metabolism of glucose, glutamine, n-butyrate, and  $\beta$ -hydroxybutyrate in malnutrition. Gastroenterology, 97, 1989, s. 622—629.
- FRÍČ, P. — LOJDA, Z. — MALIŠ, F. — JODL, J.: Enzymy sliznice tenkého střeva u malabsorpčního syndromu. In: MAŘATKA, Z. (ed): Pokroky v gastroenterologii. Praha, Avicenum 1975, s. 225—251.
- GULLOTA, F.: Metabolic myopathies. Path. Res. Pract., 180, 1985, s. 10—18.
- CHROUSTOVÁ, E.: Výskyt helmintů a cizopasných prvoků u prasat v chovech s velkovýrobní technologií. Veterinářství, 30, 1980, s. 275—278.
- IJIMA, K. — IMAI, K.: Histochemical studies on the morphology of the golgi apparatus and on the enzymes of carbohydrate metabolism in various nuclei of the rat mesencephalon. Histochemistry, 46, 1976, s. 200—227.
- KATAOKA, K.: Electron microscopic observations on cell proliferation and differentiation in the gastric mucosa of the mouse. Arch. histol. jpn., 32, 1970, s. 251—273.
- KLEIN, R. M. — Mc KENZIE, J. C.: The role of cell renewal in the ontogeny of the intestine. I. Cell proliferation patterns in adult, fetal, and neonatal intestine. J. Pediatr. Gastroenterology and Nutrition, 2, 1983, s. 10—43.
- KUDWEIS, M.: Histochemie enzymů sliznice tenkého střeva při experimentální infekci selat kokcií *Isospora suis*. [Kandidátská disertace.] České Budějovice, 1989, 225 s. — ČSAV.
- KUDWEIS, M. — LOJDA, Z.: Activity of alkaline phosphatases in goblet cells of the small intestine of piglets during experimental enteritis. Progress in basic, applied and diagnostic histochemistry, Košice, 1989a, s. 21.

- KUDWEIS, M. — LOJDA, Z.: The small intestine's histochemistry of suckling piglets. *Physiol. bohemoslov.*, 38, 1989b, s. 546.
- KUDWEIS, M. — LOJDA, Z.: The small intestine's histochemistry of suckling piglets in the early postnatal development. *Folia fac. Med.*, 66, 1989c, s. 60.
- KUDWEIS, M. — LOJDA, Z. — JULIŠ, I. — LENHARDT, L. — MARCANÍK, J.: Syntéza glukózo-6-fosfatázy sliznice tenkého střeva během experimentální kokcidiózy sajících selat. *Veter. Med. [Praha]*, 36, 1991, s. 281–290.
- KUDWEIS, M. — LOJDA, Z. — VÍTOVEC, J. — KOUDELA, B.: Aktivita vybraných dehydrogenáz a monoaminoxidázy v tenkém střevě gnotobiotických selat infikovaných kokcidii *Isospora suis*. *Veter. Med. [Praha]*, 34, 1989, s. 287–296.
- KUDWEIS, M. — VÍTOVEC, J. — KOUDELA, B.: Some histochemical findings on the intestinal mucosa of piglets during experimental infection with coccidia of *Eimeria scabra*. *Histochem. J.*, 19, 1987, s. 615–616.
- LENHARDT, L. — PAUER, T. — ŠKARDA, R.: Histochemický obraz jejunu a ilea prasat zaostávajících v raste. In: XXXII. Vedecká konference SLS — společnosti patológov, Rožňava, 1988, s. 48.
- LINDSAY, D. S. — BLAGBURN, B. L. — BOOSINGER, T. R.: Experimental *Eimeria debilecki* infections in nursing and weaned pigs. *Veter. Parasitol.*, 25, 1987, s. 39–45.
- LOJDA, Z.: Anatomie, histologie, histochemie a elektronová mikroskopie tenkého střeva. In: FRIČ, P. (ed.): Malabsorpční syndrom. Praha, SZdN 1969a, s. 19–41.
- LOJDA, Z.: Histochemie a elektronová mikroskopie tenkého střeva u malabsorpčního syndromu. In: FRIČ, P. (ed.): Malabsorpční syndrom. Praha, SZdN 1969b, s. 108–115.
- 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.: Ústrojí trávicí. VII: Střevo. In: BEDNÁŘ, B. (ed.): Patologie, sv. 2, Praha, Avicenum 1983, s. 987–1026.
- LOJDA, Z. — GOSSRAU, R. — SCHIEBLER, T. H.: Enzyme histochemistry. A laboratory manual. Berlin — Heidelberg — New York, Springer Verlag, 1979, s. 88–127.
- MARCANÍK, J.: Histotopochemie enzymov pri niektorých alternatívnych procesoch vo veterinárnej patológii. [Habilitačná práca.] Košice, 1980, s. 70–93 — Vysoká škola veterinárna.
- NÁPRAVNÍK, J. — FAJKOŠ, A.: Měkký výběh jako ohnisko kokcidiózy a enterohelmin-tózy v rozmnožovacím chovu prasat. *Sbor. Vys. Šk. zeměd., Fak. agron., Řada B., díl 1*, Praha, 1978, s. 3–19.
- SKOLEK-WINNISCH, R. — LIPP, W. — SINOWATZ, F. — FRIESS, A. E.: Enzyme histochemical studies of the pig's placenta. *Acta histochem.*, 79, 1986, s. 229–241.
- STUART, B. P. — LINDSAY, D. S.: Coccidiosis in swine. *Veter. Clin. of North Amer.: Food Animal Pract.*, 2, 1986, s. 455–467.
- VETTERLING, J. M.: Coccidia (Protozoa: Eimeriidae) of swine. *J. Parasit.*, 51, 1965, s. 897–912.

Došlo dne 22. 5. 1990

KUDWEIS, M. — LOJDA, Z. — JULIŠ, I. — LENHARDT, L. — MARCANÍK, J. (Research and diagnostical Histochemistry Laboratory of the Regional Hospital, Český Krumlov; Laboratory of Histochemistry at the Faculty of Medicine, Charles University, Praha; University of Veterinary Medicine, Košice): *The activity of dehydrogenases in the small intestine mucosa during experimental coccidiosis of suckling piglets*. *Veter. Med. [Praha]*, 36, 1991 (7): 401–413.

The activities of 3- $\beta$ -hydroxybutyrate dehydrogenase (EC. 1.1.1.30; HBD) and isocitrate dehydrogenase (EC. 1.1.1.41; ICD) were evaluated microdensitometrically in the mucosa of duodenum, jejunum and ileum of 19 conventional piglets infected on the first day after parturition (DAP) with oocysts of *Eimeria debilecki* coccidium (infection dose of 200 000 oocysts). The two investigated enzymes are deposited in mitochondria which are dispersed in the supra-, para- and infranuclear region of absorption cells (Fig. 1). The synthesis of the two dehydrogenases was investigated in the small intestine mucosa in the period of 1st to 10th day after infection (DAI). The HBD and ICD activities were also followed in the small intestine of four control conventional piglets at the age of 2–5 days (Tab. I). The two dehydrogenases could be characterized by a topographic gradient; it means that their activity was increasing in the small intestine mucosa through duodenum in an aboral direction. The ICD activity is higher in the intestinal mucosa of healthy piglets (Figs. 2 and 3), where its topic concentra-

tion was more marked while the HBD activity is dispersed in enterocytes (Fig. 4). In infected piglets the density of the two enzymes was demonstrated to decrease already in the starting period of experimental infection, and it reaches the lowest values for the first time on DAI 5—6 (Fig. 5, Tab. II), then on DAIs 9 (HBD; Fig. 6, graph I) or 8 (ICD; Fig. 7 and 10). In the period of experimental infection no statistically significant predisposition to the hypoactivity of target dehydrogenases nor its marked shift were observed. Somewhat rapid resumption of synthesis was demonstrated as soon as on DAI 8 in ICD (Fig. 8); its activity on DAI 10 in the intestinal mucosa corresponded to the 93% activity of this dehydrogenase recorded in the small intestine of control piglets. The density of HBD to the same day (DAI 10) reached in the intestinal mucosa of infected piglets the values making only 44.7 % of those demonstrated in the intestinal mucosa of the control group of animals.

experimental infection; conventional piglets; histochemistry; mitochondrial enzymes; microdensitometry

---

#### *Adresy autorů:*

Doc. MVDr. Miloš Kudweis, CSc., Výzkumná a diagnostická histochemická laboratoř, nemocnice, 381 27 Český Krumlov  
Prof. MUDr. Zdeněk Lojda, DrSc., člen koresp. ČSAV, MUDr. Ivan Juliš, CSc., Laboratoř pro histochemii, lékařská fakulta UK, Studničkova 2, 128 00 Praha 2  
MVDr. Ludovít Lenhardt, CSc., doc. MVDr. Josef Marcaník, CSc., Vysoká škola veterinární, Komenského 73, 041 81 Košice

---

Upozornění pro příspěvatele 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

A. Holub

---

HOLUB, A. (Ústav biochemie a genetiky živočichů SAV, Ivanka pri Dunaji): *Konzum vody selaty časně odstavovanými v různém věku na tekutou dietu. Veter. Med. (Praha), 36, 1991 (7): 415–422.*

U 72 selat bílého ušlechtilého plemene odstavených buď v druhém, šestém, desátém, či čtrnáctém dnu po narození jsme do věku čtyř týdnů měřili konzum vody. Selata byla individuálně odchována v termoneutrální zóně na tekuté dietě obsahem makronutrientů podobné mléku prasníc a hydratované ze 78,47 %. Dieta jim byla nabízena k sání devětkrát denně ve dvouhodinových intervalech. Zjistili jsme, že věk selat při odstavení významně ovlivňuje příjem vody. U selat odloučených od prasníc časněji je denní ingesce vody vyšší než u jedinců podrobených tomuto zákroku později; u skupiny první dosahuje až 29, u druhé 26, u třetí 28 a u čtvrté 20 % živé hmotnosti. Na metabolickou hmotnost je to ještě více, u první skupiny koncem čtvrtého týdne dokonce přes 40 %. Přesto, že intervaly zahájení odstavení mezi jednotlivými skupinami selat byly vždy stejné (čtyři dny), rozdíly v jejich konzumu vody stejné nebyly. Mezi první a druhou a mezi třetí a čtvrtou skupinou byly menší, než mezi druhou a třetí. Tato skutečnost potvrzuje předchozí zobrazení o periodizaci raného postnatálního života selat. Začátek odstavení prvních dvou skupin totiž spadá do období označeného jako kojenecké, zatímco dvou dalších skupin do periody odstavení. V důsledku rozdílného příjmu vody i živin selata odstavená později i méně rostla.

sele; první čtyři týdny po narození; postnatální vývoj; období sání; perioda odstavení

---

V prvním měsíci postnatálního života se selata vyznačují vysokým konzumem bruttoenergie (BE) i vody, jejíž ingesce je při sání mléka s příjmem živin neoddelitelně spojena. V tradičním způsobu odchovu, kdy jsou prasnici kojena a v průběhu třetího týdne počínají být přikrmováni, přijímají na jednotku hmotnosti BE nejvíce (Holub, 1962, 1968, 1988). Relativní konzumace vody dosahuje maxima v týdnu druhém (Aumaitre, 1964, 1965), tj. za den asi čtvrtiny živé hmotnosti, což je dvaapůlkrát víc, než u prasat vzrostlých. Na metabolickou hmotnost je ingesce vody ještě větší (Holub, 1990).

U selat odstavených druhý den po narození na tekutou dietu, obsahem makronutrientů podobnou mléku prasnice, je denní konzum BE i vody ještě vyšší (Holub, 1964, 1982, 1988; Holub a Komárek, 1964). Po krátkodobém přizpůsobení dosahuje za den 15–16 % živé hmotnosti (Ponížilová a Holub, 1964), ve třetím a čtvrtém týdnu čtvrtiny jejich živé hmotnosti a ve čtvrtém třetiny jejich metabolické hmotnosti (Holub, 1990).

Bylo však doloženo, že se tento relativně velký konzum živin a BE mění v závislosti na věku, v němž byla selata odstavena. Při odstavu mezi druhým a čtrnáctým dnem je u jedinců izolovaných časněji v prvních čtyřech týdnech postnatálního života vyšší (Holub, 1971, 1988).

Jaké jsou však důsledky věku selat, v němž počala být individuálně odchována při pevně stanoveném nutričním režimu, na spotřebu vody, zatím popsáno nebylo. Cílem předkládaného sdělení je doplnit dosa-  
vadní poznatky.

## MATERIÁL A METODY

Konzum vody jsme měřili u 72 selat plemene bílého ušlechtilého, rozdělených do čtyř skupin. První byla odebrána od prasnic 2., druhá 6., třetí 10. a čtvrtá 14. den života. Poté jsme je odchovávali individuálně v tepelné pohodě, způsobem který jsme již popsali dříve (Holub, 1964, 1966, 1988, 1990; Holub a Komárek, 1964). Živil je výlučně tekutou dietou (Holub, 1963), kterou jsme jim po zahřátí na teplotu těla nabízeli k sání z lahví přes savičku *ad libitum* ve dvouhodinových inter-  
valech devětkrát denně s osmihodinovou noční přestávkou. Její konzum jsme měřili vážením lahví s dietou před a po sání. Dieta obsahovala 4,95 % hrubého proteinu, 6,78 % tuků, 8,59 % sacharidů a 5,36 MJ.kg<sup>-1</sup> BE. Hydratována byla ze 78,47 %; na 1 MJ BE a 1 g bílkovin měla tudíž 146, případně 16 g vody. Živou hmotnost selat jsme kontrolovali denně vždy před prvním sáním. Jejich relativní růst jsme vyjadřovali podle Brodyho (1945). Výsledky měření byly statisticky hodnoceny Studentovým *t*-testem, jejich variabilita vyjadřována střední chybou průměru.

## VÝSLEDKY

Denní konzum vody se u selat všech čtyř skupin po jedno- nebo dvou-  
denním přizpůsobení novému nutričnímu režimu s věkem zvyšoval; ve skupině první (od 3. do 28. dne) 5,93krát, v druhé (od 7. do 28. dne) 3,88krát, ve třetí (od 13. do 28. dne) 3,44krát a ve čtvrté (od 16. do 28. dne) 2,31krát. Stoupající trend ingesce vody byl ve všech čtyřech skupinách souběžný. U prvé a druhé byl její růst dokonce téměř stejně velký. Statisticky průkazně se lišil jen 8. a 16. den (druhá skupina měla konzum vyšší) a 26. den (měla jej naopak nižší). Skupina třetí však vykazovala statisticky průkazně menší příjem vody než druhá až 22. den po celé srovnávané období. Skupina čtvrtá ingestovala, s výjimkou 16. a 28. den, vody statisticky průkazně méně (obr. 1).

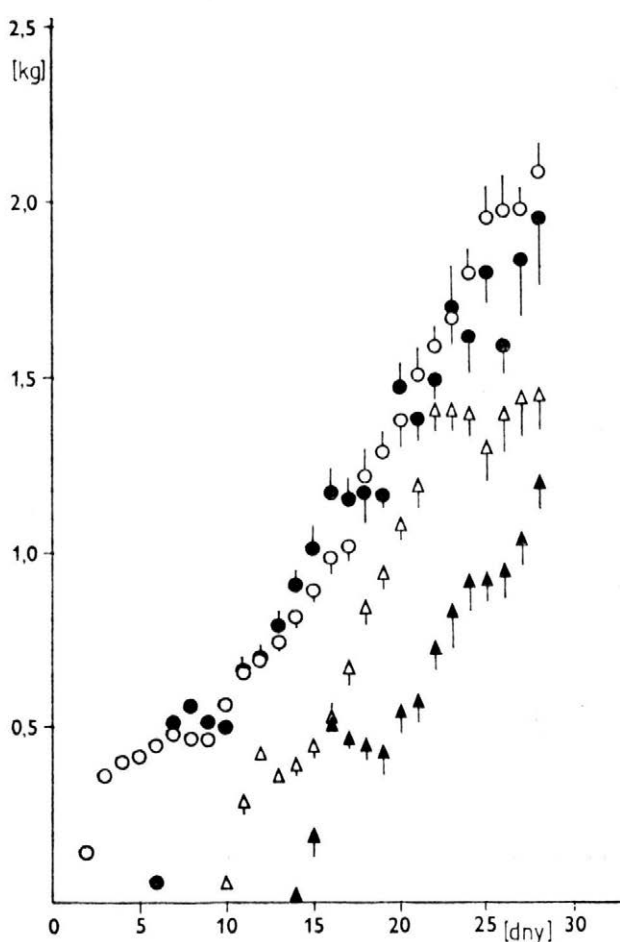
Jednotlivé skupiny selat se lišily svou hmotností na začátku experimentu, a to již proto, že do něho vstupovaly v různém věku, tj. dva až čtrnáct dnů. Selata odstavená později byla, až na skupinu poslední, průkazně těžší. Na konci pokusu tomu bylo opačně; čím vyšší věk při zahájení odstavu, tím menší hmotnost ve čtyřech týdnech (s výjimkou druhé skupiny). Selata totiž rostla během pokusu nestejně. V první skupině zvýšila hmotnost 5,99krát, v druhé 3,61krát, ve třetí 2,36krát, ve čtvrté 1,70krát. Rozdíly v přírůstcích hmotnosti byly podmíněny i nestejným trváním experimentu; u skupiny první probíhal 26, druhé 22, třetí 18, a u poslední jen 14 dnů. V denních přírůstcích jednotlivých skupin však průkazně rozdílné nebyly.

Jinak se jevil relativní růst, aktuální hmotnost selat jako proměnnou korigující. Podle tohoto kritéria rostla selata první skupiny nejvíce, čtvrté nejméně. U skupiny odstavené ve vyšším věku (o čtyři dny později), byl růst vždy o polovinu nižší (tab. I).

Denní hydratace selat vyjádřená v procentech jejich živé hmotnosti činila po adaptaci na nový nutriční režim u první skupiny od 20,1 ± 0,8

1. Denní konzum vody [g . kg<sup>-0.75</sup>] selaty odstavenými v různém věku [dny] na tekutou dietu — The daily consumption of water [g . kg<sup>-0.75</sup>] in weanling piglets transferred to liquid food at different age [days]

Selata odstavená po narození:  
○ 2. den, ● 6. den, △ 10. den,  
▲ 14. den (platí i pro obr. 2)  
— The piglets weaned on the  
○ 2nd day, ● 6th day, △ 10th  
day, ▲ 14th day after birth  
(also applies to Fig. 2)



do  $28,6 \pm 1,3$  %, u druhé od  $16,5 \pm 0,5$  do  $26,4 \pm 1,7$  %, u třetí od  $11,0 \pm 0,6$  do  $27,2 \pm 1,0$  % a u čtvrté od  $11,1 \pm 1,7$  do  $20,0 \pm 1,3$  %. U první skupiny dosáhla ingesce vody již 4. den čtvrtiny živé hmotnosti, u druhé skupiny po dvou dnech pokusu pětiny, u třetí a čtvrté desetiny. Relativní konzum vody selat všech skupin zprvu stoupal, pak měl průkazné výkyvy, ale byl vždy vysoký. Jednotlivé skupiny se však spotřebou vody mezi sebou lišily. Nejvyšší byla u první, u druhé byla z 21 srovnávaných dnů 13 dnů (9.—12.; 18.—22. a 24.—27.) jřůkazně nižší, u třetí skupiny byla ze 17 dnů 6 dnů nižší (12.—17.) a ve dvou vyšší (20. a 22.) než u druhé, u čtvrté skupiny byla ze 13 srovnávaných dnů po 8 dnů průkazně nižší (17.—24.) než u třetí (tab. II).

Na přírůstek hmotnosti však byla ingesce vody ve všech skupinách téměř stejná. Činila 3,64, 3,69, 3,77, případně 3,76 kg . kg<sup>-1</sup>.

I na metabolickou hmotu těla (kg<sup>0.75</sup>) se denní konzum vody u všech čtyř skupin selat měnil souběžně. Po krátkodobém kolísání či statisticky

I. Živá hmotnost a růst selat odstavených v 2., 6., 10. a 14. dnu po narození — The liveweight and growth of piglets weaned on the 2nd, 6th, 10th and 14th day after birth

|                                                    | 2                        | 6                         | 10                         | 14                         |
|----------------------------------------------------|--------------------------|---------------------------|----------------------------|----------------------------|
| Živá hmotnost na začátku pokusu <sup>1</sup> [kg]  | 1,54 ± 0,08 <sup>a</sup> | 2,67 ± 0,09 <sup>ab</sup> | 3,31 ± 0,18 <sup>abc</sup> | 3,69 ± 0,24 <sup>abc</sup> |
| na konci pokusu <sup>2</sup> [kg]                  | 9,22 ± 0,42              | 9,63 ± 0,39 <sup>a</sup>  | 7,81 ± 0,40 <sup>ab</sup>  | 6,28 ± 0,45 <sup>ab</sup>  |
| Celkový přírůstek živé hmotnosti <sup>3</sup> [kg] | 7,68 ± 0,50              | 6,96 ± 0,48 <sup>a</sup>  | 4,50 ± 0,58 <sup>ab</sup>  | 2,59 ± 0,69 <sup>ab</sup>  |
| Denní přírůstek živé hmotnosti <sup>4</sup> [g]    | 295 ± 19                 | 316 ± 22 <sup>a</sup>     | 250 ± 32                   | 185 ± 49 <sup>a</sup>      |
| Relativní růst <sup>5</sup>                        | 143 ± 9 <sup>a</sup>     | 113 ± 8 <sup>ab</sup>     | 81 ± 11 <sup>ab</sup>      | 52 ± 14                    |
| n                                                  | 39                       | 6                         | 19                         | 8                          |

a, b, c = údaje na téže řádce označené týmiž písmeny se od sebe statisticky průkazně liší ( $p < 0,05$ ); platí i pro tab. II — a, b, c = the same letters in the same line denote statistically different data ( $P < 0.05$ ); also applies to Tab. II

<sup>1</sup>live weight at the beginning of the trial, <sup>2</sup>at the end of the trial, <sup>3</sup>total weight gain, <sup>4</sup>daily weight gain, <sup>5</sup>relative growth

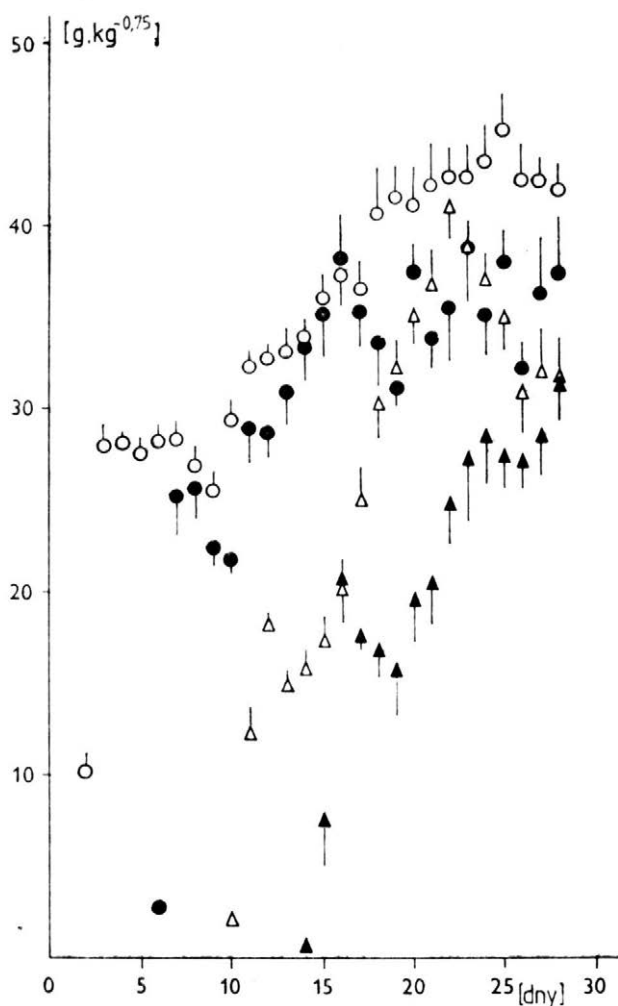
II. Relativní denní konzum vody u selat odstavených 2., 6., 10. a 14. den po narození v raném postnatálním období (% živé hmotnosti) — The relative daily water consumption in piglets weaned on the 2nd, 6th, 10th and 14th day after birth in the early postnatal period (% of live weight)

| Den pokusu <sup>1</sup> | 2                       | 6                        | 10                       | 14                      |
|-------------------------|-------------------------|--------------------------|--------------------------|-------------------------|
| 2                       | 9,1 ± 1,0               | —                        | —                        | —                       |
| 3                       | 24,0 ± 1,1              | —                        | —                        | —                       |
| 4                       | 25,0 ± 0,6              | —                        | —                        | —                       |
| 5                       | 23,9 ± 0,9              | —                        | —                        | —                       |
| 6                       | 24,1 ± 0,7              | 2,1 ± 0,2                | —                        | —                       |
| 7                       | 23,7 ± 0,9              | 19,9 ± 1,6               | —                        | —                       |
| 8                       | 22,3 ± 0,8              | 19,9 ± 1,3               | —                        | —                       |
| 9                       | 20,1 ± 0,8 <sup>a</sup> | 17,2 ± 0,7 <sup>a</sup>  | —                        | —                       |
| 10                      | 23,7 ± 0,9 <sup>a</sup> | 16,5 ± 0,5 <sup>a</sup>  | 1,6 ± 0,2                | —                       |
| 11                      | 25,5 ± 0,8 <sup>a</sup> | 22,0 ± 1,0 <sup>a</sup>  | 9,3 ± 1,1                | —                       |
| 12                      | 25,6 ± 0,7 <sup>a</sup> | 21,3 ± 1,0 <sup>ab</sup> | 12,9 ± 0,6 <sup>b</sup>  | —                       |
| 13                      | 25,3 ± 0,9              | 22,6 ± 1,3 <sup>b</sup>  | 11,0 ± 0,6 <sup>b</sup>  | —                       |
| 14                      | 25,4 ± 0,8              | 23,9 ± 1,1 <sup>b</sup>  | 11,5 ± 0,9 <sup>b</sup>  | 0,5 ± 0,0               |
| 15                      | 26,7 ± 1,0              | 24,7 ± 1,6 <sup>b</sup>  | 12,6 ± 1,0 <sup>b</sup>  | 5,5 ± 1,8               |
| 16                      | 27,0 ± 1,3              | 26,4 ± 1,7 <sup>b</sup>  | 14,6 ± 1,3 <sup>b</sup>  | 15,1 ± 0,8              |
| 17                      | 26,0 ± 1,1              | 23,9 ± 1,3 <sup>b</sup>  | 17,8 ± 1,3 <sup>bc</sup> | 12,7 ± 0,5 <sup>c</sup> |
| 18                      | 28,1 ± 1,8 <sup>a</sup> | 22,1 ± 1,6 <sup>a</sup>  | 21,4 ± 1,2 <sup>c</sup>  | 11,9 ± 1,0 <sup>c</sup> |
| 19                      | 28,6 ± 1,3 <sup>a</sup> | 20,0 ± 0,6 <sup>a</sup>  | 22,5 ± 1,1 <sup>c</sup>  | 11,1 ± 1,7 <sup>c</sup> |
| 20                      | 27,5 ± 1,4 <sup>a</sup> | 23,6 ± 1,1 <sup>ab</sup> | 24,0 ± 1,0 <sup>bc</sup> | 13,9 ± 1,6 <sup>c</sup> |
| 21                      | 27,7 ± 1,6 <sup>a</sup> | 21,1 ± 1,0 <sup>a</sup>  | 24,9 ± 1,3 <sup>c</sup>  | 14,3 ± 1,5 <sup>c</sup> |
| 22                      | 27,5 ± 1,0 <sup>a</sup> | 22,0 ± 1,8 <sup>ab</sup> | 2,2 ± 1,0 <sup>bc</sup>  | 17,2 ± 1,5 <sup>c</sup> |
| 23                      | 27,0 ± 1,2              | 23,6 ± 1,7               | 25,3 ± 1,0 <sup>c</sup>  | 18,7 ± 2,3 <sup>c</sup> |
| 24                      | 27,1 ± 1,2 <sup>a</sup> | 21,2 ± 1,4 <sup>a</sup>  | 23,5 ± 1,1 <sup>c</sup>  | 19,3 ± 1,7 <sup>c</sup> |
| 25                      | 27,8 ± 1,3 <sup>a</sup> | 22,6 ± 1,1 <sup>a</sup>  | 20,3 ± 1,4               | 18,2 ± 1,1              |
| 26                      | 26,8 ± 1,4 <sup>a</sup> | 18,8 ± 0,9 <sup>a</sup>  | 20,5 ± 1,6               | 17,8 ± 1,6              |
| 27                      | 25,4 ± 0,8 <sup>a</sup> | 21,0 ± 1,9 <sup>a</sup>  | 20,2 ± 1,4               | 18,5 ± 1,4              |
| 28                      | 24,5 ± 0,9              | 21,5 ± 1,9               | 19,2 ± 1,3               | 20,0 ± 1,3              |

<sup>1</sup>day of trial

neprůkazném poklesu rostl. U skupiny první od 9. do 25., u druhé od 10. do 16., u třetí od 13. do 22. a u čtvrté od 19. do 28. dne. Po tomto vzestupu (u skupin odstavených později strmějším) následovaly u první skupiny neprůkazné, u druhé průkazné výkyvy. Celková úroveň konzumu se však již neměnila. Jen u skupiny třetí byl od 22. do 26. dne zaznamenán průkazný sestup. Nejvíce se hydratovala první skupina. Do 10. dne konzumovala vody za den víc než 25 %, potom 30 % a od 18. dne až do konce měření 40 % své metabolické hmotnosti; druhá skupina spotřebovala od 7. do 12. dne nad 20 % a poté nad 30 %; třetí skupina méně, 20 % teprve od 16. a 30 % od 18. dne a s výjimkou 22. dne vždy pod 40 %; čtvrtá skupina přes 20 % jen 16. a 21. den a nad 30 % pouze v posledním dni pokusu (obr. 2).

2. Relativní denní konzum vody v kg (na metabolickou hmotnost) u selat odstavených v různém věku [dny] na tekutou dietu — The relative daily consumption of water in kg (converted to the metabolic weight) in weanling piglets transferred to liquid food at different age [days]



Selata odchovávaná v raném postnatálním údobí u prasnic jsou ve fázi vysokého anabolismu. Proto konzumují relativně i mnoho vody (Aumaitre, 1964, 1965; Mount, 1968; Mount a Ingram, 1971; Bauer et al., 1978; Bauer, 1983; Holub, 1988, 1990).

U jedinců odstavených ve druhém dnu života stoupá spotřeba vody s věkem ještě strměji (Ponížilová a Holub, 1964; Holub, 1990). U selat odejmutých od prasnic později se celková denní spotřeba vody již tak prudce nezvyšuje. U druhé skupiny byla sice téměř stejně velká jako u první, ale u třetí byla až na jediný den průkazně menší než u druhé. Čtvrtá pak vykazovala, až na dva dny, průkazně nižší konzum než třetí. Třebaže jsme tedy převáděli jednotlivé skupiny selat na tekutou dietu vždy v intervalu čtyř dnů (2., 6., 10., 14. den), rozdíl v konzumu vody mezi nimi stejný nebyl.

Tato skutečnost se promítala do relativní hydratace, ať již byla vztažována na živou či metabolickou hmotnost. Uváděné nálezy jsou ve shodě s údaji o konzumu živin a BE selaty odstavovanými v uvedených dnech (Holub, 1971, 1988) a nepochybně souvisejí s jejich funkčním vývojem. Na hmotnost těla spotřebují selata v prvních týdnech u postnatálního života za den poměrně mnoho vody, asi tolik jako stejně stará, ale při narození asi 250krát menší krysy mláďata (Křeček aj., 1956; Křeček a Křečková, 1957, 1961; Křeček, 1962, 1973).

I u selat jsou v perinatálním a postnatálním údobí aktivovány a převratně se vyvíjejí funkce nutriční (Holub, 1968, 1988, 1990). Po narození se u nich objevuje soubor obživných mechanismů, vytvářejících i u jiných savčích neonátů základ zcela specifické vývojové periody. Po bouřlivém nástupu těchto nových regulačních prvků následuje perioda další, přechodná, charakterizovaná jinou úrovní odpovědi na vnější podněty, transformací funkčních soustav a změnami vztahu k prostředí (Křeček, 1973), např. nástupem nebývalých interakcí mezi matkou a mládětem, případně mezi mláďaty (Scott a Marston, 1950; Williams a Scott, 1953; Scott, 1958; Deneberg, 1962). V jejím průběhu jsou ingesční odpovědi postupně podmiňovány (Voločov, 1959), zpřesňovány, diferencovány, nabývají na adresnosti, jsou cílenější. Tím se krytí proměnlivých metabolických potřeb neonátů v novém životním prostředí, jejich nutrice a hydratace, stále zdokonaluje (Adolph, 1968).

Časným odstavem je složitá biologická jednotka — prasnice a vrh — rozmetána. Selata jsou zbavena možnosti volit frekvenci konzumace, spojovat se sáním mléka a pitím vody příjem netekutého příkrmu a selektovat druh potravin. Zbývá jim rozhodovat jen o stylu sání, o velikosti porce diety o neměnném složení (Holub, 1988, 1990). V našich pokusech jsme odstavovali selata ve věku 2, 6, 10 a 14 dnů. První dvě skupiny tedy v údobí kojeneckém, další dvě skupiny v periodě odstavu (Holub, 1962, 1968, 1988). To se projevilo i v příjmu vody. Doložené rozdíly v její spotřebě u selat odstavovaných v různých fázích postnatálního vývoje proto znovu dokazují, že i mechanismy řízení ingesce vody u selat jsou v údobí kojeneckém jiné než v periodě odstavu. Periodizace postnatálního vývoje selat vyvozená z analýzy konzumu živin a energie (Holub, 1962, 1968, 1971, 1988, 1990) je tudíž prezentovanými nálezy o ingesci vody potvrzována.

## Literatura

- ADOLPH, E. F.: Origins of physiological regulations. New York — London, 1968, 147 s.
- AUMAITRE, A.: Le besoin en eau du porcelet: Étude de la consommation d'eau avant le sevrage. *Ann. Zootech.*, 13, 1964, s. 183—198.
- AUMAITRE, A.: Der Wasserbedarf des Ferkels. *Z. Tierphysiol. Tierernähr. Futterm.-Kde*, 20, 1965, s. 209—217.
- BAUER, W. — OBER, G. — SCHLEMKER, G.: Zum Tränkwasserverbrauch wachsender Schweine. *Mh. Veter. Med.*, 23, 1978, s. 497—500.
- BAUER, W.: Einflussfaktoren auf den Tränkwasserverbrauch und die Tränkwasseraufnahme durch Saugferkel und abgesetzte Ferkel. *Arch. exp. Veter.-Med.*, 28, 1983, s. 333—340.
- BRODY, S.: Bioenergetics and growth. New York, 1945, 1023 s.
- DENEBERG, V. H.: The effect of early experience. In: *The behaviour of domestic animals*. London, 1962, s. 109—138.
- HOLUB, A.: Kvantitativní poměry ve výživě selat v době sání. *Veter. Med. (Praha)*, 7, 1962, s. 711—724.
- HOLUB, A.: Semisyntetická vysokokalorická dieta pro selata uměle odchovávaná od druhého dne života. *Veter. Med. (Praha)*, 8, 1963, s. 427—430.
- HOLUB, A.: Váhové přírůstky selat chovaných na semisyntetické vysokokalorické dietě v prvním měsíci života. *Živoč. Výr.*, 9, 1964, s. 539—544.
- HOLUB, A.: Vliv časného odstavení na spotřebu živin a váhové přírůstky selat ve druhém měsíci života. *Živoč. Výr.*, 11, 1966, s. 587—594.
- HOLUB, A.: Funkční periodizace časného postnatálního vývoje u selat. Brno, 1968, 125 s.
- HOLUB, A.: Kalorický konzum a změny živé váhy selat po odstavení ve druhém, šestém, desátém a čtrnáctém dnu života. *Veter. Med. (Praha)*, 16, 1971, s. 273—278.
- HOLUB, A.: Functional development and food intake of piglets. *Acta Veter. (Brno)*, 5, 1982, s. 5—12.
- HOLUB, A.: Postnatale Änderungen im Nahrungsaufnahmeverhalten von Ferkeln. *Mh. Veter.-Med.*, 43, 1988, s. 857—860.
- HOLUB, A.: Effect of rearing practices on the water consumption by piglets in the first eight weeks after birth. *Acta Veter. (Brno)*, 59, 1990, s. 129—137.
- HOLUB, A. — KOMÁREK, J.: Vývoj selat odstavených druhého dne života. I. Konzum semisyntetické diety v prvních čtyřech týdnech života. *Sbor. Vys. šk. zeměd. Brno, Řada B*, 33, 1964, s. 75—81.
- KŘEČEK, J.: Údobí odstavení a vodní metabolismus. Praha, 1962. 133 s.
- KŘEČEK, J.: O kritických vývojových periodách. *Českoslov. Fysiol.*, 22, 1973, s. 505—520.
- KŘEČEK, J. — KŘEČKOVÁ, J.: The development of the regulation of water metabolism. III. The relation between water and milk intake in infant rats. *Physiol. bohemoslov.*, 6, 1957, s. 26—34.
- KŘEČEK, J. — KŘEČKOVÁ, J. — DLOUHÁ, H.: On problems on the regulation of water intake in newborn mammals. *Physiol. bohemoslov.*, 5, 1956, s. 33—37.
- MOUNT, L. E.: The climatic physiology of the pig. London, 1968, 271 s.
- MOUNT, L. E. — INGRAM, D. L.: The pig as a laboratory animal. London — New York, 1971, 175 s.
- PONIŽILOVÁ, E. — HOLUB, A.: Vývoj selat odstavených druhého dne života. XI. Bilance dusíku u selat chovaných na semisyntetické vysokokalorické dietě v prvních čtyřech týdnech života. *Českoslov. Fysiol.*, 13, 1964, s. 259.
- SCOTT, J. P.: Critical periods in the development of social behavior in puppies. *J. Psychosom. Med.*, 20, 1958, s. 42—54.
- SCOTT, J. P. — MARSTON, M. V.: Critical periods affecting the development of normal and maladjustive social behavior in puppies. *J. Genet. Psychol.*, 77, 1950, s. 25—60.
- VOLOCHOV, A. A.: Development of unconditioned and conditioned reflexes in ontogenesis. In: XXI. International Congress of Physiological Sciences. In: *Symp. Spec. Lec.*, Buenos Aires, 1959.
- WILLIAMS, E. — SCOTT, J. P.: The development of social behavior patterns in the mouse, in relation to natural periods. *Behaviour*, 6, 1953, s. 35—64.

Došlo dne 4. 7. 1990

HOLUB, A. [Institute of Biochemistry and Animal Genetics, Slovak Academy of Sciences, Ivanka pri Dunaji]: *Water consumption in weanling piglets transferred to liquid food at different age*. Veter. Med. [Praha], 36, 1991 (7): 415–422.

Water consumption was recorded in 72 piglets of the Lorge White breed, weaned either on the second, sixth, tenth day or on the fourteenth day of age, this parameter was followed till the age of four weeks. The piglets were kept individually in a thermoneutral zone and they received a milk diet with macronutrient content, similar to sow's milk and water content of from 78.47 %. The diet was offered to suck nine times a day in two-hour intervals. The piglet age at weaning was found to influence significantly water intake. Daily water ingestion is higher in piglets separated from the sows at a younger age than in piglets weaned later on; it reaches as much as 29 % in the first group, 26 % in the second group, 28 % and 20 % of live weight in the third and fourth groups, respectively. If converted to the metabolic weight, the percentage is still higher: more than 40 % in the first group at the end of the fourth week. Although the spans of weaning beginnings were always identical in particular groups of piglets (four days), the differences in the water consumption were not the same. The differences were smaller between the first and second group, and the third and fourth group, in comparison with those between the second and third group. This fact confirms previous general statements about the periodization of early postnatal life of piglets. The beginning of weaning of the first two groups belongs to the "suckling" period, while the beginning of weaning of the other groups is within the "weaning" period. The piglets weaned at the older age were growing rather slowly; this was due to different intakes of both water and nutrients.

piglet; first four weeks after birth; postnatal development; suckling period; weaning period

---

*Adresa autora:*

Prof. MVDr. Antonín Holub, DrSc., člen koresp. ČSAV, Ústav biochemie a genetiky živočichov SAV, 900 28 Ivanka pri Dunaji

---

# PROTILÁTKOVÁ ODPOVEĎ MYŠÍ, KRÁLIKOV A PRASÍAT VYVOLANÁ OČKOVANÍM INAKTIVOVANOU OLEJOVOU VAKCÍNOU S OBSAHOM ROTAVÍRUSU A KMEŇOV *Escherichia coli* S FIMBRIOVÝMI ANTIGÉNMÍ K88, K99 a 987P

A. Žuffa, E. Salajka, J. Zajac, Z. Salajková, T. Žuffa, P. Alexa

---

ŽUFFA, A. — SALAJKA, E. — ZAJAC, J. — SALAJKOVÁ, Z. — ŽUFFA, T. — ALEXA, P. (Bioveta, Nitra; Výzkumný ústav veterinárního lékařství, Brno): *Protilátková odpověď myši, králíků a prasíat vyvolaná očkováním inaktivovanou olejovou vakcínou s obsahem rotavírusu a kmeňů Escherichia coli s fimbriovými antigeny K88, K99 a 987P*. Veter. Med. (Praha), 36, 1991 (7): 423—431.

V pokusoch na myšiach, králikoch a odstavčatách sa testovali štyri pokusné šarže kombinovanej inaktivovanej olejovej vakcíny proti hnačkovým ochoreniam ciciek určenej na očkovanie prasníc, obsahujúce porcínny rotavírus (PRV), pričom dve z nich aj bovinny rotavírus (BRV) a bakteriálny enterotoxigénny kmeň *E. coli* s protektívnymi antigénmi K88, K99 a 987P. Pri nízkych východiskových titroch protilátok stimulovala u myši dvojrázová i. m. aplikácia 0,2 ml vakcíny tvorbu protilátok na priemernú hodnotu titrov 1:128 proti PRV a 1:256 proti BRV, u králikov dvojrázová i. m. aplikácia 2 ml vakcíny do priemerných titrov 1:508, resp. 1:500 a u odstavčiat dvojrázová i. m. inokulácia vakcíny do titrov 1:1028, resp. 1:469; aglutinačné protilátky dosiahli u myši proti antigénu K88 priemernú hodnotu 1:68, proti antigénu K99 1:44 a proti antigénu 987P 1:8192, u králikov 1:285, 1:136, resp. 1:6006 a u prasíat 1:570, 1:631, resp. 1:8192. Protilátky proti antigénu 987P pretrvávali u prasíat na rovnakej úrovni počas šiestich mesiacov. Aj pri postupnom poklese protilátok proti antigénom K88 a K99 boli ich hodnoty v tomto čase 9,8krát, resp. 15,2krát vyššie ako východiskové hodnoty a len protilátky proti PRV klesli na predvakcinačnú úroveň. Opakovaná aplikácia vakcíny prasatám po šiestich mesiacoch po revakínácii vyvolala, s výnimkou antigénu 987P, za 14 dní vzostup protilátok do titrov aké sa zaznamenali po revakínácii.

rotavírusy; enterotoxigénne *E. coli*; kombinovaná vakcína; myši; králiky; prasatá

---

Rotavírusy (RV) a enterotoxigénne kmene *E. coli* (ETEC) sú hlavnými etiologickými činiteľmi hnačkových ochorení novorodených mláďat (Woode a Crough, 1978; House, 1978; Svensmark a i., 1989). Hoci každé agens je samoosebe schopné vyvolať hnačkové ochorenie, kombinovaná infekcia RV a ETEC vyvolá u prasíat intenzívnejšie ochorenie ako infekcia len jedným z uvedených zárodkov (Tzipori a i., 1980; Benfield a i., 1988).

Imunoprofylaxia hnačkových ochorení vyvolaných ETEC sa zakladá na očkovaní prasníc bakterinmi s obsahom odpovedajúcich protektívnych antigénov (Alexa a i., 1986; Salajka a i., 1983) a ochorení vyvolaných RV na orálnom alebo parenterálnom očkovaní prasníc a cicajúcich prasíat pomocou živých vakcín (Fitzgerald a i., 1986a, b;

Westercamp, 1986). Napriek poznaniu, že kombinované infekcie vyvolávajú u prasiat vážnejšie klinické ochorenia ako samotná infekcia ETEC, resp. RV, doposiaľ sa robí ich profylaxia samostatne (Alexa a i., 1986; Fitzgerald a i., 1986a).

Ochranné očkovanie prasníc za účelom profylaxie hnačkových ochorení cicciakov vyvolaných ETEC sa u nás robí už po mnoho rokov (Salajka a i., 1983), kým potreba špecifickej profylaxie enteritíd vyvolaných infekciou RV vyvstala až roku 1987. V tom čase sa vo viacerých spoločných chovoch zaznamenal výskyt ťažkých hnačkových ochorení cicciakov spojených s kombinovanou infekciou ETEC s adherentným antigénom 987P a porcinným RV (Salajka a Valíček, 1987). Tieto zistenia boli pre nás podnetom k vývoju kombinovanej inaktivovanej vakcíny s obsahom RV a kmeňov ETEC vybavených protektívnymi antigénmi K88, K99 a 987P. V predkladanej práci referujeme o výsledkoch laboratórnych pokusov, ktorých cieľom bolo charakterizovať imunobiologické vlastnosti pripravenej vakcíny.

## MATERIÁL A METÓDY

**Vírusy:** Pôvod porcinného rotavírusu (PRV), kmeňa OSU/6, a spôsob jeho pestovania na kultúrach stabilnej bunkovej línie MA-104, sme opísali v predchádzajúcom oznámení. Po niekoľkých pasážach na uvedenom druhu tkaniva, sme ho adaptovali na primárne kultúry z fetálnych bovinnych obličiek (FBOB). Rast adaptovaného vírusu na uvedený druh tkaniva je doprevádzaný vývojom cytopatických zmien vedúcich až k úplnej lýze bunkovej kultúry, pričom infekčné tkanivové tekutiny obsahujú okolo  $10^{6,5}$  TKID<sub>50</sub>. ml<sup>-1</sup>.

**Bovinný rotavírus (BRV),** kmeň TM-91, izolovaný z trusu teliat postihnutých gastroenteritídou (Salajka a in., 1979), adaptovaný na bunkovú líniu MA-104 a kultúru FBOB, predstavuje laboratórny kmeň používaný na prípravu inaktivovanej vakcíny proti hnačkovým ochoreniam teliat ROTAKOL (Žuffa a i., 1986).

**Príprava bakteriínu ETEC:** Bakteriálne kmene ETEC s fimbriovými antigénmi K88 (0147:K88 a 0149:K88) a 987P (K85:987P) sme pomnožovali v tekutom živnom médiu na báze kazeinhydrolyzátu (Alexa a i., 1986) a kmeň 0101:K99 v tekutom Minca médiu (Guinée a i., 1977). Kultúry s požadovaným obsahom protektívnych antigénov, sme inaktivovali formaldehydom v konečnej koncentrácii 0,5 % a odstredovaním zahusťovali tak, aby 1 ml obsahoval okolo  $5 \times 10^{10}$  bakteriálnych tiel.

**Titrácia vírusu a protilátok:** Obsah infekčných jednotiek vo vírusových suspenziách a protilátok v sérach pokusných zvierat proti PRV a BRV sme stanovili titráciami na sklíčkových kultúrach MA 104, s identifikovaním prítomnosti vírusovej infekcie pomocou imunofluorescencie (IF). Postupovali sme pritom rovnako ako sme opísali v predchádzajúcom oznámení (Žuffa a i., 1986). Pri titrácii vírusu sme za pozitívne považovali aj kultúry, na ktorých sme zistili čo len jednu fluoreskujúcu bunku, a za titer séra to jeho riedenie, ktoré neutralizovalo okolo  $10^{3,0}$  TKID<sub>50</sub> vírusu kvantitatívne, t. j. očkované kultúry boli bez akéhokoľvek špecifického žiarenia.

## TITRÁCIA PROTILÁTKOVI FIMBRIOVÝM ANTIGÉNOM ETEC

Na prípravu antigénov sme použili kmene ETEC líšiace sa od produkčných kmeňov v 0-antigénach, ale zhodné vo fimbriových antigénach, nasledovných sérotypov: 08:K88, 09:K99 a 09:K103:987P.

**Krvné séra:** Krvné séra získané od jednotlivých druhov zvierat sme po vyčistení odstredení inaktivovali pri teplote 56 °C počas 30 min a až do vyšetrenia skladovali pri -20 °C.

**Príprava pokusných vakcín:** Testovali sme štyri šarže pokusných vakcín. Vakcíny č. 01 a 03 obsahovali po dva a pol diela vírusových suspenzií PRV a BRV s obsahom  $10^{4,5}$  TKID<sub>50</sub>. ml<sup>-1</sup>, po jednom dieli bakteriínov ETEC s protektívnymi antigénmi K88, K99 a 987P, pri každom s obsahom po  $5 \times 10^{10}$  zárodkov, a dva diely adjuvantných olejov; vakcíny 02 a 04 obsahovali päť dielov inaktivovanej suspenzie PRV a po jednom dieli bakteriínov K88, K99 a 987P.

**Pokusné zvieratá:** Myši o hmotnosti 15–20 g boli nakupované z VELAZ Praha. Králiky rôznych plemien boli nakupované od súkromných chovateľov o hmotnosti 2,5–3,5 kg. Odstavčatá, živej hmotnosti 25–30 kg, boli nakúpené z konvenčného chovu ZD D. N.

**Hodnotenie imunogenity vakcíny:** Imunizačnú účinnosť vakcíny sme posudzovali podľa tvorby, resp. vzostupu neutralizačných protilátok (NP) proti PRV a BRV a aglutinačných protilátok (AP) proti protektívnym antigénom K88, K99 a 987P v sérach odoberaných pred očkovaním a po revakcinácii.

**Usporiadanie pokusov:** Pokusnými vakcínami 01 až 04 sme očkovali po 20 myší dávkou po 0,2 ml do stehenného svalstva, a revakcinovali rovnakým spôsobom za dva týždne. Za 10 dní po revakcinácii sme imunizované myši krvácali súčasne s 20 neočkovanými kontrolami.

Rovnakými vakcínami sme očkovali po 10 králikov v dávke 2 ml *i. m.* a revakcinovali za dva týždne. Krvné vzorky sme od všetkých králikov odoberali pred očkovaním a za 10 dní po revakcinácii.

Z celkového počtu 30 odstavičiat, zaradených do pokusu, sme očkovali po šesť vakcínami č. 01 až 04 v dávke po 2 ml *i. m.* dvojrázovo v intervale troch týždňov a šesť prasiat ostalo neošetrených ako kontroly. Krvné vzorky sme od všetkých prasiat odoberali pred očkovaním a pred revakcináciou a za 14 dní po revakcinácii; od prasiat očkovaných vakcínami č. 01 a 02 sme ďalej odoberali krvné vzorky za 12, 18, 22 a 30 týždňov od prvého očkovania, kedy sme im aplikovali tretiu dávku vakcíny, a krvné vzorky odoberali za ďalšie dva týždne.

## VÝSLEDKY

Hodnoty titrov NP proti kmeňu OSU/6 PRV a kmeňu TM-91 BRV a aglutinačných protilátok proti fimbriovým antigénom K88, K99 a 987P, zistené v sérach myší očkovaných pokusnými vakcínami č. 01 až 04 sa uvádzajú v tab. I. Všetky pokusné skupiny myší vytvorili vyrovnané hladiny protilátok proti PRV (titer 1 : 128) a myší očkovaných vakcínami 02 a 04, s obsahom len PRV, sa zaznamenal mierny až signifikantný (č. 02) vzostup protilátok aj proti BRV. Hodnoty aglutinačných protilátok proti fimbriovým antigénom K88, K99 a 987P boli nižšie pri pokusných skupinách myší očkovaných vakcínami 02 a 04, s obsahom len PRV. Naproti tomu vytvorili proti antigénu 987P všetky pokusné skupiny myší vyrovnané a veľmi vysoké hladiny protilátok. Sérum kontrolnej skupiny myší bolo bez protilátok proti všetkým trom fimbriovým antigénom.

Výsledky vyšetrení sér, odobratých od králikov pred očkovaním a po

I. Priemerné hodnoty titrov protilátok u myší očkovaných inaktivovanou vakcínou proti hnačkovým ochoreniam prasiat — The average values of antibody titres in mice treated with an inactivated vaccine against diarrhoeas of pigs

| Vakcíny <sup>1</sup>  | Obsah neutralizačných protilátok proti <sup>2</sup> |       | Obsah aglutinačných protilátok proti <sup>3</sup> |     |      |
|-----------------------|-----------------------------------------------------|-------|---------------------------------------------------|-----|------|
|                       | OSU/6                                               | TM-91 | K88                                               | K99 | 987P |
| 01 (+BRV) +           | 128                                                 | 256   | 64                                                | 64  | 8192 |
| 02 (–BRV) ++          | 128                                                 | 32    | 16                                                | 16  | 8192 |
| 03 (+BRV)             | 128                                                 | 256   | 128                                               | 64  | 8192 |
| 04 (–BRV)             | 128                                                 | 16    | 64                                                | 32  | 8192 |
| Kontrola <sup>4</sup> | 4                                                   | 8     | 0                                                 | 0   | 0    |

<sup>1</sup>vaccines, <sup>2</sup>content of neutralizing antibodies to, <sup>3</sup>content of agglutination antibodies to, <sup>4</sup>control

revakcinácii jednotlivými vzorkami pokusných vakcín na obsah NP proti PRV a BRV a aglutinačných protilátok proti antigénom K88, K99 a 987P, sa uvádzajú v tab. II.

II. Priemerné hodnoty titrov protilátok u králikov očkovaných inaktivovanou vakcínou proti hnačkovým ochoreniam prasiat — The average values of antibody titres in rabbits treated with an inactivated vaccine against diarrhoeas of pigs

| Vakcíny <sup>1</sup>           | Protilátky proti <sup>2</sup> |                                 |                               |                                 |                               |                                 |                               |                                 |                               |                                 |
|--------------------------------|-------------------------------|---------------------------------|-------------------------------|---------------------------------|-------------------------------|---------------------------------|-------------------------------|---------------------------------|-------------------------------|---------------------------------|
|                                | OSU/6                         |                                 | TM-91                         |                                 | K88                           |                                 | K99                           |                                 | 987P                          |                                 |
|                                | pred očko-va-ním <sup>3</sup> | po re-vak-ciná-cii <sup>4</sup> | pred očko-va-ním <sup>3</sup> | po re-vak-ciná-cii <sup>4</sup> | pred očko-va-ním <sup>3</sup> | po re-vak-ciná-cii <sup>4</sup> | pred očko-va-ním <sup>3</sup> | po re-vak-ciná-cii <sup>4</sup> | pred očko-va-ním <sup>3</sup> | po re-vak-ciná-cii <sup>4</sup> |
| 01 (+BRV)                      | 16                            | 279                             | 24                            | 473                             | 3                             | 224                             | 0                             | 176                             | 4                             | 4096                            |
| 02 (-BRV)                      | 8                             | 486                             | —                             | 75                              | 2                             | 204                             | 0                             | 115                             | 2                             | 6653                            |
| 03 (+BRV)                      | 18                            | 372                             | 6                             | 528                             | 0                             | 328                             | 0                             | 100                             | 2                             | 7281                            |
| 04 (-BRV)                      | 5                             | 896                             | 18                            | 84                              | 0                             | 384                             | 0                             | 154                             | 3                             | 5997                            |
| Priemerné hodnoty <sup>5</sup> | 11,7                          | 508                             | 16                            | 500                             | 1,2                           | 285                             | 0                             | 136                             | 2,9                           | 6008                            |

<sup>1</sup>vaccines, <sup>2</sup>antibodies to, <sup>3</sup>before vaccination, <sup>4</sup>after revaccination, <sup>5</sup>average values

Séra odobraté od králikov pred očkovaním boli bez (<1:8) alebo obsahovali len nízke hodnoty protilátok proti obidvom RV- a zväčša nulové titre protilátok proti všetkým trom fimbriovým antigénom ETEC. Na dvoj-  
rázové podanie jednotlivých vakcín reagovali všetky králiky tvorbou, resp. vzostupom protilátok do stredných až vysokých titrov proti vírusovým aj bakteriálnym antigénom, pri veľmi vysokých titroch protilátok proti antigénu 987P. Rovnako ako myši, reagovali aj králiky na podanie vakcín obsahujúcich len PRV vzostupom protilátok aj proti BRV. Bez ohľadu na prítomnosť či absenciu BRV vo vakcínach obsahovali séra všetkých pokusných skupín králikov pomerne vyrovnané hodnoty protilátok proti všetkým bakteriálnym antigénom, ale priemerné hodnoty titrov NP proti PRV boli pri králikoch očkovaných vakcínami 01 a 03, s obsahom PRV aj BRV, nižšie ako pri králikoch očkovaných vakcínami 02 a 04 s obsahom len PRV, aj keď rozdiely nie sú preukazné.

Aplikácia vakcín 01 až 04 nevyvolala u prasiat zaznamenateľné lokálne ani celkové reakcie. Priebeh tvorby NP proti vírusovým a aglutinačných protilátok proti bakteriálnym antigénom a ich pretrvávajúce v sérach prasiat očkovaných vakcínami 01 a 02 je znázornený na obr. 1 a 2. Hodnoty protilátok zaznamenané v sérach prasiat očkovaných vakcínami 03 a 04, odobratých pred očkovaním a po revakcinácii, sú uvedené v tab. III a IV.

III. Priemerné hodnoty titrov protilátok u prasíat očkovaných inaktivovanou vakcínou proti hnačkovým ochoreniam prasíat — The average values of antibody titres in pigs treated with an inactivated vaccine against diarrhoeas of pigs

| Vakcína <sup>1</sup> | Antigény <sup>2</sup> | Titre protilátok <sup>3</sup> |                                 |                              |
|----------------------|-----------------------|-------------------------------|---------------------------------|------------------------------|
|                      |                       | pred očkovaním <sup>4</sup>   | pred revakcináciou <sup>5</sup> | po revakcinácii <sup>6</sup> |
| 02<br>(+BRV)         | OSU/6                 | 72                            | 533                             | 1152                         |
|                      | TM-91                 | 14                            | 88                              | 752                          |
|                      | K88                   | 8                             | 125                             | 725                          |
|                      | K99                   | 11                            | 72                              | 618                          |
|                      | 987P                  | 4                             | 2730                            | 8192                         |

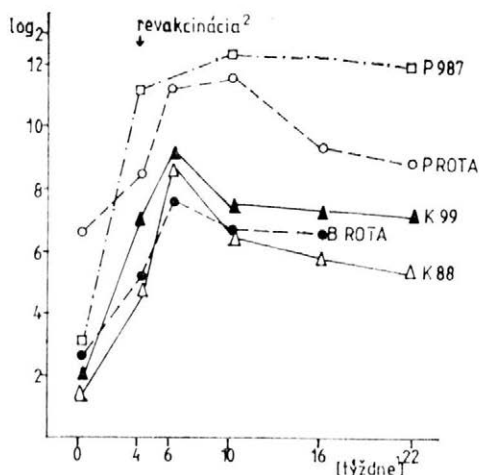
<sup>1</sup>vaccine, <sup>2</sup>antigens, <sup>3</sup>antibody titres, <sup>4</sup>before vaccination, <sup>5</sup>before revaccination, <sup>6</sup>after revaccination

IV. Priemerné hodnoty titrov protilátok u prasíat očkovaných inaktivovanou vakcínou proti hnačkovým ochoreniam prasíat — The average values of antibody titres in pigs treated with an inactivated vaccine against diarrhoeas of pigs

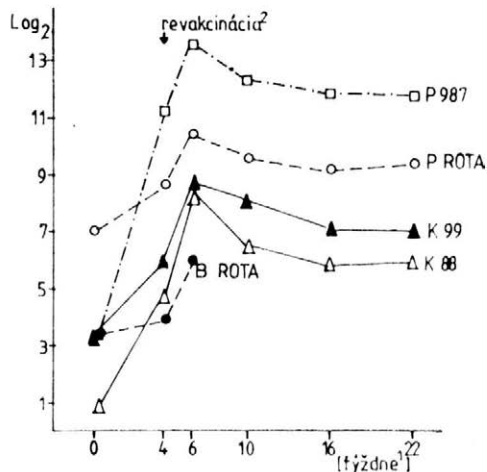
| Vakcína <sup>1</sup> | Antigény <sup>2</sup> | Titre protilátok <sup>3</sup> |                                 |                              |
|----------------------|-----------------------|-------------------------------|---------------------------------|------------------------------|
|                      |                       | pred očkovaním <sup>4</sup>   | pred revakcináciou <sup>5</sup> | po revakcinácii <sup>6</sup> |
| 04<br>(-BRV)         | OSU/6                 | 101                           | 768                             | 2218                         |
|                      | TM-91                 | 12                            | 16                              | 32                           |
|                      | K88                   | 4                             | 28                              | 885                          |
|                      | K99                   | 1                             | 30                              | 883                          |
|                      | 987P                  | 5                             | 1642                            | 8192                         |

For 1—6 see Tab. III

Všetky prasatá zaradené do pokusov obsahovali v krvných sérach pred očkovaním NP proti kmeňu OSU/6 PRV v stredných až vysokých titroch, ale nulové alebo len nízke titre protilátok proti kmeňu TM-91 BRV a bakteriálnym antigénom K88, K99 a 987P. Aplikácia všetkých pokusných vakcín vyvolala tvorbu alebo preukazný vzostup protilátok proti vírusovému aj bakteriálnym antigénom zastúpeným vo vakcínach, a revakcinácia stimulovala ich vzostup do vysokých až mimoriadne vysokých titrov (antigén 987P). Aj u prasíat navodilo podanie vakcín 02 až 04, obsahujúcich len PRV, mierny vzostup protilátok proti kmeňu TM-91 BRV. Proti PRV a antigénu 987P pretrvávali protilátky na rovnakej úrovni najmenej počas štyroch týždňov po revakcinácii, kým proti antigénom K88, K99 a BRV došlo už v tomto čase k ich výraznému poklesu. V nasledujúcom období sa zaznamenal mierny, ale postupný pokles protilátok proti antigénom K88 a K99, výrazný pokles proti PRV, ale pretrvávajúce protilátky približne na rovnakej úrovni po celé sledované obdobie proti



1. Priemerné hodnoty titrov sérových protilátok u ošipáných, očkovaných kombinovanou inaktivovanou olejovou vakcínou proti hnačkovým ochoreniam prasiat (č. 01 s obsahom PRV aj BRV) — The average values of titres of serum antibodies in pigs treated with a combined inactivated oil vaccine against diarrhoeas of pigs (no. 01 with the contents of PRV and BRV) Explanatory notes to Figs. 1—2: <sup>1</sup>weekly, <sup>2</sup>revaccination



2. Priemerné hodnoty titrov sérových protilátok u ošipáných, očkovaných kombinovanou olejovou vakcínou proti hnačkovým ochoreniam prasiat (č. 02 s obsahom PRV bez BRV) — The average values of titres of serum antibodies in pigs treated with a combined inactivated oil vaccine against diarrhoeas of pigs (no. 02 with the content of PRV, but no BRV)

antigénu 987P. Tretie podanie vakcíny, uskutočnené za šesť mesiacov od revakcinácie, vyvolalo včasný vzostup protilátok do vysokých titrov proti vírusovému aj bakteriálnym antigénom, ktorých hodnoty dosiahli úroveň zaznamenanú po revakcinácii.

V kontrolnej skupine ostali protilátky na východiskovej úrovni po celé sledované obdobie.

## DISKUSIA

Vychádzajúc z rozporných výsledkov použitia živých vakcín pri profylaxii rotavírusových hnačkových ochorení prasiat (Biehl a Hoefling, 1986; Fitzgerald a i., 1986a, b; Hoblet a i., 1986; Welter a i., 1986), neúspešných pokusov o aktívnu imunizáciu teliat proti rotavírusovým enteritidám pomocou živých vakcín (Agres a Radostis, 1976; De Leeuw a i., 1980), ale efektívnej profylaxie hnačkových ochorení teliat vírusovej aj bakteriálnej povahy pomocou kombinovaných inaktivovaných vakcín (Bachmann a i., 1985; Štěpánek a i., 1987) ako aj zo zistenia preukazne vyššej antigénnej potencie *i. m.* aplikovaného inaktivovaného PRV v olejovom adjuvans v porovnaní so živým orálne alebo parenterálne podaným vírusom (Žuffa, 1991), pripravili sme kombinovanú inaktivovanú olejovú vakcínu s obsahom RV a ETEC vybavených protektívnymi antigénmi K88, K99 a 987P.

Motiváciou pre zaradenie BRV do kombinovanej vakcíny bolo predchádzajúce zistenie, že pri prvých výskytoch rotavírusových hnačiek u ciciek, kedy sme nemali k dispozícii PRV, sme preukazný protektívny účinok dosiahli imunizáciou prasníc pomocou inaktivovanej vakcíny pripravenej z BRV (Žuffa, 1988). V súlade s týmto pozorovaním chránilo bovinne kolostrum a sérum jahňatá proti ochoreniu pri ich infekcii ovčím rotavírusom (Snodgrass a Wells, 1978) a bovinne kolostrum prasatá infikované PRV (Lecce a i., 1976). Protektívny účinok kolostra s obsahom heterológnych protilátok sa pripisuje účinku rotavírusových skupinovo-spezifických protilátok, alebo nejakým iným fyziologickým účinkom kolostrálnych protilátok v čreve. Nami pripravená vakcína je určená na očkovanie prasníc v období pred pôrodom s cieľom dosiahnuť chránenosť cicajúcich prasiat cestou laktogénnej imunity. Ak v pokusoch vyššie citovaných autorov chránilo krávkové kolostrum s obsahom protilátok proti BRV jahňatá proti infekcii ovčím a prasatá proti infekcii prasačím RV, možno oprávnenne predpokladať, že prinajmenej rovnaký stupeň ochrany poskytne cicajúcim prasatám prirodzenou cestou prijaté kolostrum a mlieko od prasníc obsahujúce protilátky proti PRV. Zaradenie BRV do vakcíny rozšírilo spektrum protilátok proti antigénom RV, pričom neznížilo preukazne úroveň tvorby protilátok proti PRV.

Predvákcináčné séra myší a králikov obsahovali nízke titre protilátok proti PRV a BRV, ale boli, s výnimkou antigénu 987P u králikov, bez protilátok proti antigénom K88 a K99 ETEC. Predvákcináčné prasačie séra obsahovali, zrejme ako prejav predchádzajúcej prirodzenej infekcie, stredné až vyššie titre NP proti PRV, zatiaľ čo nepravidelný výskyt protilátok proti BRV v nízkych titroch mohol byť vyvolaný antigénom PRV spoločným pre obidva vírusy. Vyslovenie tohto predpokladu podporujú sérologické nálezy zaznamenané po prvom podaní inaktivovanej vakcíny; kým vzostup protilátok proti PRV je charakteristický pre anamnestickú imunologickú reakciu, slabá protilátková odpoveď proti BRV má povahu primárnej imunitnej odpovedi.

Všeobecne bola protilátková odpoveď u králikov a ošipáných vyššia ako u myší, ale bola dobrá korelácia medzi titrami NP zistenými u králikov a ošipáných proti všetkým vyšetrovaným antigénom. Hodnoty protilátok, zaznamenané pri jednotlivých druhoch zvierat očkovaných štyrmi rozdielnymi vzorkami vakcín dokumentujú, že dodržanie vypracovanej technológie zabezpečuje výrobu kombinovanej rota-kolí vakcíny štandardných imunobiologických vlastností.

Pri ošipáných pretrvávali hladiny protilátok proti antigénu 987P na postrevakcinačnej úrovni po celé sledované obdobie, kým pri ostatných došlo k ich postupnému poklesu. Aj po šiestich mesiacoch boli však titre protilátok proti antigénom K88 a K99 9,8krát, resp. 15,2krát vyššie ako východiskové hodnoty, a len proti PRV poklesli na predvákcináčnú úroveň. Opakovaná aplikácia vakcíny prasatám za šesť mesiacov po uskutočnení základnej imunizácie pôsobila ako booster, keď do 14 dní stimulovala, s výnimkou antigénu 987P, opakovaný vzostup protilátok proti vírusovým aj bakteriálnym antigénom do titrov zaznamenaných po očkovaní a revakcinácii.

Pravidelnosť aj úroveň protilátkovej odpovedi vyvolanej očkovaním kombinovanou inaktivovanou olejovou vakcínou u prasiat s obsahom

postvaccinačných protilátok je v protiklade s interferujúcim účinkom preexistujúcich postinfekčných protilátok pri očkovaní prasiat živou rotavírusovou vakcínou [ Fitzgerald a i., 1986b]. Je však v súlade s výsledkami našich predchádzajúcich pokusov, v ktorých vyvolalo orálne, parenterálne alebo kombinované podanie  $2 \times 10^7$  TKID<sub>50</sub> živého PRV konvenčne odchovaným 10 až 12 týždňovým prasatám s obsahom sérových protilátok ich významný vzostup len pri zvieratách s titrami  $\leq 1:16$ , kým pri vyšších východiskových titroch nebol vzostup protilátok preukazný. Naproti tomu vyvolala *i. m.* inokulácia 2 ml formaldehydom inaktivovaného PRV emulgovaného v olejovom adjuvans pätnásobný a re-vakcinácia ďalší trojnásobný vzostup NP bez ohľadu na ich východiskové hodnoty [Žuffa, 1991]. Možno preto oprávnene predpokladať, že základná imunizácia prasničiek, spočívajúca v dvojrázovej aplikácii vakcíny v intervale troch týždňov, a následné jednorázové preočkovanie prasníc v období pred pôrodom, navodí vo vakcinovaných chovoch vysoký stupeň humorálnej imunity, ktorý, prenosom protilátok laktogénnou cestou, poskytne cicajúcim prasatám chránenosť proti RV a ETEC, ktoré sú hlavnými patogénmi enterálneho traktu vo včasnom postnatálnom období.

## Literatúra

- AGRES, S. D. — RADOSTIS, C. M.: The efficacy of a modified live reo-like vaccine and an *E. coli* bacterin for prevention of acute uddifferentiated neonatal diarrhea of beef calves. *Can. veter. J.*, 1, 1976, s. 197—212.
- ALEXA, P. — SALAJKOVÁ, Z. — SALAJKA, E.: Průjmy u selat vyvolané enterotoxigenními kmeny *Escherichia coli* s faktorem 987P. [Závěrečná správa.] Brno, Výzkumný ústav veterinárního lékařství 1986. 27 s.
- BACHMANN, P. A. — EICHORN, W. — BALJER, G. a i.: Muttertierimpfung gegen Diarrhoe bei Kälbern: Ergebnisse eines Feldversuches. *Tierärztl. Umsch.*, 40, 1985, s. 8—14.
- BENFIELD, D. A. — FARNCIS, D. H. — Mc ADARAGH, J. P. a i.: Combined rotavirus and K99 *Escherichia coli* infection in gnotobiotic pigs. *Amer. J. veter. Res.*, 49, 1988, s. 330—337.
- BIEHL, R. G. — HOEFLING, D. C.: Diagnosis, treatment and prevention of diarrhea in 7- to 14-day-old pigs. *J. A. V. N. A.*, 188, 1986, s. 1144—1146.
- DE LEEUW, P. W. — ELLENS, D. J. — FALMON, F. P. — ZIMMER, G. N.: Rotavirus infections in calves: efficiency of oral vaccination in endemically infected herds. *Res. veter. Sci.*, 29, 1980, s. 142—147.
- FITZGERALD, C. R. — WELTER, M. W. — WELTER, C. J. a i.: Evaluating the performance of a porcine rotavirus vaccine. *Veter. Med. (Sofija)*, 6, 1986a, s. 188—192.
- FITZGERALD, G. R. — WELTER, M. W. — WELTER, C. J.: Effect of porcine rotavirus vaccination on postweaning weight gains in baby pigs. *Mod. veter. Pract.*, 67, 1986b, s. 609—610.
- GUINÉE, P. A. M. — VELDKAMP, J. — JANSEN, W. H.: Improved Minca medium for the detection of K99 antigen in calf enterotoxigenic strains of *E. coli*. *Infect. and Immun.*, 15, 1977, s. 676—678.
- HOBLET, K. H. — SAIF, L. J. — KOHLER, E. M. a i.: Efficacy of an orally administered modified-live porcine-origin rotavirus vaccine against postweaning diarrhea in pigs. *Amer. J. veter. Res.*, 487, 1986, s. 1697—1703.
- HOUSE, J. A.: Economic impact of rotavirus and other neonatal disease agents of animals. *J. Amer. veter. Med. Assoc.*, 173, 1978, s. 573—576.
- LECCE, J. G. — KING, M. W. — MOCK, R.: Reovirus-like agent associated with fatal diarrhea in neonatal pigs. *Infect. and Immun.*, 14, 1976, s. 816—825.
- SALAJKA, E. — SALAJKOVÁ, Z. — ALEXA, P.: Profylaxe kolikinfekcí u selat. [Závěrečná zpráva.] Brno, Výzkumný ústav veterinárního lékařství 1983. 25 s.
- SALAJKA, E. — ŠTĚPÁNEK, J. — BÄRTL, M. a i.: Diagnostika a prevence infekčních průjmů telat. [Výzkumná zpráva.] Brno, Výzkumný ústav veterinárního lékařství 1979. 50 s.
- SALAJKA, E. — VALÍČEK, L.: Osobné oznámenie. 1987.

SNODGRASS, D. R. — WELLS, P. W.: Passive immunity in rotaviral infections. *Amer. veter. Med. Assoc.*, 173, 1978, s. 565—568.

SVENSMARK, B. — NIELSEN, K. — SALSGAARD, K. — WILLEBERG, P.: Spidemiological studies of piglet diarrhoea in intensively managed danish sow herds. III. Rotavirus infection. *Acta veter. scand.*, 30, 1989, s. 63—70.

ŠTĚPÁNEK, J. — SALAJKA, E. — ŽUFFA, A.: Nová polyvalentní vakcína proti enterálním infekcím novorozeneých telat. *Veter. Med. (Praha)*, 32, 1987, s. 65—80.

TZIPORI, S. — CHANDLER, D. — MAKIN, T. et al.: *Escherichia coli* and rotavirus infections in four-week-old gnotobiotic piglets fed milk or dry foot. *Austral. veter. J.*, 56, 1980, s. 279—284.

WELTER, M. W. — FITZGERALD, G. R. — WELTER, C. J.: A combination porcine rotavirus vaccine against two major type-A serotypes. *Agri-Practice*, 7, 1986.

WESTERCAMP, D. H.: Field trial of porcine rotavirus vaccine to combat postweaning scours in baby pigs. *Mod. veter. Pract.*, 67, 1986, s. 17—18.

WOODE, G. W. — CROUGH, C. F.: Naturally occurring and experimentally induced rotavirus infections in domestic and laboratory animals. *J. Amer. veter. Med. Assoc.*, 173, 1978, s. 522—526.

ŽUFFA, A.: Očkovanie prasnic pomocou inaktivovanej vakcíny pripravenej z boviného rotavírusu. Výsledky doposiaľ nepublikovaných pokusov, 1988.

ŽUFFA, A.: Stimulovanie tvorby sérových protilátok u prasiat vyvolaných orálnym, podkožným a orálnym a podkožným podaním živého alebo *i. m.* inokulovaním inaktivovaného porcinneho rotavírusu v olejovom adjuvans. *Veter. Med. (Praha)*, 36, 1991, č. 8, v tlači.

ŽUFFA, A. — FEKETOVOÁ, E. — MENŠÍK, J. a i.: Testovanie imunogenity inaktivovanej olejovej vakcíny proti hnačkovým ochoreniam teliat — ROTAKOL na laboratórnych zvieratách. *Imunoprofylaxia*, 68, 1986, s. 81.

Došlo dňa 9. 7. 1990

ŽUFFA, A. — SALAJKA, E. — ZAJAC, J. — SALAJKOVÁ, Z. — ŽUFFA, T. — ALEXA, P. (Bioveta, Nitra; Veterinary Research Institute, Brno): *Development of antibodies in mice, rabbits and pigs after administration of an inactivated oil vaccine containing rotavirus and Escherichia coli strains with fimbrial antigens K88, K99 and 987P*. *Veter. Med. (Praha)*, 36, 1991 (7): 423—431.

In trials with mice, rabbits and weanling piglets, four experimental charges of a combined inactivated oil vaccine against diarrhoeas in mammals were tested: the vaccine was to be implanted to sows and it contained porcine rotavirus (PRV); two charges also contained bovine rotavirus and bacterins of enterotoxigenic strains of *E. coli* with protective antigens K88, K99 and 987P. At low starting antibody titres the twofold *i. m.* implantation of 0.2 ml vaccine stimulated in mice the production of antibodies to reach the average titre value of 1:128 against PRV and of 1:256 against BRV; in rabbits the twofold *i. m.* implantation of 2 ml vaccine stimulated the antibody development to reach the average titres of 1:508 or 1:500, and in weanlings after the twofold *i. m.* implantation of the vaccine the titres were 1:1028 or 1:469; in mice agglutination antibodies to antigen K88 had the average value of 1:68, to antigen K99 the value of 1:44 and to antigen 987P the value of 1:8192; in rabbits the respective titres were 1:285, 1:136 and 1:6006 and in pigs 1:570, 1:631 and 1:8192. The antibodies to antigen 987P persisted at the same level in pigs for six months. Even though there was a gradual decrease in the antibodies to antigens K88 and K99, at that time the values were 9.8 times, or 15.2 times higher than the starting values, and only the antibodies to PRV dropped to the pre-vaccination level. Repeated administration of vaccine to pigs after six months from revaccination induced, with the exception of antigen 987P, an increase in antibodies in a fortnight to reach such titres that were recorded after revaccination.

rotaviruses; enterotoxigenic *E. coli*; combined vaccine; mice; rabbits; pigs

#### Adresy autorov:

Doc. MVDr. Alojz Žuffa, DrSc., MVDr. Ján Zajac, MVDr. Tomáš Žuffa, Bioveta, 949 91 Nitra

MVDr. Eduard Salajka, CSc., RNDr. Zdeňka Salajková, MVDr. Peter Alexa, Výzkumný ústav veterinárního lékařství, Hudcova 70, 621 32 Brno

Upozorňujeme čtenáře, že v čísle 8/91 časopisu

### VETERINÁRNÍ MEDICÍNA

mají být uveřejněny tyto příspěvky:

V. Vajda: Mléčná výživa a využitelnost živin u klinicky zdravých a hnačkových telat

V. Skřivanová, L. Machaňová, T. Svoboda: Účinek celulózy v odchovu telat krmených okyselenou mléčnou dietou

M. Kudweis, Z. Lojda, I. Juliš, L. Lenhardt, J. Marcaník, E. Švický: Syntéza nespecifické esterázy enterocytů tenkého střeva během experimentální kokcidózy sajících selat

A. Žuffa: Stimulovanie tvorby sérových protilátok u prasiat vyvolané orálnym, podkožným a kombinovaným podaním živého alebo *i. m.* inokulovaním inaktivovaného porcínneho rotavírusu v olejovom adjuvans

T. Walko, I. Zelenák: Využitie laktozylureidu v kŕmnej dávke oviec

M. Molnárová, J. Arendarčík, T. Mészárosová: Antiproteolytické aktivity krvnej plazmy a folikulárnej tekutiny ovárií oviec po stimulácii sérovým gonadotropínom (PMSG) a podaní Antiserogónu

# VPLYV SYNCHRONIZAČNÉHO OŠETRENIA V SEZÓNOM OBDOBÍ A V GRAVIDITE OVIEC NA KONCENTRÁCIE TYROXÍNU, TRIJÓD TYRONÍNU, 17 BETA-ESTRADIOLU, PROGESTERONU A CHOLESTEROLU

E. Bekeová, M. Krajničáková, V. Hendrichovský, I. Maraček

BEKEOVÁ, E. — KRAJNÍČÁKOVÁ, M. — HENDRICHOVSKÝ, V. — MARAČEK, I. (Ústav experimentálnej veterinárnej medicíny, Košice): *Vplyv synchronizačného ošetrovania v sezónnom období a v gravidite oviec na koncentrácie tyroxínu, trijódtyronínu, 17 beta-estradiolu, progesterónu a cholesterolu*. Veter. Med. [Praha], 36, 1991 (7): 433—444.

V práci sme sa zamerali na štúdium simultánných dynamických zmien koncentrácií tyroxínu ( $T_4$ ), trijódtyronínu ( $T_3$ ), 17 beta-estradiolu ( $E_2$ ), progesterónu ( $P_4$ ) a cholesterolu (Chol) u 10 oviec plemene merino počas synchronizácie ruje a v gravidite. Synchronizácia sa robila chlórsuperlutínom (Agelin-poševné tampóny, SPOFA; 20 mg chlórsuperlutínu na tampón) a PMSG (500 m. j. na zviera). Krv sa odoberala pri inzercii tampónov (—13. deň) s pokračovaním za ďalšie tri (—10. deň) a sedem (—7. deň) dní, pri výbere tampónov a aplikácii PMSG (—3. deň) pri inseminácii (0. deň) v 7., 14. a 17. dni a v polovici 2., 3., 4. a 5. mesiaca gravidity. V porovnaní k —13. dňu sme vzostup koncentrácií  $E_2$  zaznamenali v —7. dni ( $P < 0,001$ ) a jeho vrcholové hodnoty v —3. dni synchronizácie ( $P < 0,001$ ). Súbežne sme pozorovali intermitentné zmeny  $T_4$  s najnižšími hodnotami v —10. dni ( $P < 0,05$ ) a —3. dni a jeho najvyššie hodnoty v —7. ( $P < 0,01$ ) a v 0. dni experimentu. Koncentrácie  $P_4$  poklesli k najnižším hodnotám v 0. dni ( $P < 0,05$ ). Signifikantné zmeny koncentrácií  $T_3$  a cholesterolu sme pri synchronizácii ruje nezistili. Počas gravidity mali koncentrácie  $E_2$  vzostupný trend so signifikantnosťou v 7. dni ( $P < 0,01$ ), 14. dni, 4. a 5. mesiaci gravidity ( $P < 0,05$ ). Koncentrácie  $T_4$  sa od 14. dňa do 5. mesiaca gravidity udržiavali na mierne zvýšených hladinách. Koncentrácie  $T_3$  mali klesajúcu tendenciu so signifikantne najnižšími hodnotami v 4. a 5. mesiaci gravidity ( $P < 0,001$ ). Nárast koncentrácie  $P_4$  sme zaznamenali v 3., 4. ( $P < 0,01$ ) a 5. mesiaci gravidity ( $P < 0,001$ ). Pokles koncentrácií cholesterolu v 4. mesiaci gravidity bol štatisticky nepreukazný. Významnú korelačnú závislosť sme zistili vo vzťahoch  $T_4:E_2$  (v —7. a 14. dni),  $T_3:E_2$  (v —13. a —7. dni),  $T_3:P_4$  (v —7. dni),  $T_3:Chol$  (v —3. dni),  $E_2:Chol$  (v 14. dni a v 5. mesiaci). Uvažujeme o vzájomných vzťahoch hormónov vaječníka a štítnej žľazy, ktoré sú súčasťou komplexného biologického mechanizmu vytvárajúceho optimálne podmienky pre plnohodnotnú ovuláciu a priebeh gravidity hospodárskych zvierat.

ovca; synchronizácia ruje; gravidita; tyroxín; trijódtyronín; 17 beta-estradiol; progesterón; cholesterol

Poznanie patogenézy pohlavných dysfunkcií pri zmenenej činnosti štítnej žľazy je limitované vedomosťami o multiplicitnom a ubiquitnom pôsobení jej hormónov v rozsahu celého organizmu pri súčasnom špecifickom vplyve na celú hypotalamo-hypofyzáрно-ovariálnu os. Jedna

z možností modulačného vplyvu hormónov štítnej žľazy na pohlavné funkcie môže byť realizovaná cez účasť tyroxínu a trijódtyronínu na syntézu a metabolizme primárneho substrátu syntézy steroidov-cholesterolu. Po prívode tyroxínu sa zistila zvýšená aktivita  $\beta$ -hydroxy- $\beta$ -methylglutaryl-CoA-reduktázy, ktorá je významným kontrolným bodom v regulácii biosyntézy cholesterolu [Dempsey, 1974 — cit. Mayes, 1977; Norman a Litwack, 1987]. Tyreidektómia krýs indukovala všeobecné zníženie na energetickom kofaktore—NADPH závislých hydroxylačných procesov [Benelli a i., 1982], hypotyreoidizmus redukoval u krýs mitochondriálne a mikrozomálne koncentrácie cytochrómov skupiny P<sub>450</sub> [Negrie a i., 1978] katalyzujúc štiepenie bočných reťazcov cholesterolu a biosyntézu pregnenolónu a progesterónu [Richards a Hedin, 1968; Orly, 1989]. Podľa Katz-Feigenbauma a i., (1981) tyroidné hormóny špecificky, cestou stimulácie väzby k receptorom bunkového povrchu, internalizáciou a pôsobením lyzozómovej kyseliny cholesterol ester hydratázy, zvyšujú katabolizmus LDL, ktoré sú zdrojom cholesterolu pre steroidy produkované endokrinnými sústavami [Grummer a Carroll, 1988].

Vychádzajúc z uvedeného sme sa v predkladanej práci zamerali na štúdium vzájomných dynamických zmien koncentrácií tyroxínu, trijódtyronínu, progesterónu, 17 beta-estradiolu a cholesterolu pri synchronizácii ruje a v gravidite oviec pri súčasnom korelačnom hodnotení vzájomných vzťahov sledovaných parametrov.

## MATERIÁL A METÓDY

### POKUSNÉ ZVIERATÁ

Do experimentu sme zaradili 10 oviec plemena merino s priemernou hmotnosťou 50 kg. Kŕmna dávka pre jednotlivé fázy reprodukčného cyklu bola určená podľa ČSN 46 7070 (1982). V pripúšťacom období, v čase od 14. 9. do 24. 9., sme u zvierat synchronizovali ruju intravaginálnou aplikáciou polyuretánových tampónov s obsahom 20 mg chlórsuperlutinu (Agelin-poševné tampóny, Spofa). Po desiatich dňoch pôsobenia sme tampóny odstránili a každé zo zvierat *i. m.* ošetrili s PMSG v dávke 500 m. j. na zviera. Inseminácia sa robila čerstvým riedeným semenom.

### ODBER VZORIEK KRVI

Krv sa odoberala punkciou *v. jugularis* v deň aplikácie tampónov (—13. deň), 3. a 7. deň počas inzercie tampónov (—10. a —7. deň), pri vyberaní tampónov a injikovanií PMSG (—3. deň), pri inseminácii (0. deň), v 7., 14. a 17. dni a v polovici 2., 3., 4. a 5. mesiaca gravidity. Získané sérum sme do spracovania uskladňovali pri teplote —20 °C.

### LABORATORNE ANALÝZY

Koncentrácie tyroxínu (T<sub>4</sub>), trijódtyronínu (T<sub>3</sub>), progesterónu (P<sub>4</sub>), 17 beta-estradiolu (E<sub>2</sub>) sme stanovili v krvnom sére súpravami RIA-test-T<sub>4</sub>, RIA-test-T<sub>3</sub>, RIA-test-Prog a RIA-test-Estra (ÚRVJT Košice). K stanoveniu koncentrácií cholesterolu (Chol) v krvnom sére sme použili BIO-Lachema-test (Lachema Brno).

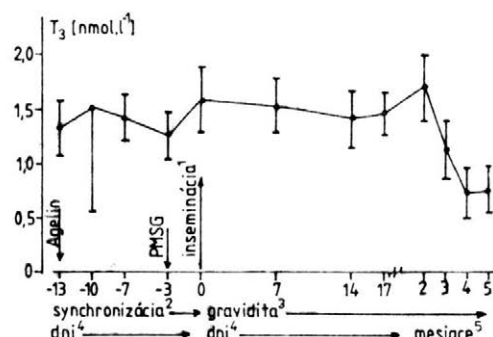
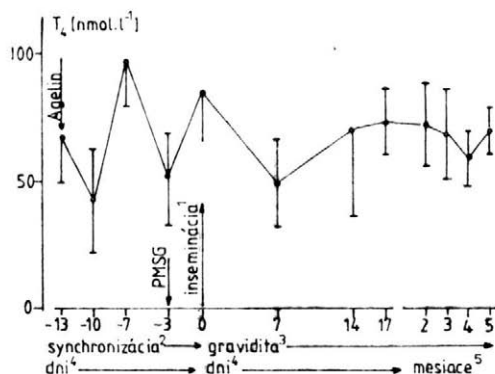
### STATISTICKÉ HODNOTENIE

Štatistickú významnosť rozdielov v koncentráciách sledovaných parametrov v jednotlivých dňoch v porovnaní k —13. dňu sme hodnotili Studentovým *t*-testom. Vzájomnú závislosť zmien sledovaných parametrov sme určili výpočtom korelačného koeficientu (*r*) a jeho štatistickej významnosti [Červenka, 1975].

## VÝSLEDKY

Výrazné zmeny v koncentráciách tyroxínu ( $T_4$ ) sme pozorovali od -13. do 7. dňa experimentu (tab. I, obr. 1). V porovnaní k -13. dňu sme po intermitentnom vzostupe, signifikantnom v -7. dni ( $P < 0,01$ ) a štatisticky významnom zostupe v -10. a 7. dni ( $P < 0,05$ ) zaznamenali jeho výrazný, nie však preukazný pokles ( $P > 0,05$ ) v -3. dni pozorovania k hodnotám  $50,22 \pm 18,77 \text{ nmol} \cdot \text{l}^{-1}$  séra. V deň inseminácie dosiahli jeho koncentrácie hodnoty  $85,4 \pm 17,22 \text{ nmol} \cdot \text{l}^{-1}$  séra. S výnimkou prechodného, nesignifikantného poklesu v 4. mesiaci gravidity sa od 14. dňa do 5. mesiaca gravidity koncentrácie tyroxínu udržiavali na mierne zvýšených hladinách, podobných východným hodnotám. Kolísali v medziach  $68,66 \pm 17,74$  až  $73,8 \pm 12,91 \text{ nmol} \cdot \text{l}^{-1}$  séra.

V koncentráciách trijódtyronínu ( $T_3$ ) sme podstatné zmeny v priebehu pôsobenia chlórsuperlutínu nepozorovali (tab. I, obr. 2). V -10. a -7. dni sme v porovnaní k východným hodnotám  $-1,32 \pm 0,26 \text{ nmol} \cdot \text{l}^{-1}$  séra, zaznamenali ich nesignifikantný vzostup. Štatisticky nepreukazný pokles, pozorovaný podobne ako pri tyroxíne v -3. dni, k hodnotám  $1,24 \pm 0,22 \text{ nmol} \cdot \text{l}^{-1}$  séra, vystriedal vzostup koncentrácií  $T_3$  v 0. dni pozorovania na úroveň hodnôt  $1,58 \pm 0,30 \text{ nmol} \cdot \text{l}^{-1}$  séra. V priebehu gravidity, s výnimkou epizodického vzostupu v 2. mesiaci gravidity, mali jeho koncentrácie klesajúcu tendenciu a signifikantne najnižšie hodnoty  $0,71 \pm 0,24$  a  $0,76 \pm 0,22 \text{ nmol} \cdot \text{l}^{-1}$  séra ( $P < 0,001$ ) dosiahli v 4. a 5. mesiaci gravidity.



1. Koncentrácie tyroxínu ( $T_4$ ) v systémovej obehu počas synchronizácie ruje a gravidity oviec — Concentrations of thyroxine ( $T_4$ ) in the systemic circulation in the course of oestrus synchronization and gravidity of ewes. Explanatory notes to Figs. 1—5: <sup>1</sup>insemination, <sup>2</sup>synchronization, <sup>3</sup>gravidity, <sup>4</sup>days, <sup>5</sup>months

2. Koncentrácie trijódtyronínu ( $T_3$ ) v systémovej obehu počas synchronizácie ruje a gravidity oviec — Concentrations of triiodothyronine ( $T_3$ ) in the systemic circulation in the course of oestrus synchronization and gravidity of ewes

I. Priemerné koncentrácie tyroxínu ( $T_4$ ), trijódtyronínu ( $T_3$ ), 17 beta-estradiolu ( $E_2$ ), progesteronu ( $P_4$ ), a cholesterolu (Chol) v systémovom obehu počas synchronizácie ruje a gravidity oviec — Average concentrations of thyroxine ( $T_4$ ), triiodothyronine ( $T_3$ ), 17 beta-estradiol ( $E_2$ ), progesterone ( $P_4$ ) and cholesterol (Chol) in the systemic circulation in the course of oestrus synchronization and gravidity of ewes

| Deň <sup>1</sup>    | Koncentrácie <sup>3</sup> [nmol.l <sup>-1</sup> ] |                |                  |                  |             |
|---------------------|---------------------------------------------------|----------------|------------------|------------------|-------------|
|                     | $T_4$                                             | $T_3$          | $E_2$            | $P_4$            | CHOL        |
| -13                 | 67,22 ± 18,29                                     | 1,32 ± 0,26    | 0,084 ± 0,036c   | 3,40 ± 3,61      | 1,63 ± 0,35 |
| -10                 | 41,75 ± 20,23*                                    | 1,50 ± 0,94    | 0,066 ± 0,020    | 2,54 ± 2,98      | 1,73 ± 0,33 |
| -7                  | 96,77 ± 17,51**                                   | 1,43 ± 0,21    | 0,471 ± 0,079*** | 2,81 ± 1,94      | 1,71 ± 0,24 |
| -3                  | 50,22 ± 18,77                                     | 1,24 ± 0,22    | 0,542 ± 0,177*** | 1,79 ± 3,71      | 1,61 ± 0,42 |
| 0                   | 85,40 ± 19,59                                     | 1,58 ± 0,30    | 0,155 ± 0,140    | 0,09 ± 0,08*     | 1,87 ± 0,21 |
| 7                   | 43,50 ± 17,22*                                    | 1,52 ± 0,26    | 0,176 ± 0,058**  | 3,95 ± 3,83      | 1,61 ± 0,40 |
| 14                  | 70,00 ± 33,62                                     | 1,40 ± 0,27    | 0,140 ± 0,077    | 4,57 ± 3,91      | 1,65 ± 0,42 |
| 17                  | 73,80 ± 12,91                                     | 1,44 ± 0,20    | 0,170 ± 0,090*   | 3,50 ± 2,40      | 1,72 ± 0,33 |
| Mesiac <sup>2</sup> |                                                   |                |                  |                  |             |
| 2                   | 72,20 ± 16,45                                     | 1,69 ± 0,31    | 0,096 ± 0,049    | 5,72 ± 2,50      | 1,71 ± 0,33 |
| 3                   | 68,66 ± 17,74                                     | 1,13 ± 0,28    | 0,177 ± 0,141    | 10,54 ± 5,11**   | 1,81 ± 0,45 |
| 4                   | 58,10 ± 11,14                                     | 0,71 ± 0,24*** | 0,355 ± 0,255*   | 21,10 ± 10,72**  | 1,47 ± 0,33 |
| 5                   | 69,55 ± 9,12                                      | 0,76 ± 0,22*** | 0,448 ± 0,417*   | 37,31 ± 16,57*** | 1,75 ± 0,33 |

Signifikantnosť diferencií hodnôt sledovaných parametrov medzi -13. dňom a ďalšími dňami: \* =  $P < 0,05$ ; \*\* =  $P < 0,01$ ; \*\*\* =  $P < 0,001$  (platí i pro tab. II) — Significance of differences of the values of the followed parameters beginning on day -13 and on following days: \* =  $P < 0,05$ ; \*\* =  $P < 0,01$ ; \*\*\* =  $P < 0,001$  (applies also to Tab. II)

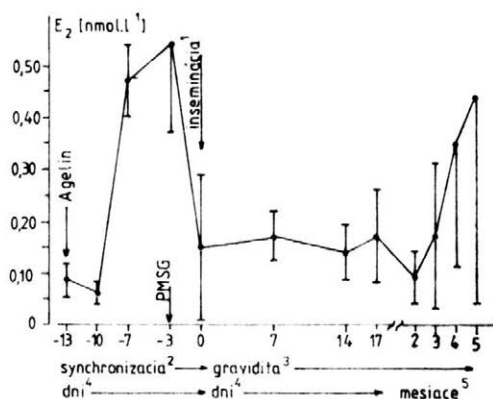
<sup>1</sup>day, <sup>2</sup>month, <sup>3</sup>concentrations

V porovnaní k -13. dňu sme v koncentráciách 17 beta-estradiolu ( $E_2$ ) po prechodnom štatisticky nepreukaznom poklese v -10. dni pozorovania (tab. I, obr. 3) zaznamenali ich signifikantný nárast v -7. a -3. dni experimentu s vrcholovými hodnotami  $0,47 \pm 0,07$  a  $0,54 \pm 0,17$  nmol.l<sup>-1</sup> séra ( $P < 0,001$ ). Vrcholové hodnoty vystriedal v 0. dni náhly pokles koncentrácie  $E_2$ , úroveň východných hodnôt však nedosiahli. Od nultého do 17. dňa gravidity sa udržiavali koncentrácie  $E_2$  na zvýšených hladinách signifikantných v 7. a 17. dni pozorovania ( $P < 0,01$ ;  $P < 0,05$ ). Po prechodnom poklese v 2. mesiaci gravidity sme zaznamenali ich výrazný vzostup s najvyššími hladinami  $0,35 \pm 0,25$  a  $0,44 \pm 0,41$  nmol.l<sup>-1</sup> séra v 4. a 5. mesiaci gravidity ( $P < 0,05$ ).

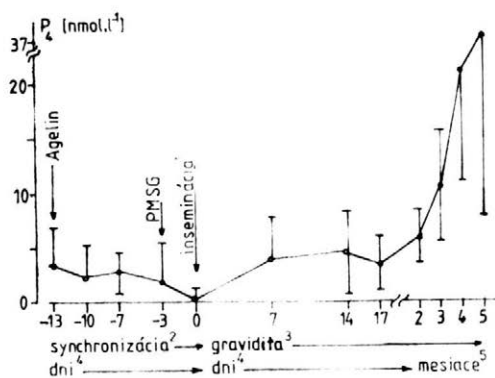
Signifikantný pokles koncentrácií progesterónu ( $P_4$ ) z hodnôt  $3,40 \pm 3,61$  nmol.l<sup>-1</sup> séra zistených v -13. dni experimentu (tab. I, obr. 4) k hodnotám  $0,09 \pm 0,08$  nmol.l<sup>-1</sup> séra sme zaznamenali v deň inseminácie ( $P < 0,05$ ). Od 7. dňa do 2. mesiaca gravidity mali koncentrácie  $P_4$  v porovnaní k -13. dňu vzostupnú tendenciu. Najvyššie hodnoty  $37,31 \pm 16,57$  nmol.l<sup>-1</sup> séra ( $P < 0,001$ ) dosiahli v piatom mesiaci gravidity.

V koncentráciách cholesterolu (Chol) (tab. I, obr. 5) sme štatisticky preukazné rozdiely v priebehu sledovania nezistili. Po miernom vzostupe hodnôt koncentrácií v -10. a -7. dni sme jeho najvyššie priemerné koncentrácie  $1,87 \pm 0,21$  nmol.l<sup>-1</sup> séra zaznamenali v čase inseminácie (0. deň). V 7. dni gravidity sa koncentrácie cholesterolu pohybovali na úrovni východných hodnôt. Vzostup s pohybom hodnôt v medziach  $1,65 \pm 0,40$  až  $1,81 \pm 0,45$  nmol.l<sup>-1</sup> séra, pozorovaný od 14. dňa do 5. mesiaca gravidity prerušil výrazný pokles jeho koncentrácií k hladinám  $1,47 \pm 0,33$  nmol.l<sup>-1</sup> séra v 3. mesiaci gravidity.

Štatisticky významnú korelačnú závislosť (tab. II) sme zistili vo vzťahoch  $T_4:E_2$  v -7. a 14. dni,  $T_3:E_2$  v -13. a -7. dni,  $T_3:P_4$  v -7. dni,  $T_3:Chol$  v -3. dni a  $E_2:Chol$  v 14. dni a 5. mesiaci gravidity.



3. Koncentrácie 17 beta estradiolu ( $E_2$ ) v systémovom obehu počas synchronizácie ruje a gravidity oviec — Concentrations of 17 beta-estradiol ( $E_2$ ) in the systemic circulation in the course of oestrus synchronization and gravidity of ewes



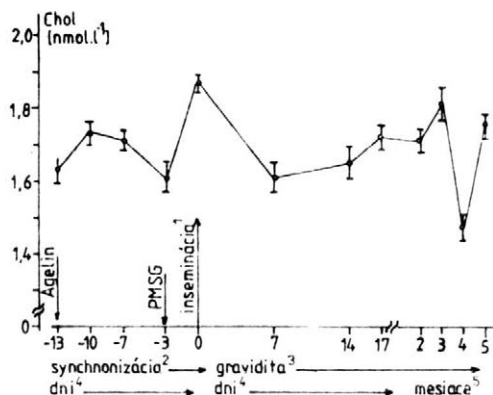
4. Koncentrácie progesterónu ( $P_4$ ) v systémovom obehu počas synchronizácie ruje a gravidity oviec — Concentrations of progesterone ( $P_4$ ) in the systemic circulation in the course of oestrus synchronization and gravidity of ewes

II. Korelačné hodnotenie vzájomných vzťahov sledovaných parametrov v jednotlivých dňoch — Correlative evaluation of mutual relations of the followed parameters on particular days

| Deň <sup>1</sup>    | Koeficient korelácie ( <i>r</i> ) vzťahov <sup>3</sup> |                                |                                |                                |                      |                      |                      |                      |
|---------------------|--------------------------------------------------------|--------------------------------|--------------------------------|--------------------------------|----------------------|----------------------|----------------------|----------------------|
|                     | T <sub>4</sub> :E <sub>2</sub>                         | T <sub>3</sub> :E <sub>2</sub> | T <sub>4</sub> :P <sub>4</sub> | T <sub>3</sub> :P <sub>4</sub> | T <sub>4</sub> :CHOL | T <sub>3</sub> :CHOL | E <sub>2</sub> :CHOL | P <sub>4</sub> :CHOL |
| —13                 | 0,1725                                                 | 0,7594*                        | 0,2079                         | —0,2636                        | —0,3923              | —0,0769              | —0,2451              | —0,2974              |
| —10                 | —0,1456                                                | —0,4557                        | 0,5572                         | 0,0263                         | —0,1225              | —0,3424              | 0,3501               | —0,0235              |
| —7                  | 0,7610*                                                | —0,7371*                       | —0,0351                        | —0,7285*                       | —0,3322              | 0,4057               | 0,2196               | —0,0657              |
| —3                  | —0,0325                                                | —0,0325                        | 0,3232                         | 0,3995                         | —0,3441              | —0,7185*             | 0,0575               | —0,2876              |
| 0                   | —0,3609                                                | 0,0298                         | 0,3488                         | —0,0826                        | —0,6191              | 0,0765               | 0,1120               | 0,4682               |
| 7                   | —0,4811                                                | 0,1474                         | 0,5338                         | 0,3433                         | —0,4419              | 0,2551               | 0,4850               | 0,0159               |
| 14                  | —0,7336*                                               | —0,1889                        | 0,1067                         | 0,4275                         | —0,4976              | —0,3146              | 0,9849***            | —0,3462              |
| 17                  | 0,4442                                                 | —0,5820                        | 0,3981                         | 0,0576                         | 0,0179               | —0,0341              | —0,3447              | —0,3987              |
| Mesiac <sup>2</sup> |                                                        |                                |                                |                                |                      |                      |                      |                      |
| 2                   | —0,2867                                                | —0,0526                        | 0,3134                         | 0,1039                         | —0,3865              | 0,4150               | 0,5072               | —0,5528              |
| 3                   | —0,6643                                                | 0,6214                         | —0,0861                        | 0,5041                         | —0,1127              | —0,2468              | 0,1366               | —0,2309              |
| 4                   | —0,2155                                                | —0,0511                        | —0,4327                        | 0,3406                         | —0,1729              | —0,1478              | 0,2512               | 0,3383               |
| 5                   | —0,4280                                                | 0,0699                         | —0,1542                        | 0,4502                         | 0,2345               | 0,4044               | 0,5376*              | 0,0318               |

For 1—2 see Tab. I; <sup>3</sup>correlation coefficient (*r*) of relationships

5. Koncentrácie cholesterolu (Chol) v systémovej cirkulácii počas synchronizácie ruje a gravidity oviec — Concentrations of cholesterol (Chol) in the systemic circulation in the course of oestrus synchronization and gravidity of ewes



## DISKUSIA

Ako z výsledkov vyplýva vzostup koncentrácií 17 beta-estradiolu po synchronizácii ruje chlórsuperlutinom a sérovým gonadotropným (PMSG) v sezónnom období pripúšťania oviec, sme zaznamenali po troch a vrcholové hodnoty po 10 dňoch pôsobenia gestagénu. V dni inseminácie hladiny jeho koncentrácií v porovnaní k -3. dňu signifikantne poklesli. Koncentrácie progesterónu v priebehu instalácie Agelinu klesali pozvoľne. Po výbere hubiek a ošetrení zvierat s PMSG dosiahli v dni inseminácie signifikantne najnižšie hladiny. Nami pozorované zmeny v koncentráciách progesterónu sú podobné k dynamickým zmenám, ktoré zaznamenali Kasztelan a i. (1988) po indukcií ruje implantátom s obsahom 375 mg progesterónu a 500 m. j. PMSG v miernom pásme v mesiaci decembri. Fukuji a i. (1983) u oviec ošetrovaných s methyl-acetoxypregesterónom (MAP) a PMSG v období od 21. septembra do 7. novembra pozoroval prvé zvýšenie 17 beta-estradiolu v deviatom dni pri vysadení MAP a aplikácii PMSG. Systémové koncentrácie progesterónu poklesli k najnižším hodnotám o 24 h neskôr pri súčasnom vrchole 17 beta-estradiolu. Pri zisťovaní vplyvu ročného obdobia na ovariálnu a adenohipofyzárnu rezponzibilitu oviec k synchronizačnému ošetrovaniu fluorgeston acetátom a PMSG zaznamenal Echterkamp (1982) signifikantný vzostup plazmatického estradiolu 12 h po aplikácii PMSG s pretrváváním, v závislosti od sezóny, do troch dní. V experimentoch, v ktorých sa ruja indukovala s MAP a PMSG v mimosezónnom období pozoroval Fukuji a i. (1984) najvyššie koncentrácie 17 beta-estradiolu v deň vysadenia MAP a injikovani PMSG a jeho najnižšie hodnoty v 75. až 81. h po ošetrení. Progesterón sa pohyboval na najnižších úrovniach medzi 51. až 57. hodinou po podaní PMSG.

Rozdiely v čase vzostupu 17 beta-estradiolu, ktoré sme v porovnaní k citovaným autorom zaznamenali pravdepodobne súvisia s výškou endogénnych koncentrácií progesterónu v čase exogénneho prívodu gestagénu. Hormóny žltého telieska na jednej strane, v závislosti od hladín pôsobia ako protektor žltého telieska, na druhej strane časujú uterus k produkcii prostaglandínov (Scaramuzzi a i., 1977), cez kontrolu tónickej sekrécie LH (Goodman a Karsch, 1980), vedúcej k sti-

mulácii syntézy androgénov (Huhtaniemi, 1983) sa podieľajú na syntéze estrogénov a conditio sine qua non pôsobí na CNS v jeho príprave na estrus indukujúce pôsobenie estrogénov.

Súbežne so vzostupom systémového 17 beta-estradiolu sme zaznamenali intermitentné zmeny koncentrácií  $T_4$ . Signifikantnému poklesu  $T_4$  v -10. dni odpovedal štatistický nepreukazný vzostup  $T_3$ . Vrchol 17 beta-estradiolu v -3. dni doprevádzal výrazný pokles  $T_4$  a mierne zníženie  $T_3$ . Tieto výsledky sú zhodné s našimi pozorovaniami u dojnic, u ktorých sme po vzostupe koncentrácií  $E_2$  v 44. h po podaní cloprostenolu pozorovali pozvoľný a medzi 52.—56. h signifikantný pokles tyroxínových hladín až na úroveň hypotyreózných hodnôt (Elečko a i., 1985). Tyroxín — depresívny účinok estrogénov je podľa Chena a Walfisha (1978) výsledkom stimulačného pôsobenia estrogénov na monodejodáciu  $T_4$  a jeho konverziu na biologicky aktívny  $T_3$ . Pokles systémových koncentrácií  $T_4$  po 48hodinovej infúzii estradiol benzoátu u dojnic (Elečko a i., 1982) túto hypotézu podporujú. Z uvedených poznatkov, ale i z výsledkov, v ktorých Chan a Tan (1986) pozorovali inhibičné pôsobenie  $T_4$  a  $T_3$  na aromatázovú aktivitu indukovanú v bunkách granulózy s FSH predpokladáme, že depresia  $T_4$  a  $T_3$  v čase estru a následné spätnoväzobným mechanizmom regulované vyplavenie TRH, sú významné biologické mechanizmy optimalizujúce priebeh reprodukčného cyklu a koncepcieschopnosť hospodárskych zvierat. Parciálne je uvedená hypotéza podporovaná výsledkami experimentov, v ktorých sme nižšie koncentrácie tyroxínu zistili pri prvej úspešnej inseminácii v porovnaní k druhej, resp. tretej, úspešnej inseminácii u prebiehaviek ako aj vyšší počet zabreznutých zvierat pri nižších koncentráciách tyroxínu v mesiacoch jún a november v porovnaní k marcovému pripúšťaniu (Bekeová a i., 1985, 1989).

V koncentráciách cholesterolu po miernom vzostupe v -10. dni sme pozorovali ich pozvoľný pokles s najnižšími hodnotami v -3. dni experimentu, ktoré boli v deň inseminácie (0. dni) vystriedané prechodným zvýšením. V zhode s našimi výsledkami, Talavera a i. (1985) pri štúdiu dynamických zmien cholesterolu v priebehu estrálneho cyklu dojnic zaznamenali jeho vrcholové hladiny medzi nultým a 2. postestrálnym dňom. Negatívna korelačná závislosť, ktorú sme pozorovali počas synchronizačného ošetrenia vo vzťahu cholesterolu a progesterónu je porovnateľná s korelačnými výsledkami počas estrálneho cyklu u oviec (Raval a i., 1986), dojnic (Talavera a i., 1985) a miniprasiat (Lussiercacan a i., 1977). Z paralelného hodnotenia dynamických zmien sledovaných parametrov počas pôsobenia gestagénu a PMSG usudzujeme, že zmeny v dynamike cholesterolu v priebehu synchronizačného ošetrenia oviec sú výsledkom modulačného pôsobenia znížených, resp. zvýšených hladín tyroxínu evokujúcich zmeny aktivity enzýmov zahrnutých v metabolizme žľových a mastných kyselín (Heimberg a i., 1985), cholesterol-esterázu aktivujúcim účinkom gestagénu (Caffrey a i., 1986) a energetického pôsobenia  $E_2$  a FSH, resp.  $E_2$  a LH na stimuláciu pohotovostného poolu cholesterolu a jeho efektívnu postovulačnú utilizáciu k syntéze pregnenólónu v mitochondriách (Veeldhuis a i., 1984, Holt a i., 1988).

Od času pripúšťania, t. j. nultého dňa po druhý mesiac gravidity, sa koncentrácie 17 beta-estradiolu pohybovali v porovnaní k východným

vzostup sme pozorovali od 4. mesiaca gravidity. Challis (1971) zistil hodnotám na priemerne i signifikantne zvýšených hladinách. Ich ďalší vrchol koncentrácií estrogénov 24 h pred pôrodom. U dojnic bol kontinuálny vzostup estrogénu a 17 beta-estradiolu pozorovaný od 4. predpôrodného týždňa s jeho vrcholením v čase pôrodu (Robertson, 1974; Sawada a i., 1988). U kôz medzi 16. a 4. prepartálnym dňom dosiahli koncentrácie 17 beta-estradiolu úroveň 85 pg . ml<sup>-1</sup> s maximom 165 pg . ml<sup>-1</sup> 24 h pred pôrodom (Valker a Peaker, 1978). Pôvod a indukčné mechanizmy spúšťajúce syntézu estrogénov sú zatiaľ nejasné. Z experimentálnych prác robených na krysiach sa usudzuje, že v druhej polovici gestácie pôsobením doteraz neidentifikovaných faktorov začína placenta produkovať androgénne substráty aromatizované v ováriách na estrogény (Gibori a Sridaran, 1981; Jackson a Albrecht, 1985). Predpokladáme, že so vzostupom syntézy a produkcie placentárnych androgénov a u oviec i progesterónu (Bedford a i., 1977) súvisí i náhly pokles trijódtyronínu (Banovaca i., 1986) a cholesterolu medzi 3. a 4. mesiacom gravidity zistený v našej práci.

Z výsledkov sledovania koncentrácií tyroxín-viažúceho globulínu (TBG) v gravidite a po orálnej aplikácii estrogénov sa všeobecne predpokladá, že vzostup koncentrácií celkového tyroxínu počas gestácie je sekundárnym javom k estrogénmi indukovanej stimulácii syntézy TBG (Fukuda a i., 1980; Souma a i., 1981; Guillaume a i., 1985). Z korelačnej analýzy TBG s nekonjugovaným estrónom a 17 beta-estradiolom však Spare a i., (1987) usudzujú, že mimo estrogénov existujú iné doteraz neobjasnené faktory významne vplývajúce na syntézu TBG v gravidite. Týmto si čiastočne vysvetľujeme rozdielny účinok zvýšených hladín estrogénov na tyroidálne hormóny a ich koncentrácie zistené v priebehu ošetrovania bahníc s chlórsuperlutinom a PMSG a v gravidite.

Z hodnotenia vzájomných dynamických a korelačných závislostí sledovaných parametrov s prihliadnutím na ich vzájomné súbežné a následné vplyvy usudzuje, že medzi hormónmi štítnej žľazy a vaječníka sa v preovulačnom období, ale i počas gravidity vytvárajú zložité, vzájomne sa ovplyvňujúce vzťahy, ktoré sú súčasťou komplexného biologického mechanizmu vytvárajúceho optimálne podmienky pre plnohodnotnú ovuláciu, koncepcieschopnosť a graviditu zvierat.

## Literatúra

- BANOVAC, K. — RYAN, E. A. — O'SULLIVAN, M. J.: Triiodothyronine (T<sub>3</sub>) nuclear-binding sites in human placenta and decidua. *Placenta*, 7, 1986, s. 543—549.
- BEDFORD, C. A. — HARRISON, F. A. — HEAP, R. B.: The metabolic clearance rate and production rate of progesterone clearance and the conversion of progesterone to 20  $\alpha$ -hydroxypregn-4-en-3-one in the sheep. *J. Endocrinol.*, 55, 1972, s. 105—108.
- BEKEOVÁ, E. — MARAČEK, I. — HAJURKA, J. — LAZÁR, L. — KRAJNÍČKOVÁ, M.: Vplyv veku, hmotnosti a plemennej príslušnosti jalovic na koncentrácie tyroxínu pri inseminácii. *Veter. Med. (Praha)*, 30, 1985, s. 1—9.
- BEKEOVÁ, E. — ELEČKO, J. — HENDRICHOSKÝ, V. — HAJURKA, J. — CHOMA, J. — KRAJNÍČKOVÁ, M.: Zabrevávanie dojnic v rôznych ročných obdobiach vo vzťahu ku koncentráciám tyroxínu (T<sub>4</sub>) a trijódtyronínu (T<sub>3</sub>). *Veter. Med. (Praha)*, 34, 1989, s. 491—500.
- BENELLI, CH. — MICHEL, O. — MICHEL, R.: Effect of thyroidectomy on the rat adrenal cortex enzyme involved in corticosterone and aldosterone biosynthesis. *J. steroid Biochem.*, 16, 1982, s. 755—761.
- CAFFREY, J. L. — FLETCHER, P. V. — DIEKMAN, P. L. — O'CALLAGHAN, P. L. —

- NISWENDER, G. D.: The activity of ovine luteal cholesterol esterase during several experimental conditions. *Biol. Reprod.*, 21, 1986, s. 199—205.
- ČERVENKA, J.: Základy statistiky. GORDAN, J. (ed), Martin, Osveta 1975, s. 80—93.
- ECHTERNKAMP, S. E.: Influence of breed and season on ovarian and pituitary response in progestagen-PMSG-treated ewes. *Theriogenology*, 18, 1982, s. 95—106.
- ELEČKO, J. — BEKEOVÁ, E. — CHOMA, J. — MARAČEK, I.: Koncentrácia progesterónu a tyroxínu v luteálnej fáze cyklu jalovic po ovplyvnení estradiol benzoátom. *Veter. Med. (Praha)*, 27, 1982, s. 705—714.
- ELEČKO, J. — BEKEOVÁ, E. — MARAČEK, I. — CHOMA, J. — KRAJNÍČÁKOVÁ, M.: Korelácia medzi tyroxínom, 17 beta-estradiolom, luteinizačným hormónom v systémovej obehu a rektálnou i vaginálnou teplotou jalovic a kráv po podaní cloprostenolu. *Veter. Med. (Praha)*, 30, 1985, s. 257—265.
- FUKUDA, H. — OHSHIMA, K. — MORI, M. — KOBAYASHI, I. — GREER, M. A.: Sequential changes in the pituitary-thyroid axis during pregnancy and lactation in the Rat. *Endocrinology*, 107, 1980, s. 1711—1716.
- FUKUJI, Y. — SOTTO, W. L. — ONO, H.: Synchronization of estrus and ovulation in ewes by means of progestin treatment combined with either PMSG or FGF<sub>2α</sub>. *Jap. J. anim. Reprod.*, 29, 1983, s. 48—53.
- FUKUJI, Y. — TAKENAKA, S. — DOMEKI, I. — ONO, H.: Effects of GnRH and anti-PMSG injections on fertility in ewes pre-treated with MAP sponge and PMSG during the non-breeding season. *Jap. J. anim. Reprod.*, 30, 1984, s. 108—116.
- GIBORI, G. — SRIDARAN, R.: Sites of androgen and estradiol production in second half of pregnancy in the rat. *Biol. Reprod.*, 24, 1981, s. 249—255.
- GOODMAN, R. L. — KARSCH, F. J.: Pulsatile secretion of luteinizing hormone: differential suppression by ovarian steroids. *Endocrinology*, 107, 1980, s. 1286—1290.
- GRUMMER, R. R. — CAROLL, D. J.: A review of lipoprotein cholesterol melatonin: importance to ovarian function. *J. anim. Sci.*, 66, 1988, s. 3160—3173.
- GUILLAME, J. — SCHUSSLER, G. C. — GOLDMAN, J.: Components of the total serum thyroid hormone concentrations during pregnancy. High free thyroxine and blunted hormone in the first trimester. *J. clin. Endocrinol. Metab.*, 60, 1985, s. 678—684.
- HEIMBERG, M. — OLUBADWO, J. O. — VILCOX, G. H.: Plasma lipoproteins and regulation of hepatic metabolism of fatty acids in altered thyroid states. *Endocrin. Rev.*, 5, 1985, s. 590—607.
- HOLT, J. A. — WITTMACK, F. M. — SCHREIBER, J. R. — GHOSH, D. K. — MENON, K. M. J.: Estrogen increases precursors for pregnenolone synthesis with temperature-sensitive occupancy of P-450 scc in mitochondria of rabbit corpus luteum. *Endocrinology*, 122, 1988, s. 1948—1957.
- HUHTANIEMI, I. T.: Gonadotrophin receptors: Correlates with normal and pathological functions of the human ovary and testis. *Clinics Endocrinol. Metab.*, 12, 1983, s. 117—132.
- CHALLIS, J. R. G.: Sharp in free circulating estrogens immediately before parturition in sheep. *Nature*, 229, 1971, s. 208—211.
- CHAN, W. K. — TAN, CH. H.: Inhibition of follicle-stimulating hormone induction of aromatase activity in porcine granulosa cells by thyroxine and triiodothyronine. *Endocrinology*, 119, 1986, s. 2353—2359.
- CHEN, H. J. — WALFISH, P. G.: Effects of estradiol benzoate on thyroid-pituitary function in female rats. *Endocrinology*, 103, 1978, s. 1023—1030.
- JACKSON, J. A. — ALBRECHT, E. D.: Estrogen regulates placental androstenedione production during rat pregnancy. *Endocrinology*, 119, 1986, s. 1052—1057.
- KASZTELAN, R. — STUPNICKY, R. — ZBRACKI, A.: Poziomy LH i progesteronu u owiec z ruja indukowana poza sezonem rozrodcym. *Med. weter.*, 41, 1988, s. 497—498.
- KATZ-FEIGENBAUM, D. — BRAUN, L. — WOLINSKY, H.: Hydrolase activities in the rat aorta. V. Comparison to activities in liver and kidney after thyroidectomy and relation to dynamics clearance of circulating low density lipoproteins. *Circ. Res.*, 49, 1981, s. 733—741.
- LUSSIER-CACAN, S. — BOLTE, E. — BIDALLIER, M. — HANG, Y. S. — DAVIGNON, J.: Cyclic fluctuations of plasma cholesterol in the female miniature swine and its relationship to progesterone secretion. *Proc. Soc. exp. Biol. Med.*, 154, 1977, s. 471—478.
- MAYES, P.: Metabolismus lipidů. In: H. A. HARPER: Přehled fyziologické chemie, 1. české vydání, Praha, Avicenum 1977, s. 307—355.
- NEGRIE, C. — BOUHNÍK, J. — MICHEL, O. — MICHEL, R.: Effects of thyroidectomy on the protein content of rat adrenal cortex mitochondria and microsomes. *J. steroid. Biochem.*, 9, 1978, s. 1001—1008.
- NORMAN, A. W. — LITWACK, G.: Steroid hormones: Chemistry, biosynthesis and meta-

- bolism. In: NORMAN, A. W. — LITWACK, G.: Hormones. JOVANOVIĆ, H. B. (ed), INC., Orlando, Florida, Academic Press 1987, s. 50—99.
- ORLY, J.: Orchestrated expression of steroidogenic side-chain cleavage cytochrome P-450 during follicular development in the rat ovary. *J. Reprod. Fertil.*, 37, 1989, s. 155—162.
- RAWAL, C. V. S. — SINGH, R. — LUKTURE, S. N.: Serum cholesterol level during different phases of oestrus cycles in Muzaffarnagari sheep. *Indian J. anim. Sci.*, 56, 1986, s. 1205—1211.
- RICHARDS, J. S. — HEDIN, L.: Molecular aspects of hormone action in ovarian follicular development ovulation, and luteinization. *Ann. Rev. Physiol.*, 50, 1988, s. 441—463.
- ROBERTSON, H.: Changes in the concentration of unconjugated oestrone, oestradiol-17 $\alpha$  and oestradiol-17 $\beta$  in the maternal plasma of the pregnant cow in relation to the initiation of parturition and lactation. *J. Reprod. Fertil.*, 36, 1974, s. 1—7.
- SAWADA, T. — KIMURA, E. — FUJIMOTO, Y. — MATSUNAGA, H. — MORI, J.: Plasma estrone, estradiol-17 $\alpha$  and progesterone levels during late pregnancy and parturition in dairy cattle. *Jap. J. veter. Sci.*, 50, 1988, s. 654—658.
- SCARAMUZZI, R. J. — BAIRD, D. T. — BOULE, H. P. — LAND, R. B. — WHEELER, A. G.: The secretion of prostaglandin F from the autotransplanted uterus of the ewe. *J. Reprod. Fertil.*, 49, 1977, s. 157—160.
- SOUZA, J. A. — GREEN, P. J. — COPPAGE, A. T. — DONNER, R. S. — HOGG, A. L.: Changes in thyroid function in pregnancy and with oral contraceptive use. *South. Med. J.*, 74, 1981, s. 684—687.
- SPARRE, L. S. — BRUNDIN, J. — CARLSTRÖM, K. — CARLSSTRÖM, A.: Oestrogen and thyroxine-binding globulin levels in early normal pregnancy. *Acta endocrin.*, 114, 1987, s. 298—304.
- TALAVERA, F. — PARK, C. S. — WILLIAMS, G. L.: Relationship among dietary lipid intake serum cholesterol and ovarium function in Holstein heifers. *J. anim. Sci.*, 60, 1985, s. 1045—1052.
- VALKER, F. M. M. — PEAKER, M.: Production of oestradiol 17 by the goat mammary gland during late pregnancy in relation to lactogenesis. *J. Physiol.*, 284, 1978, s. 71—72.
- VELDHUIS, J. D. — GWYNNE, J. T. — STRAUSS, J. F. — DEMERS, L. M.: Role of estradiol as a biological amplifier of gonadotropin action in the ovary: *In vitro* studies using swine granulosa cells and homologous lipoproteins. *Endocrinology*, 114, 1984, s. 2312—2322.

Došlo dňa 16. 7. 1990

BEKEOVÁ, E. — KRAJNÍČÁKOVÁ, M. — HENDRICHOVSKÝ, V. — MARÁČEK, I. (Institute of Experimental Veterinary Medicine, Košice): *Influence of synchronization treatment in the seasonal period and of sheep gravidity on concentrations of thyroxine, triiodothyronine, 17 beta-estradiol, progesterone and cholesterol.* *Veter. Med. (Praha)*, 36, 1991 (7): 433—444.

Knowledge of pathogenesis of sexual dysfunctions at altered thyroid activity is limited by the knowledge of multiple and ubiquitous action of its hormones throughout the organism. One of the possibilities of modulatory influence of thyroid hormones on sexual functions can be realized through the participation of thyroxine and triiodothyronine in the synthesis and metabolism of primary substrate of steroid synthesis — cholesterol. The presented work is aimed at the study of simultaneous dynamic changes of concentrations of thyroxine ( $T_4$ ), triiodothyronine ( $T_3$ ), 17 beta-estradiol ( $E_2$ ), progesterone ( $P_4$ ) and cholesterol (Chol) during synchronization of the rutting period and gravidity at parallel correlative evaluation of mutual relations of the followed parameters in ten Merino sheep in the seasonal period. Synchronization was achieved by chloresuperlutin (Agelin — vaginal swabs, Spofa; 20 mg of chloresuperlutin/swab) and PMSG (500 I. U./animal). Blood was sampled by means of a jugular vein puncture at the time of swab insertion (—13th day) and after three (—10th day) and seven (—7th day) following days, at the removal of swabs and application of PMSG (—3rd day), on the day of insemination (zero day), on the 7th, 14th and 17th day and in the middle of the 2nd, 3rd, 4th and 5th month of gravidity. In the phase of oestrus synchronization a significant increase of  $E_2$  concentrations on days —7 and —3 of the experiment ( $0.47 \pm 0.079$  and  $0.542 \pm 0.177$  nmol.l $^{-1}$  of serum,  $P < 0.001$ ;  $P < 0.001$ ) was observed compared to the  $E_2$  values (Tab. I, Graph 3) on day —13 ( $0.084 \pm 0.036$  nmol.l $^{-1}$  of serum). Parallel to these observations, marked intermittent changes of  $T_4$  (Tab. I, Graph 1) were recorded with the lowest values of this parameter observed on days —10 ( $41.75 \pm 20.23$ ,  $P < 0.05$ ) and —3 ( $50.22 \pm 18.77$ ,  $P < 0.05$ ) and the

highest on day -7 ( $96.77 \pm 17.51$  nmol.l<sup>-1</sup>,  $P < 0.01$ ) and day zero ( $85.40 \pm 19.59$  nmol.l<sup>-1</sup> of serum,  $P < 0.05$ ) in comparison with the -13th day ( $67.22 \pm 18.29$  nmol.l<sup>-1</sup> of serum). Concentrations of  $P_4$  (Tab. I, Graph 4) declined to the lowest values on day zero observation ( $0.09 \pm 0.08$  nmol.l<sup>-1</sup> of serum,  $P < 0.05$  vs  $3.40 \pm 3.61$  nmol.l<sup>-1</sup> on day -13). No significant changes of concentrations of  $T_3$  (Tab. I, Graph 2) and Chol (Tab. I, Graph 5) were observed during oestrus synchronization. During gravidity, concentrations of  $E_2$  (Tab. I, Graph 3) showed an increasing trend compared to the -13th day. The highest significant values were reached on day 7 ( $0.176 \pm 0.058$  nmol.l<sup>-1</sup>,  $P < 0.01$ ), day 17, and in the 4th and 5th month of gravidity ( $0.17 \pm 0.09$ ;  $0.355 \pm 0.255$ ;  $0.448 \pm 0.417$  nmol.l<sup>-1</sup> of serum,  $P < 0.05$ ). A temporary statistically significant decrease of  $T_4$  concentration (Tab. I, Graph 1) on day 7 of observation ( $P < 0.05$ ) was followed by concentrations maintaining the values similar to those on day -13, in the period from the 14th day till the 5th month of gravidity. After the temporary statistically insignificant increase in the 2nd month of gravidity,  $T_3$  concentrations (Tab. I, Graph 2) showed a decreasing tendency beginning from the 3rd month to the end of observation, with a significant decline in the 4th and 5th month of gravidity ( $0.71 \pm 0.24$  and  $0.76 \pm 0.22$  nmol.l<sup>-1</sup>,  $P < 0.001$ ,  $P < 0.001$ ). After the gradual increase of  $P_4$  concentrations during the first days of gravidity (Tab. I, Graph 4) their significant increase was observed in the 3rd, 4th and 5th month of gravidity ( $10.54 \pm 5.11$ ;  $21.10 \pm 10.72$ ;  $37.31 \pm 16.57$  nmol.l<sup>-1</sup> of serum,  $P < 0.01$ ;  $P < 0.01$ ;  $P < 0.001$ ). The decrease of Chol concentrations in the 4th month of gravidity (Tab. I, Graph 5) was statistically insignificant. Significant correlation dependences of the followed parameters (Tab. II) were observed for  $T_4:E_2$  (on day -7 and 14),  $T_3:E_2$  (on day -7),  $T_3:Chol$  (on day -3),  $E_2:Chol$  (on day 14) and in the 5th month. Dynamics of the followed parameters and their mutual correlation dependences as well as the present knowledge of the effects of parameters followed in our study indicate that the thyroid hormones stimulate the development and production of ovarian estrogens by affecting the processes of synthesis and metabolism. Estrogens play an important role in conversion of thyroxine to biologically active triiodothyronine. Degradation of system thyroxine by feedback mechanisms evokes the production of TRH and TSH, and also of thyroxine and triiodothyronine and their repeated action on processes of cholesterol metabolism and synthesis. The above-mentioned, and for the time being very brief knowledge indicates the existence of complicated, mutually affected relationships of ovarian and thyroid hormones not only during the preovulation period but also during gravidity. They represent a part of complex biological mechanisms which produces the optimal conditions for full-value ovulation, conceptive ability and gravidity of farm animals.

sheep; oestrus synchronization; gravidity; thyroxine; triiodothyronine; 17 beta-estradiol; progesterone; cholesterol

---

#### Adresa autorov:

MVDr. Eva Bekeová, CSc., MVDr. Mária Krajničáková, MVDr. Valentín Hendrichovský, CSc., doc. MVDr. Imrich Maraček, CSc., Ústav experimentálnej veterinárnej medicíny, Duklianských hrdinov 1/A, 040 01 Košice

---

## **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 shrnout 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 přeložení 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 kdokoli 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 a 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 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



**CHCETE PODNIKAT  
A NEVÍTE JAK NA TO?  
NEVÍTE S KÝM,  
NEVÍTE ZA CO,  
PŘIJĎTE — JE TU  
ADEKO!!!**

**ADEKO, a. s., Vám nabízí**

- **marketingovou činnost v oboru ekologie**
- **poradenskou, konzultační, posudkovou, zprostředkovatelskou, obstaravatelskou a zastupitelskou činnost**
- **kapitálovou účast v jiných podnikatelských společnostech**
- **společné podnikání**
- **investorskou a investiční činnost**
- **výběr zahraničních partnerů pro společné podnikání**
- **zajišťování a provádění leasingu**
- **poskytování služeb**

**A D E K O, a. s.**

**Slezská 7**

**120 56 PRAHA 2**

**Telefon: 25 83 42**

**Fax: 25 92 70**

Rukopisy odevzdány k tisku 18. 7. 1991 — Podepsáno k tisku 12. 12. 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., provoz 21, Ostrava 1, Novinářská 7  
© Ústav vědeckotechnických informací pro zemědělství, Praha 1991

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, 657 07 Brno; PNS—ÚED Praha, závod 03, 28. října 206, 709 90 Ostrava 9.