

VĚDECKÝ ČASOPIS



VETERINÁRNÍ MEDICÍNA

11

ROČNÍK 36 (LXIV)
PRAHA
LISTOPAD 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

Bíreš J., Harvan M., Hudák P., Mucha L., Juhásová Z.: Vplyv prípravku Zindep inj. na zinkémiu, T-lymfocyty a beta-lyzín u gravidných dojníc	641
Lazár L., Hajurka J.: Estradiol, progesterón a cyklické nukleotidy v tekutine folikulov perzistujúcich a z luteálnej fázy pohlavného cyklu kráv	649
Koudela B., Vodstrčilová M., Klimeš B., Vladík P., Vítovec J.: Použití antikocidika tortrazuril (Baycox, Bayer) při kokcidióze sajících selat	657
Juriš P., Breza M., Schmidtová D., Venglovský J.: Diseminácia a prežívanie zárodkov endoparazitov v životnom prostredí	665
Bekeová E., Elečko J., Krajničáková M., Hendrichovský V., Maraček I.: Dynamika zmien koncentrácie cholesterolu, tyroidných a ovariálnych hormónov krvného séra v postpartálnom období bahníc	673
Ruprich J., Košutzký J., Ostrý V., Košutzká E.: Dlouhodobý příjem mykotoxinu ochratoxin A u kuřat z hlediska reziduí v potravinářských a krmných surovinách	685
Hrdlička J.: Identifikace reziduí antibiotik ve tkáních jatečných zvířat elektroforézou s bioautografickou detekcí	695

CONTENS

Bíreš J., Harvan M., Hudák P., Mucha L., Juhásová Z.: The effects of Zindep inj. preparation on zincaemia, T-lymphocytes and beta-lysine in pregnant dairy cows	647
Lazár L., Hajurka J.: Estradiol, progesterone and cyclic nucleotides in the fluid of persistent follicles and follicles from the luteal phase of sexual cycle of cows	654
Koudela B., Vodstrčilová M., Klimeš B., Vladík P., Vítovec J.: Chemoprophylaxis of porcine neonatal coccidiosis with tortrazuril (Baycox, Bayer)	663
Juriš P., Breza M., Schmidtová D., Venglovský J.: Dissemination and survival of the propagative stages of pig endoparasites in the environment	670
Bekeová E., Elečko J., Krajničáková M., Hendrichovský V., Maraček I.: Dynamics of changes in concentrations of cholesterol and thyroid and ovarian hormones in blood serum during postparturient period of ewes	683
Ruprich J., Košutzký J., Ostrý V., Košutzká E.: A long-term intake of the mycotoxin ochratoxin A by chicks with respect to its residues in foods and feeds	692
Hrdlička J.: Identification of antibiotic residues in the tissues of slaughter animals by bioautographic detection electrophoresis	701

VPLYV PRÍPRAVKU ZINDEP INJ. NA ZINKÉMIU, T-LYMFOCYTY A BETA-LYZÍN U GRAVIDNÝCH DOJNÍC

J. Bíreš, M. Harvan, P. Hudák, L. Mucha, Z. Juhásová

BÍREŠ, J. — HARVAN, M. — HUDÁK, P. — MUCHA, L. — JUHÁSOVÁ, Z. (Vysoká škola veterinárska, Košice; Ústav experimentálnej veterinárnej medicíny, Košice; Štátny majetok, Košice): *Vplyv prípravku Zindep inj. na zinkémiu, T-lymfocyty a beta-lyzín u gravidných dojníc*. Veter. Med. (Praha), 36, 1991 (11): 641—648

Posúdili sme účinok aplikácie zinku v prípravku Zindep inj. *ad usum vet.* na koncentráciu zinku v krvnom sére u 16 gravidných dojníc. Súčasne sme vo vzťahu k injekčnému podaniu zinku sledovali T-rozetujúce lymfocyty (Ly) a aktivitu beta lyzínu. Aplikácia prípravku ôsmim pokusným dojniciam v polovici siedmeho mesiaca gravidity v dávke 3 mg Zn.kg⁻¹ ž. h. štatisticky významne zvýšila zinkémiu experimentálnych zvierat oproti kontrolným od 8. do 60. dňa ($P < 0,01$). Maximálne hladiny zinku v krvnom sére pokusných zvierat boli medzi 15. a 30. dňom po podaní ($15,65 \pm 3,33$ resp. $14,55 \pm 2,10$ $\mu\text{mol.l}^{-1}$). Signifikantné zvýšenie percenta T-rozetujúcich Ly ($P < 0,01$) sme u experimentálnej skupiny v porovnaní s kontrolnou pozorovali na 2. deň po aplikácii Zindepu. Maximálne hodnoty T-Ly sme u pokusných zvierat evidovali na 8. a 15. deň ($49,96 \pm 2,38$ resp. $47,74 \pm 1,02$ %). Štatisticky vyššie percentuálne zastúpenie T-rozetujúcich Ly sme u experimentálnych dojníc v porovnaní s kontrolnými zaznamenali medzi 2. a 60. dňom ($P < 0,01$). Nepreukazne vyššie hodnoty beta-lyzínu sme v krvnom sére experimentálnych kráv oproti kontrolným zistili od 2. do 15. dňa po aplikácii Zindepu. Signifikantný rozdiel v aktivite beta-lyzínu sme medzi pokusnou a kontrolnou skupinou potvrdili na 60. deň ($P < 0,05$). Dosiahnuté výsledky potvrdzujú pozitívny vplyv aplikácie zinku v prípravku Zindep inj. na zinkémiu a percentuálne zastúpenie T-rozetujúcich Ly u gravidných dojníc. Závislosť medzi injekčným podaním zinku a aktivitou beta-lyzínu v krvnom sére pokusných zvierat nebola jednoznačná.

dojnice; Zindep inj.; zinkémia; T-lymfocyty; beta-lyzín

V ostatnom období vzrástol záujem o zinok pre jeho vzťah k imunitnému systému. Zinok stimuluje syntézu lymfocytárnej DNA a RNA (Menger a i., 1988; Bogden a i., 1988). Funguje ako mitogén a v kultúre lymfocytov vyvoláva blastickú transformáciu (Fraker a i., 1986). Väzbou na tymulín zinok ovplyvňuje intra- a extratymickú diferenciaciu T-lymfocytov, čo sa prejavuje v množstve ako aj vzájomnom pomere pomocných, pamäťových, supresorových, cytotoxických, efektorových a zápalových buniek (Prasad, 1985). Je aktivátorom cytosolic proteín kinázy C, ktorá indukuje translokáciu zinku z jadierka a mitochondrie do cytosolu a mikrozómov T-lymfocytov (Csermely a Somogyi, 1989).

Pri karencii zinku dochádza k reverzibilnej atrofii lymfoidného tkaniva, čím sa redukuje celulórna multiplikácia a klesá počet T- a B-lymfocytov jednak pred infekciou, ale aj po antigénnej stimulácii (Chandra a Puri, 1985; Carlomagno a McMurray 1983; Bíreš a Vrzgula, 1988). Pri nedostatku zinku sa významne znižuje motilita (chemotaktická a chemokinetická aktivita) a fagocytóza makro- i mikrofágov, ktorú je možné aplikáciou zinku reštaurovať (Oleske a i., 1983; Fraker a i., 1984). U zvierat trpiacich deficienciou zinku sa aktivizuje hypotalamo-adrenálna os s následným vzostupom glukokortikoidov, ktoré vyvolávajú atrofiu týmusu a lýzu nezrelých tymocytov (Fraker a i., 1986). Zjavne sa znižuje vychytávanie tymidínu v T-lymfocytoch stimulovaných fytohemaglutinínom a konkanavalínom A — test blastotransformácie (Poleník, 1987). Pri nedostatku zinku sa taktiež narušuje metabolizmus B-lymfocytov, čo je spojené s poklesom tvorby protilátok (Carlomagno a McMurray 1983; Gablíks a i., 1985).

Najvyššie požiadavky na príjem zinku majú gravidné zvieratá. Súvisí to predovšetkým s intrauterinným vývojom plodu, v ktorom matka ukladá denne 13 % zinku z prijatého množstva v krmive (Hansard a i., 1968). Zinok je potrebný pre rast a rozmnožovanie zárodočných buniek a celkový vývoj plodu (Hidiroglou, 1980; Apgar a Fitzgerald, 1985). Deficiencia zinku u gravidných zvierat spôsobuje spomalenie vývoja plodu, kongenitálne malformácie, dystokiu a nízku životaschopnosť a obranyschopnosť u mláďat (Fairweather-Tait a i., 1985; Southon a i., 1988). Neadekvátny príjem zinku v priebehu gravidity pravdepodobne negatívne vplyva na parametre celúrnej a humorálnej imunity aj u matiek.

V práci sme posúdili vplyv aplikácie zinku v prípravku Zindep inj. *ad usum vet.* (Biotika) na koncentráciu zinku v krvnom sére gravidných dojníc. Súčasne sme vo vzťahu k injekčnému podaniu zinku sledovali T-lymfocyty a beta-lyzín.

MATERIÁL A METÓDY

Sledovania prebehli u 16 dojníc plemena čierostrakatého a červenostrakatého v siedmom mesiaci gravidity na druhej laktácii počas zimného krmného obdobia v roku 1989/1990. Osem pokusných dojníc bolo v polovici siedmeho mesiaca gravidity ošetrované prípravkom Zindep inj. *ad usum vet.* (Biotika) do svaloviny krku v dávke 3 mg Zn · kg⁻¹ živej hmotnosti.

Krv od všetkých dojníc sme odobrali z *v. jugularis* pred aplikáciou prípravku, na 2., 5., 8., 15., 30. a 60. deň po podaní.

Koncentráciu Zn v krvnom sére všetkých dojníc sme zisťovali metódou atómovej absorpčnej spektrofotometrie za použitia plameňovej techniky na prístroji Perkin Elmer 1100, ktorú uvádza Bíreš (1986).

Stanovenie T-lymfocytov (T-Ly) sme vykonali u piatich pokusných a piatich kontrolných dojníc rozetovým testom podľa Paula a i. (1977). Tepelne inaktivované a baranými erytrocytmi (BE) vysytené bovinne fetálne sérum (BFS) sme pridali k rozetujúcemu RPMI-1640. Stabilizované BE po premytí vo fyziologicko-fosfátovom pufrí o pH — 7,2 (PBS) sme opracovali s 0,140 M roztokom 2-aminoethylisothiuronium bromidom (AET). Po inkubácii BE a ich následnom premytí v rozetujúcom médiu sme upravili ich koncentráciu na 1 %. Izolované Ly sme resuspendovali v RPMI-1640 na koncentráciu 10⁷ buniek v 1 ml. K 100 µl Ly sme pridali 200 µl 1% suspenzie AET opracovaných v BE do kónických 1 ml centrifugačných skúmaviek. Po 10 minútach inkubácie a odcentrifugovaní pri 1000 ot. min⁻¹ sme skúmavky uložili do chladničky na 12 h pri teplote 4 °C. Po inkubácii sme bunky resuspendovali v 0,5% trypanovej modrej. Kvapka suspenzie bola umiestnená do Bürkerovej komôrky a počítali sme 200 buniek. Lymfocy-

ty s trom a viacerými adherovanými erytrocytmi sme považovali za rozetujúce. Každú vzorku sme počítali dvakrát a výsledok bol vypočítaný podľa vzorca:

$$\% \text{ rozet T-Ly} = \frac{\text{rozet} \times 100}{\text{Ly}}$$

Stanovenie aktivity beta-lyzínu sme robili spektrofotometricky, metódou podľa Bucharina a i. (1987). Beta lytickú aktivitu krvného séra sme posúdili po zmene optickej hustoty mäsopeptónového bujónu (MPB) pri dodaní štandardného množstva mikrobiálnej zmesi *Bacillus subtilis* spolu so skúšaným materiálom, resp. bez neho. Do dvoch skúmaviek s obsahom MPB sme pridali dobre dispergovanú mikrobiálnu zmes nariadenú na 100 000 buniek na 1 ml a 0,2 ml skúšaného séra. Ako kontrola slúžili dve analogické skúmavky bez séra. Obsah paralelného páru skúmaviek (kontrola a pokus) sme merali na spektrofotometri pri vlnovej dĺžke 520 nm v deň vykonania pokusu. Obsah druhého páru skúmaviek sme posudzovali po 18 h inkubácii v termostate pri 37 °C. Výslednú hodnotu v % sme stanovili podľa nasledujúceho vzorca:

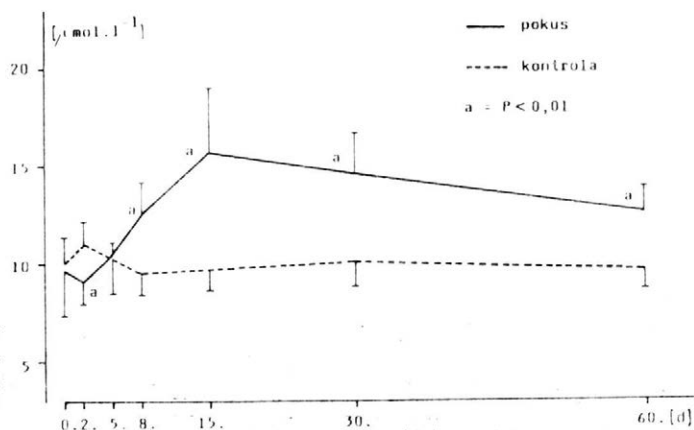
$$100 - \frac{\text{optická hustota vzorky po 18 h} - \text{počiatočná hustota vzorky}}{\text{optická hustota kontroly po 18 h} - \text{počiatočná hustota kontroly}} \times 100$$

Získané výsledky analýz sme spracovali metódou stredných hodnôt a smerodajnej odchýlky. Porovnanie výsledkov sme medzi pokusnou a kontrolnou skupinou robili Studentovým *t*-testom.

Kŕmenie a ošetrovanie pokusných a kontrolných dojníc bolo rovnaké. Kŕmna dávka pozostávala z ďatelino-lucernového sena, kukuričnej siláže a prídavku jadra.

VÝSLEDKY A DISKUSIA

Kinetiku zinku v krvnom sére dojníc uvádzame na obr. 1. Východiskové hodnoty zinku boli u pokusných kráv $9,68 \pm 2,30 \mu\text{mol} \cdot \text{l}^{-1}$ a u kontrolných $10,15 \pm 1,27 \mu\text{mol} \cdot \text{l}^{-1}$. Zinkémia experimentálnych dojníc bola na 2. deň po aplikácii Zindepu v porovnaní kontrolnou skupinou preukázane nižšia ($P < 0,01$). Signifikantné zvýšenie hladín zinku v krvnom sére



1. Koncentrácia zinku v krvnom sére dojníc — Zinc concentrations in the blood serum of dairy cows

experimentálnych zvierat sme oproti kontrolným pozorovali od 8. do 60. dňa ($P < 0,01$). Maximálna zinkémia bola u pokusných dojníc medzi 15. a 30. dňom ($15,65 \pm 3,33$ resp. $14,55 \pm 2,10 \mu\text{mol} \cdot \text{l}^{-1}$). Rozptyl priemer-
ných hodnôt zinku sa u kontrolných zvierat pohyboval v priebehu pozoro-
vania na dolnej hranici referenčných hodnôt ($9,50\text{--}11,13 \mu\text{mol} \cdot \text{l}^{-1}$).

Sledovania potvrdili, že prípravok Zindep je dobre tolerovaný aj dojnicami v 7. mesiaci gravidity. V porovnaní s našimi predchádzajúcimi resorpčnými pokusmi (Bíreš a i., 1987, 1990) sa tiež ukázalo, že injekčná aplikácia zinku je vysoko účinná u gravidných zvierat, kedy sú i najvyššie požiadavky matky a vyvíjajúceho sa plodu na zinok. V poslednom trimestri gravidity sa zvyšuje kumulácia zinku vo vyvíjajúcom sa plode v porovnaní s prvou tretinou gravidity o 13krát (Masters a Moir, 1983; Bíreš, 1988). V období pred pôrodom si organizmus matky vytvára telové zásoby zinku aj pre budúcu laktáciu (Schwarz a Kirchgessner, 1975; Bíreš, 1986; Kreuzer a Kirchgessner, 1990).

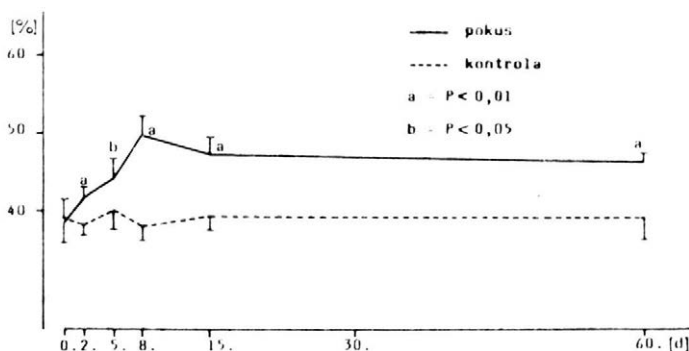
Na základe dosiahnutých preukazných rozdielov v zinkémii dojníc medzi pokusnou a kontrolnou skupinou sa zdá byť podanie Zindepu efektívne pre krytie zvýšených potrieb zinku v poslednom trimestri gravidity. Tieto výsledky tiež potvrdzujú efektívnosť injekčnej aplikácie zinku v prevencii karencie u gravidných zvierat.

Aktivitu T-Ly zaznamenávame na obr. 2. Východisková hodnota T-Ly bola u pokusných dojníc $38,45 \pm 2,49 \%$ a u kontrolných $39,32 \pm 2,08 \%$. Štatistické zvýšenie T-Ly u experimentálnych zvierat sme oproti kontrole zistili na 2. deň po podaní Zindepu ($P < 0,01$). Percento T-rozetujúcich Ly sa ďalej zvyšovalo u pokusnej skupiny aj na 5. deň. Maximálne hodnoty T-Ly sme u pokusných zvierat evidovali na 8. a 15. deň ($48,96 \pm 2,38$ resp. $47,74 \pm 2,02 \%$). Signifikantne vyššie percentuálne zastúpenie T-Ly sme u experimentálnych dojníc v porovnaní s kontrolnými pozorovali medzi 2. a 60. dňom ($P < 0,01$ resp. $P < 0,05$). Dynamika T-rozetujúcich Ly mala u kontrolných dojníc počas celého sledovania stabilný priebeh (rozptyl hodnôt činil $38,34 \pm 1,76$ až $40,12 \pm 2,41 \%$).

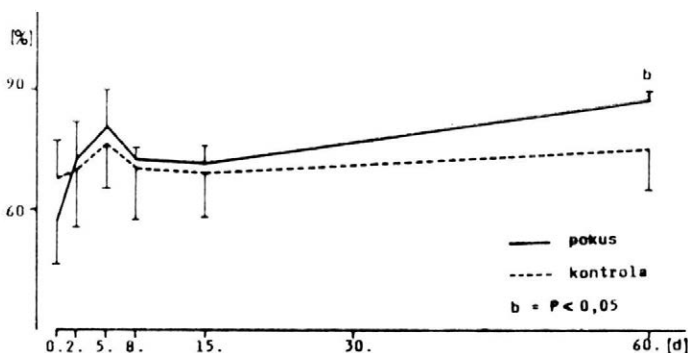
Zinok tým, že je dôležitý pri diferenciácii, maturácii a aktivite T-Ly, sa v značnej miere podieľa na zvyšovaní obranyschopnosti organizmu (Mathé a i., 1986). Injekčná aplikácia zinku v sledovanom experimente zvýšila u gravidných dojníc na 2. deň po podaní aktivitu T-Ly vyjadrenú percentom T-rozetujúcich Ly. Najvyššie percento T-Ly sme zaznamenali u pokusných dojníc v období, kedy v krvnom sére sa po aplikácii Zindepu preukazne zvýšila koncentrácia zinku. Štatisticky vyššie percento T-rozetujúcich Ly sme u experimentálnych kráv oproti kontrolným pozorovali od 2. dňa ($P < 0,01$), ale rozdiely v zinkémii na hladine významnosti $P < 0,01$ v prospech pokusnej skupiny až na 8. deň. Uvedený vzťah si vysvetľujeme priamou distribúciou zinku z miesta aplikácie do lymfoidného tkaniva skôr, ako sa to prejavilo na zvýšení jeho hladín v krvnom sére pokusných kráv. Pozitívny vplyv orálnej aplikácie zinku na populáciu T-Ly potvrdili vo svojich pokusoch Fraker a i. (1984), Ruiz a i. (1988), Bises a i. (1987). Štatisticky nižšie percento T-rozetujúcich Ly u kontrolných dojníc súviselo s okrajovou hypozinkémiou (Lamand, 1984; Bíreš, 1986), ktorú sme zaznamenali u všetkých kontrolných kráv v priebehu celého pozorovania.

Hodnoty beta-lyzínu u dojnic uvádzame na obr. 3. Aktivita beta-lyzínu bola v krvnom sére pred podaním Zindepu u pokusných dojnic $57,14 \pm 10,98 \%$ a kontrolných $67,7 \pm 9,31 \%$. Vzostup aktivity beta-lyzínu sme oproti východiskovým hodnotám pozorovali u obidvoch sledovaných skupín už na 2. deň. Aj v ďalšom období sledovania mala aktivita beta-lyzínu u pokusných a kontrolných dojnic rovnaký priebeh. Najvyššiu hodnotu beta-lyzínu sme u pokusnej skupiny zistili na 60. deň ($87,84 \pm 2,70 \%$) a u kontrolnej na 5. deň experimentu ($76,52 \pm 11,31 \%$). Štatisticky významné rozdiely v aktivite beta-lyzínu sme medzi pokusnými a kontrolnými zvieratmi potvrdili na 60. deň ($P < 0,05$).

Beta-lyzín predstavuje jeden z dôležitých baktericídnych systémov krvného séra, ktorého podstatou účinku je zmena priepustnosti membrán citlivých buniek a blokáda ich kyslíkového metabolizmu (N o u z a a J o h n, 1971; R o i t t, 1981). Beta-lyzín tvorí bielkovina o molekulárnej hmotnosti 5500—6000 daltonov. Z dosiahnutých výsledkov vyplýva, že kinetika aktivity beta-lyzínu v krvnom sére pokusných a kontrolných dojnic bola počas experimentu rovnaká. Percentuálne zvýšenie beta-lyzínu u experimentálnych dojnic zodpovedalo nárastu koncentrácie zinku v krvnom sére. Zvýšené hodnoty beta-lyzínu u experimentálnych zvierat sa však v závislosti na aplikácii Zindepu prejavili štatisticky významne oproti kontrolnej skupine len na 60. deň ($P < 0,05$). Tieto výsledky sú v súlade



2. Hodnoty T-lymfocytov
— The values of T-lymphocytes



3. Hodnota beta-lyzínu —
The value of beta-lysine

s údajmi autorov Fraker a i. (1984), Kurral a i. (1989), Kruse - Jarres (1989), ktorí nepotvrdili jednoznačný vplyv orálnej suplementácie zinku na protilátkami sprostredkovanú odpoveď.

Zo získaných výsledkov je zrejmý pozitívny vplyv aplikácie zinku v prípravku Zindep inj. na zinkémiu gravidných dojníc. Injekčné podanie zinku zvýšilo u pokusných dojníc bunkami sprostredkovanú odpoveď, ktorú sme posúdili na základe T-rozetujúcich Ly. Vplyv aplikácie Zindepu na aktivitu beta-lyzínu nebol v krvnom sére experimentálnych zvierat jednoznačný.

Literatúra

- APGAR, J. — FITZGERALD, A.: Effect on the ewe and lamb of low zinc intake throughout pregnancy. *J. anim. Sci.*, 60, 1985, s. 1530—1538.
- BÍREŠ, J.: Riešenie deficiencie zinku pri prežúvavcoch a ošipáných injekčným prípravkom. [Kandidátska dizertácia.] Košice 1986, s. 165. — Vysoká škola veterinárska.
- BÍREŠ, J.: Vplyv injekčného prípravku na báze zinku na produkciu jahniat. *Živoč. Výr.*, 33, 1988, s. 857—862.
- BÍREŠ, J. — KRÁL, L. — BUČKO, M. — VRZGULA, L. — BEŇUŠKA, N.: Resorpčné pokusy s kovovým zinkom pri parenterálnom podaní u teliat. *Biol. chem. Veter.* (Praha), 23, 1987, s. 81—88.
- BÍREŠ, J. — VRZGULA, L. — KOLODZIESKY, L. — ZÁRIK, V. — BEŇUŠKA, N.: Ovplyvnenie parakratózných zmien na koži teliat po injekčnej aplikácii zinkového prípravku. *Veterinárství* 40, 1990, s. 109—110.
- BÍREŠ, J. — VRZGULA, L.: Zinok ako imunomodulátor u prežúvavcov a ošipáných. *Veterinárství*, 38, 1988, s. 62—64.
- BISES, G. — MENGHERI, E. — GAETANI, S.: T-lymfocyte subsets in zinc deficient and in protein malnourished rats. *Nutr. Resp. Inter.*, 36, 1987, s. 1371—1378.
- BOGDEN, J. D. — OLESKE, J. M. — LAVENHAR, M. A. a kol.: Zinc and immunocompetence in elderly people: effects of zinc supplementation for 3 months. *Amer. J. clin. Nutr.*, 48, 1988, s. 655—663.
- BUCHARIN, O. V. — LUDA, A. P. — BIGEJEVA, R. I.: Immunologičeskije metody issledovania v životnovodstve. Metodičeskije rekomendacii. Južnoe otdelenie Naučno-issledovateľskij institut zemledelija i životnovodstva zapadnyh rajonov USSR. *Evov*, 1987, s. 7—9.
- CARLOMAGNO, M. A. — McMURRAY, N. D.: Chronic zinc deficiency in rats: its influence on some parameters of humoral and cell-mediated immunity. *Nutr. Res.*, 3, 1983, s. 69—78.
- CSERMEY, P. — SOMOGYI, J.: Zinc as a possible mediator of signal transduction in T lymphocytes. *Acta physiol. hung.*, 74, 1989, s. 195—199.
- FAIRWEATHER-TAIT, S. J. — WRIGHT, A. J. A. — COOKE, J. — FRANKLIN, J.: Studies of zinc metabolism in pregnant and lactating rats. *Brit. J. Nutr.*, 54, 1985, s. 401—413.
- FRAKER, P. J. — GERSHWIN, M. E. — GOOD, R. A. — PRASAD, A.: Interrelationships between zinc and immune function. *Fed. Proc.* (Fed. Amer. Soc. exp. Biol.), 45, 1986, s. 1474—1479.
- FRAKER, P. J. — HILDEBRANDT, K. — LUECKE, R. W.: Alteration of antibody-mediated responses of suckling mice T-cell-dependent and independent antigens by maternal marginal zinc deficiency: restoration of responsivity by nutritional repletion. *J. Nutr.*, 114, 1984, s. 170—179.
- FRAKER, P. J. — JARDIEU, P. — WIRTH, J.: The immunopathobiological consequences of zinc deficiency. *Nutritional Diseases: Research Directions in Comparative Pathobiology*, Alan R. Liss, Inc., 1986, s. 197—213.
- GABLIKS, J. — NAUSS, K. — NEWBERNE, P.: Increased severity of influenza a virus infection in zinc — deficient mice. *Nutr. Rep. Int.*, 31, 1985, s. 911—917.
- HANSARD, S. L. — MOHAMED, A. S. — TURNER, J. W.: Gestation age effects upon maternal-fetal zinc utilization in the bovine. *J. anim. Sci.*, 27, 1968, s. 1097—1102.
- HIDIROGLOU, M.: Trace elements in the fetal and neonate ruminant: a review. *Can. veter. J.*, 21, 1980, s. 328—335.
- CHANDRA, R. K. — PURI, S.: Trace element modulation of immune responses and susceptibility to infection. In: CHANDRA, R. K. (ed.): *Trace elements in nutrition of children*. Nestle Nutrition, Vevey, Raven Press, New York, 1985, s. 87—105.

- KREUZER, M. — KIRCHGESSNER, M.: Zn, Fe, Cu and Mn in der Milch von bei unterschiedlicher Rohproteinzufuhr. *J. anim. Physiol. a anim. Nutr.*, 63, 1990, s. 204—209.
- KRUSE-JARRES, J. D.: The significance of zinc for humoral and cellular immunity. *J. Trace Elem. Electrolytes Health Dis.*, 3, 1989, s. 1—8.
- KURRAL, H. W. — KIRCHGESSNER, M. — ROTH, H. P.: Zur humoralen Immunität der Räte bei Zinkmangel. *J. anim. Physiol. a anim. Nutr.*, 61, 1989, s. 75—84.
- LAMAND, M. L.: Zinc deficiency in ruminants. *Ir. veter. J.*, 38, 1984, s. 40—47.
- MASTERS, D. G. — MOIR, R. J.: Effect of zinc deficiency on the pregnant ewe and developing foetus. *Brit. J. Nutr.*, 49, 1983, s. 365—372.
- MATHÉ, G. — MISSET, J. L. — GIL-DELGADO, M. — MUSET, M. — REIZENSTEIN, P. — CANON, C.: A phase II trial immunorestitution with zinc gluconate in immunodepressed cancer patients. *Biomedicine Pharmacotherapy*, 40, 1986, s. 383—385.
- MENGERI, E. — BISES, G. — GAETINI, S.: Differentiated cell-mediated immune response in zinc deficiency and in protein malnutrition. *Nutr. Res.*, 8, 1988, s. 801—812.
- NOUZA, K. — JOHN, C.: *Imunologie a medicína*. Praha, Avicenum 1971, s. 759.
- OLESKA, J. M. — BOGDED, J. D. — GARCIA, R. — CRUZ, A. D. — COOPER, R. — MINNEFOR, A. B.: Plasma zinc and copper in primary and secondary immunodeficiency disorders. *Biol. Trace Element Res.*, 5, 1983, s. 189—194.
- PAUL, S. P. — JOHNSON, W. D. — MIROCHA, J. C. — SOPER, F. F. — THOEN, O. CH. — MUSCOPLAT, C. CH. — WEBER, F. A.: *In vitro* stimulation of bovine peripheral blood lymphocytes: suppression of phytohemagglutinin and specific antigen lymphocyte responses by aflatoxin. *Amer. J. veter. Res.*, 38, 1977, s. 2033—2035.
- POLENIK, P.: Zinek jako imunomodulátor. *Prakt. Lék. (Praha)*, 67, 1987, s. 283—285.
- PRASAD, A. S.: Clinical manifestation of zinc deficiency. *Ann. Rev. Nutr.*, 5, 1985, s. 341—363.
- ROITT, I.: *Základy imunologie*. Martin, Osveta 1981, s. 315.
- RUIZ, D. A. — EXTREMERA, B. G. — GEA, G. F. — RUIZ, M. C.: Serum immunoglobulins and T cell subpopulations in alcoholic cirrhosis after oral zinc therapy. *Gastroenterol. clin. Biol.*, 12, 1988, s. 584.
- SCHWARZ, W. A. — KIRCHGESSNER, M.: Veränderungen des Zinkgehaltes in der Kuhmilch bei unterschiedlicher Zinkversorgung. *Z. Tierphysiol. Tierernähr. Futterm.*, — Kde, 35, 1975, s. 1—8.
- SOUTHON, S. — FAIRWEATHER-TAIT, S. J. — WILLIAMS, CH. M.: Fetal growth, glucose tolerance and plasma insulin concentration in rats given a marginal — zinc diet in the latter stages of pregnancy. *Brit. J. Nutr.*, 59, 1988, s. 315—322.

Došlo dňa 14. 11. 1990

BÍŘEŠ, J. — HARVAN, M. — HUDÁK, P. — MUCHA, L. — JUHÁSOVÁ, Z. (University of Veterinary Medicine, Košice; Institute of Experimental Veterinary Medicine, Košice; State Farm, Košice): *The effects of Zindep inj. preparation on zincaemia, T-lymphocytes and beta-lysine in pregnant dairy cows*. *Veter. Med. (Praha)*, 36, 1991 (11): 641—648.

The effects of zinc administration at a rate of 3 mg/kg lw. in the preparation Zindep inj. *ad usum vet.* (Biotika, Slovenská Ľupča) were evaluated as exerted on zinc concentrations in the blood serum of 16 dairy cows in the middle of the 7th month of pregnancy. With respect to zinc injection, T-rosetted lymphocytes and beta-lysine activity were investigated. Blood was collected from all dairy cows from *v. jugularis* before the preparation was administered, on days 2, 5, 8, 15, 30 and 60 after Zindep administration. Atom absorption spectrophotometry, applying a flame technique on a Perkin Elmer 1100 apparatus (Bířeš, 1986), was used to determine Zn concentrations in the blood serum of all dairy cows. T-lymphocytes were determined by a rosette test after Paul et al. (1977), and beta-lysine was detected spectrophotometrically after Bucharin et al. (1987). Zinc dynamics in the blood serum of dairy cows is presented in Fig. 1. The starting values of zinc in the test cows were $9.68 \pm 2.30 \mu\text{mol/l}$ and in the control ones $10.15 \pm 1.27 \mu\text{mol/l}$. Zincaemia of experimental dairy cows was significantly lower ($P < 0.01$) on day 2 after Zindep administration, in comparison with the control group. A significant increase in zinc concentrations in the blood serum of experimental animals, in comparison with the control ones, was observed from day 8 to day 60 ($P < 0.01$). The maximum zincaemia values were recorded in experimental dairy cows within days 15 and 30 (15.65 ± 3.33 , and/or $14.55 \pm 2.10 \mu\text{mol/l}$). The variance of the average values of zinc concentrations in the control animals ranged within the lower limit of reference values during the observation period ($9.50 - 11.13 \mu\text{mol/l}$). The T-Ly activity is presented in Fig. 2. The starting value of T-Ly made $38.45 \pm 2.49 \%$ in experimental dairy cows and $39.32 \pm 2.08 \%$ in control ones.

A statistically significant increase in T-Ly in experimental animals, if compared with the control, was observed on day 2 after Zindep administration ($P < 0.01$). The percentage of T-rosetted Ly also increased on day 5 in the experimental group. The maximum values of T-Ly were recorded on days 8 and 15 in experimental animals (49.96 ± 2.38 and 47.74 ± 2.02 %, resp.). A significantly higher percentage of T-Ly was recorded within days 2 and 60 in experimental cows if compared with the control ones ($P < 0.01$, and/or $P < 0.05$). The dynamics of T-rosetted Ly was steady in the control dairy cows during the observation period (the variance of the values made 38.34 ± 1.76 to 40.12 ± 2.41 %). The values of beta-lysine in dairy cows are presented in Fig. 3. The activity of beta-lysine in the blood serum before Zindep administration was 57.14 ± 10.98 % in experimental dairy cows and 67.7 ± 9.31 % in the control ones. In comparison with the starting values, an increase in the beta-lysine activity was observed as soon as on day 2 in the two studied groups. In the following period the activity of beta-lysine also had the same pattern in the experimental and control dairy cows. The highest value of beta-lysine was recorded on day 60 in the experimental group (87.84 ± 2.70 %) and on day 5 of experiment in the control (76.52 ± 11.31 %). Statistically significant differences in the beta-lysine activity between the experimental and control animals were confirmed on day 60 ($P < 0.05$). The above-mentioned results demonstrate positive effects of zinc administration in form of the Zindep inj. preparation on zincaemia levels in pregnant dairy cows. The zinc injections increased cell-mediated responses in the experimental animals that were evaluated by means of T-rosetted Ly. The effects of Zindep administration on the beta-lysine activity were not so clear in the blood serum of the experimental animals.

dairy cows; Zindep inj.; zincaemia; T-lymphocytes; beta-lysine

Adresy autorov:

Doc. MVDr. Jozef Bíreš, CSc., Vysoká škola veterinárska, Komenského 73, 041 81 Košice
MVDr. Milan Harvan, MVDr. Peter Hudák, RNDr. Zuzana Juhásová, Ústav
experimentálnej veterinárnej medicíny, Duklianských hrdinov 1, 040 01 Košice
MVDr. Ladislav Mucha, Štátny majetok Košice, farma Haniska, 044 57 Haniska

ESTRADIOL, PROGESTERÓN A CYKLICKÉ NUKLEOTIDY V TEKUTINE FOLIKULOV PERZISTUJÚCICH A Z LUTEÁLNEJ FÁZY POHLAVNÉHO CYKLU KRÁV

L. Lazár, J. Hajurka

LAZÁR, L. — HAJURKA, J. (Ústav experimentálnej veterinárnej medicíny, Košice): *Estradiol, progesterón a cyklické nukleotidy v tekutine folikulov perzistujúcich a z luteálnej fázy pohlavného cyklu kráv*. Veter. Med. (Praha), 36, 1991 (11): 649—655.

Porovnávali sa koncentrácie 17 beta-estradiolu (E_2), progesterónu (P_4), cyklického adenosínmonofosfátu (cAMP) a cyklického guanosínmonofosfátu (cGMP) v najväčších folikuloch kráv perzistujúcich 7 dní od inseminácie po predchádzajúcej synchronizácii ruje (Oestrophan, Spofa) a superovulácii (Sérový gonadotropín, Blovet, Ivanovice na Hané) a folikuloch z luteálnej fázy cyklu medzi 5.—10. dňom. Porovnanie sa robilo v progesterón dominantných folikuloch (PD), pretože všetky perzistujúce folikuly boli PD. Priemerné koncentrácie E_2 boli v perzistujúcich folikuloch nižšie ($9,5 \pm 5,47 \text{ nmol.l}^{-1}$) ako vo folikuloch z luteálnej fázy cyklu ($48,3 \pm 22,2 \text{ nmol.l}^{-1}$). Priemerné koncentrácie P_4 boli naopak významne vyššie ($P < 0,05$) v perzistujúcich folikuloch ($4751,8 \pm 113,4 \text{ nmol.l}^{-1}$) ako v PD folikuloch z 5.—10. dňa luteálnej fázy cyklu ($1189,0 \pm 488,2 \text{ nmol.l}^{-1}$). Priemerné koncentrácie cAMP v PD folikuloch luteálnej fázy cyklu boli významne vyššie ($35,4 \pm 8,9 \text{ nmol.l}^{-1}$) ako v perzistujúcich folikuloch ($4,9 \pm 1,2 \text{ nmol.l}^{-1}$) pri $P < 0,05$. Koncentrácie cGMP sa medzi sledovanými skupinami folikulov výrazne nelíšili ($3,8 \pm 0,3 \text{ nmol.l}^{-1}$, resp. $4,0 \pm 0,3 \text{ nmol.l}^{-1}$). Z uvedených výsledkov vyplýva, že pri perzistujúcich folikuloch dochádza okrem zníženia produkcie cAMP aj k výraznej luteinizácii pravdepodobne v dôsledku dlhého polčasu rozpadu PMSG, čo negatívne vplyva na rast a kvalitu folikulov.

17 beta-estradiol; progesterón; cAMP; sérový gonadotropín; perzistujúce folikuly

V priebehu pohlavného cyklu väčšina z vlny rastúcich folikulov atretizuje a len malá časť pretrvá a ovuluje. Či sa príslušný folikul stane atretickým, alebo nie, závisí okrem iných vplyvov od citlivosti folikulu na gonadotropíny, čo je dané stavom a počtom receptorov pre gonadotropíny, ako aj na množstvo gonadotropínov produkovaných hypofýzou.

Prostredníctvom adenylátcyklázového systému a cAMP ako druhého posla (K o l e n a a C h a n n i n g, 1972; M a r s c h, 1975) aktivizáciou bunkových enzýmov steroidogenézy, gonadotropíny regulujú rast, zrenie folikulov a syntézu steroidov folikulárnymi bunkami (E r i c k s o n, 1986). Zmeny, ktoré nastávajú pri produkcii steroidov folikulmi, vyjadrujú kapacitu syntetizovať steroidy (B y s k o v a i., 1979) a sú zároveň indikátorom morfológických a funkčných zmien folikulov (B r a i l l y a i., 1981; L a z á r, 1987). Zmena estrogénnej dominance predovulačných

folikulov po LH vrchole (Dieleman, 1984) má veľký význam pri zrení oocytov, ako aj ďalší vývoj a hladký priebeh ovulácie daných folikulov (McGaughery, 1977). Odchýlky od fyziologických zmien pri pôsobení gonadotropínov na steroidogézu a vývoj predovulačných folikulov môže negatívne vplyvať ako na plnohodnotnosť produkovaných oocytov (Kruip a i., 1983), tak aj ovuláciu folikulov (Yadava i., 1986).

Použitie PMSG pri superovulačnom ošetrení zdá sa, má negatívny vplyv na rast a vývoj folikulov a následne aj oocytov v závislosti od kvality prípravku ako aj individuálnej rozdielnosti reakcie zvierat. Pri superovulačnom použití PMSG až pri 33 % oocytov dochádza k predčasnej aktivizácii zrenia oocytov spojených s ich abnormálnou proteínovou syntézou (Moore a i., 1984, 1985). Podobne sa zistil veľký výskyt pretrvávajúcich neovulovaných folikulov po superovulačnom ošetrení s týmto prípravkom (Yadava i., 1986).

Cieľom práce bolo porovnať koncentrácie 17 beta-estradiolu, progesterónu, cyklického adenosínmonofosfátu a cyklického guanosínmonofosfátu v najväčších folikuloch kráv perzistujúcich 7 dní od inseminácie po predchádzajúcej synchronizácii ruje a superovulácii folikulov v luteálnej fáze cyklu (5.—10. deň).

MATERIÁL A METÓDY

Pokusné zvieratá, určené k vyradeniu z chovu, boli do pokusu zaradené na základe rektálneho nálezu. Pri 24 ks križieniek SS × NC s aktívnym žltým telieskom bola prevedená synchronizácia ruje aplikovaním dvoch dávok cloprostenolu čs. proveniencie Oestrophan Spofa v rozpätí 11 dní 500 µg v jednej dávke. 48 h pred druhou dávkou PGF₂ alfa sa podalo 2500 m. j. sérového gonadotropínu (Bioveta, Ivanovice na Hané). Po 72 h od podania druhej dávky cloprostenolu sa pokusné zvieratá inseminovali. Na 7. deň od pripustenia sa kravy odporazili na bitúnku pre kontrolný výplach oplodnených vajčiek a odber vaječníkov. Na posúdenie sa použili len vaječníky od 14 kráv, u ktorých sa nachádzali perzistujúce veľké folikuly.

Vaječníky od 13 kontrolných kráv v luteálnej fáze v čase medzi 5.—10. dňom sa získali na bitúnku podľa metódy autorov Ireland a i. (1980). Správnosť určenia fázy pohlavného cyklu sa podložila stanovením koncentrácie progesterónu v krvnom sére ($14,11 \pm 2,04$ nmol.l⁻¹).

Vaječníky sa získali do 30 min od zabitia zvierat. Získané vaječníky sa uložili do ľadového fyziologického roztoku až do spracovania. Folikulárna tekutina sa aspirovala z najväčších folikulov a centrifugovala v chladenej centrifúge pri otáčkach 3000 G. Supernatant sa uložil do mrazničky pri teplote -18 °C až do doby spracovania.

K stanoveniu 17 beta-estradiolu a progesterónu vo folikulárnej tekutine sa použili súbavy z ÚRVJT Košice pod typovým označením RIA-test-ESTRA (SI-125-9) resp. RIA-test-Prog (SI-125-6). Folikulárna tekutina bola riadená 1,5% hovädzím gamaglobulínom. Intra- a interassay koeficient variácií použitej metódy spracovania 17 beta-estradiol RIA súpravy bol 10,1 a 13,3 %, pre progesterón RIA-súpravy 11,4 a 13,7 %.

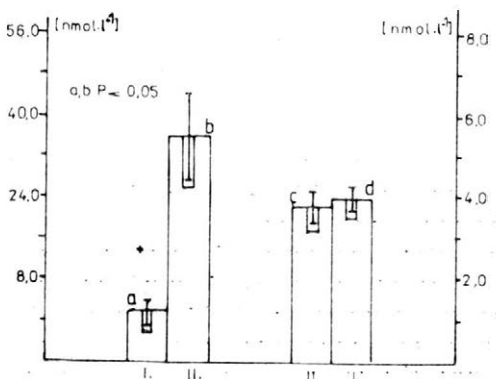
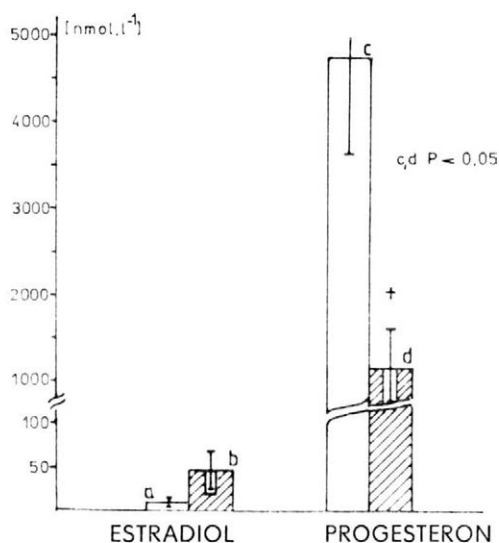
Koncentrácie cyklických nukleotidov sa stanovili RIA súpravami z ÚVVVR (Praha). Koeficient variácií intra- a interassay zvolenej metódy s použitými súpravami pre cAMP typového označenia cAMP ¹²⁵J RIA kit (RIO12) boli 9,1 a 11,4 %. Koeficient variácií pre súpravy cGMP ¹²⁵J RIA (RIO42) bol 9,8 a 11,6 %. Na určenie steroidnej dominance folikulov sa použila metóda autorov Callesen a i. (1986) založená na vyjadrení vzájomného indexu pomeru 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—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). Samotné štatistické analýzy sa robili na mikropočítači ZX Spectrum štatistickým programom Stat 87. Výsledky sú uvádzané v nmol.l⁻¹ ± SEM.

VÝSLEDKY

Porovnanie koncentrácií estradiolu a progesterónu sa robilo vo folikulárnej tekutine perzistujúcich folikulov a folikulov približne rovnakého časového obdobia luteálnej fázy fyziologického pohlavného cyklu (5.—10. deň). Zistilo sa, že priemerné koncentrácie 17 beta-estradiolu v luteálnej fáze fyziologického pohlavného cyklu medzi 5.—10. dňom sú v progesterón dominantných veľkých folikuloch vyššie ako v perzistujúcich folikuloch $48,3 \pm 22,2 \text{ nmol.l}^{-1}$ oproti $9,15 \pm 5,47 \text{ nmol.l}^{-1}$. Priemerné koncentrácie progesterónu vo folikulárnej tekutine boli signifikantne vyššie v perzistujúcich folikuloch $4751,8 \pm 1134,4 \text{ nmol.l}^{-1}$ ako v populácii veľkých progesterón dominantných folikulov z 5.—10. dňa fyziologického pohlavného cyklu $1189,0 \pm 488,2 \text{ nmol.l}^{-1}$ pri $P < 0,05$ (obr. 1). Priemer-

1. Porovnanie priemerných koncentrácií 17 beta-estradiolu (E_2) a progesterónu (P_4) vo folikulárnej tekutine folikulov pretrvávajúcich 7 dní po inseminácii a z prvej polovice luteálnej fázy fyziologického pohlavného cyklu; □ perzistujúce folikuly 7 dní po inseminácii, /// prvá polovica luteálnej fázy fyziologického cyklu — Comparison of the average concentrations of 17 beta-estradiol (E_2) and progesterone (P_4) in the follicular fluid of persistent follicles seven days after insemination and from the first part of the luteal phase of physiological sexual cycle; □ persistent follicles seven days after insemination; /// first part of the luteal phase of physiological cycle



2. Priemerné koncentrácie cAMP a cGMP vo folikulárnej tekutine kráv perzistujúcich folikulov 7 dní od inseminácie po superovulácii s PMSG v porovnaní s koncentraciami v progesterón dominantných folikulov z prvej polovice luteálnej fázy (1. až 10. deň) pohlavného cyklu; I. — folikuly zo 7. dňa po inseminácii, II. — folikuly z prvej polovice luteálnej fázy pohlavného cyklu — Average cAMP and cGMP concentrations in the follicular fluid of persistent follicles seven days after insemination following PMSG superovulation, in comparison with the concentrations in progesterone-dominant follicles from the first part of the luteal phase (days 1 to 10) of sexual cycle; I. — follicles from day 7 after insemination; II. — follicles from the first part of the luteal phase of sexual cycle

né koncentrácie cAMP v progesterón dominantných folikuloch v luteálnej fáze fyziologického pohlavného cyklu ($35,4 \pm 8,9 \text{ nmol} \cdot \text{l}^{-1}$) boli vyššie ako v perzistujúcich folikuloch $4,9 \pm 1,2 \text{ nmol} \cdot \text{l}^{-1}$ signifikantne pri $P < 0,05$. Koncentrácie cGMP sa medzi oboma skupinami nelíšili. V luteálnej fáze cyklu 5.—10. deň boli priemerné koncentrácie $3,8 \pm 0,37 \text{ nmol} \cdot \text{l}^{-1}$ v perzistujúcich folikuloch $4,0 \pm 0,3 \text{ nmol} \cdot \text{l}^{-1}$ (obr. 2).

DISKUSIA

Nízke koncentrácie estradiolu a naopak vysoké koncentrácie progesterónu vo folikulárnej tekutine boli nami zistené v sledovanej populácii perzistujúcich folikulov na vaječníkoch 7 dní po inseminácii. Vo všetkých prípadoch boli folikuly progesterón dominantné. Práce autorov Ireland a Roche (1982, 1983) poukazujú na to, že antrálne atretické folikuly ne strácajú aspoň zo začiatku svoju schopnosť produkovať progesterón alebo androgény, hoci kapacita folikulárnych buniek viazať LH ako aj počet buniek granulózy je znížená.

Podobne ako po predovulačnom vrchole LH aj pri atrézii dochádza k strate schopnosti folikulov syntetizovať testosterón, estradiol a naopak dochádza k dočasnému zvýšeniu progesterónu.

Za príčinu tohto javu sa považujú niektoré faktory ako necitlivosť receptorového systému folikulov na LH, strate aromatizujúcej schopnosti folikulu, ako aj desenzitizácia a afunkčnosť adenylátcyklázového systému folikulu, v dôsledku čoho dochádza k zmenám v produkcii steroidov a následným morfológickým zmenám folikulov. Zmeny v citlivosti adenylátcyklázového systému a v dôsledku toho zmeny v cAMP akumuláčnej schopnosti folikulu sledovali vo svojich prácach na chrčkoch Hubbard a Greenwald (1983). Z výsledkov prác vyplýva, že atretické folikuly prudko strácajú svoju schopnosť syntetizovať 17 beta-estradiol a testosterón ako aj cAMP, zatiaľ čo produkcia 17 hydroxyprogesterónu a progesterónu klesá pomalšie s postupujúcou atréziou. Bill (1978) zistil nárast koncentrácií progesterónu, zatiaľ čo koncentrácie cAMP sa prudko znížili už za 4 h od vyvolanej atrézie. Vysoké koncentrácie progesterónu vo folikulárnej tekutine po vrchole gonadotropínu sú skôr následkom selektívneho zadržiavania tohto steroidu vo folikulárnej tekutine progesterón viažúcim proteínom (Fleming a McGaughery, 1982) ako zvýšenou produkciou steroidu. Tiež je známe, že hoci koncentrácie progesterónu vo folikulárnej tekutine estrogén dominantného folikulu sa niekoľkonásobne zvýšila, žiadne zmeny v koncentráciách progesterónu v sére neboli pozorované (Ireland a Roche, 1983). Hlavnou príčinou pretrvávania veľkých folikulov na vaječníkoch po ovulácii, resp. folikulárnej fáze ako zistili Yada a i. (1986) je dlhý polčas rozpadu aplikovaného PMSG. Autor tiež na 7. deň po inseminácii superovulovaných kráv pri výplachu embryí previedol ovariektómiu pokusných zvierat a zistil signifikantne viac veľkých neovulovaných folikulov ($> 10 \text{ mm}$) na vaječníku kráv z indukovanej superovulácie s PMSG ($8,5 \pm 5,66$) než pri superovulácii s FSH ($0,7 \pm 0,42$), pričom medzi počtom folikulov do 10 mm nezistili žiadne rozdiely. Ako opísali predtým Sreenan a i. (1978) a Mo Niaux a i. (1981) veľké folikuly ($> 10 \text{ mm}$) boli pozorované pri mnohých zvieratách superovulovaných s PMSG v čase 7 dní po inseminácii. Superovulácia indukuje asynchrónnosť medzi kravami v začiatku preovulačného LH vrcholu, pretože estradiol je nevyhnutný pri

zahájení preovulačného LH vrcholu (Scaramuzzi a i., 1971). Pri superovulovaných kravách s PMSG maximálne koncentrácie estradiolu sa dosahujú už 36—56 h po aplikácii prostaglandínu F₂ alfa. Táto raná produkcia estradiolu pravdepodobne indukuje LH vrchol u týchto zvierat skôr. U zvierat ošetrovaných s FSH a kontrolných dochádza k pomalšiemu uvoľneniu koncentrácií estradiolu a tým aj pozdejšiemu výskytu LH vrcholu (Yadav a i., 1986). Po LH vrchole koncentrácie progesterónu začínajú sa zvyšovať skôr (44 h) u zvierat PMSG skupiny ako v skupine ošetrovaných s FSH (76 h) alebo v skupine kontrolnej (99 h) (Yadav a i., 1986). To má u kráv po ošetrovaní s PMSG za následok skorší nástup ovulácie v dôsledku rýchleho zvýšenia koncentrácií progesterónu vo folikuloch po LH vrchole. Po ošetrovaní zvierat so sérovým gonadotropínom dochádza pri nich často k neúplnému zreniu folikulov a v dôsledku toho k zlyhaniu ovulácie. Ako zistili Yadav a i. (1986) koncentrácie progesterónu sú v dôsledku prítomnosti perzistujúcich folikulov v čase včasnej luteálnej fázy (10. deň) pohlavného cyklu 7—32krát vyššie ako u kráv s fyziologickým pohlavným cyklom. Pre porovnanie koncentrácie progesterónu vo folikulárnej tekutine perzistujúcich folikulov oproti folikulom prítomným v čase ranej luteálnej fázy, ktoré sme odsledovali, boli 4—6krát vyššie.

Vyššie priemerné koncentrácie progesterónu vo folikulárnej tekutine kráv a nízke koncentrácie cAMP nami ošetrovaných zvierat sérovým gonadotropínom oproti folikulom získaných v čase fyziologického pohlavného cyklu poukazujú na predčasnú luteinizáciu folikulov, pravdepodobne v dôsledku dlhého polčasu rozpadu sérového gonadotropínu (Yadav a i., 1986), čo negatívne vplýva na rast a vývoj folikulov.

Literatúra

- BILL, C. H.: Follicular atresia in the hamster ovary: An endocrinological and morphological study. In: HUBBARD, C. J. — GREENWALD, G. S.: *In vitro* effects of follicles in the hamster. Biol. Reprod., 28, 1983, s. 849—859.
- 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 monovulatory 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*. New York, Raven Press 1979, s. 41—67.
- CALLESEN, H. — GREVE, T. — HYTTEL, F.: Preovulatory endocrinology and oocyte maturation in superovulated cattle. Theriogenology, 25, 1986, s. 71—86.
- DIELEMAN, 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. *Seminars in Reprod. Endocrinol.*, 4, 1986, s. 233—253.
- FLEMING, A. D. — MCGAUGHER, E. W.: A progesterone binding component in porcine ovarian follicular fluid. J. Endocrinol., 94, 1982, s. 69—76.
- HUBBARD, C. J. — GREENWALD, G. S.: *In vitro* effects of luteinizing hormone on induced atretic graafian follicles in the hamster. Biol. Reprod., 28, 1983, s. 849—859.
- 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 repression of individual ovulatory and monovulatory follicles cattle following prostaglandin induced luteolysis. Changes in steroids in follicular fluid and gonadotrophins receptor. Endocrinology, 111, 1982, s. 2077—2083.
- IRELAND, J. J. — ROCHE, J. F.: Development of nonovulatory antral follicle in heifers: Changes in steroids in follicular fluid and receptors for gonadotrophins. Endocrinology, 112, 1983, s. 150—157.

- KOLENA, J. — CHANNING, C. P.: Stimulatory effect of LH, FSH and prostaglandin upon cyclic 3,5-AMP levels in porcine granulosa cells. *Endocrinology*, 90, 1972, s. 1543 to 1550.
- KRUIP, T. A. M. — GRAN, D. G. — VANBUNEDEN, T. M. — DIELEMAN, S. J.: Structural changes in bovine oocytes during final maturation *in vivo*. *Gamete Res.*, 8, 1983, s. 39—47.
- LAZÁR, L.: Folikulogénéza kráv z hľadiska niektorých biochemických ukazovateľov. [Kandidátska dizertácia.] Košice 1987, s. 1—156. Ústav experimentálnej veterinárnej medicíny.
- 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.
- MARSCH, J. M.: The role of cAMP in gonadal functional. *Adv. cyclic nucleotide Res.*, 6, 1975, s. 137—199.
- MONIAUX, D. — MARIANA, J. C. — GIBSON, W. R.: Action of PMSG on follicular population in the heifer. *J. Reprod. Fertil.*, 70, 1981, s. 243—253.
- 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. — GROSSBY, I. M.: Gonadotrophin — induced abnormalities in sheep oocytes after superovulation. *J. Reprod. Fertil.*, 74, 1985, s. 167—172.
- SCARAMUZZI, R. J. — TILSON, E. S. — THORNGYCKROFT, I. M. — CALLWELL, B. V.: Action of exogenous progesterone and estrogen on behavioral estrus and luteinizing hormone levels in the ovariectomized ewe. *Endocrinology*, 88, 1971, s. 1184—1192.
- SOKAL, R. R. — ROHLF, F. J.: *Biometry*. The principles and practices of statistics in biological research. San Francisco, Freeman and Co. 1969.
- SREENAN, J. E. — SEEMAN, D. — GOSLING, J. P.: Ovarian response in relation to endocrine status following PMSG stimulation in the cow. In: SREENAN, J. M.: Control of reproduction in the cow. REC, GALWAY, 1978, s. 144—158.
- 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 15. 1. 1991

LAZÁR, L. — HAJURKA, J. (Institute of Experimental Veterinary Medicine, Košice): *Estradiol, progesterone and cyclic nucleotides in the fluid of persistent follicles and follicles from the luteal phase of sexual cycle of cows*. *Veter. Med. (Praha)*, 36, 1991 (11): 649—655.

The objective of the present study was to compare the concentrations of 17 beta-estradiol, progesterone, cyclic adenosine monophosphate and cyclic guanosine monophosphate in the largest follicles of cows that persist for seven days after insemination following the preceding synchronization of oestrus and superovulation and in follicles of the luteal phase of cycle (5th—10th days). Animals included in the experiment were selected on the basis of rectal examination. Synchronization of oestrus was achieved in 24 crossbreds of Slovak Pied × Lowland Black Pied breeds (SS × NČ) using two doses of cloprostenol of Czechoslovak provenience Oestrophon Spofa, 500 µg in each, within 11 days. Serum gonadotrophin at the amount of 2500 I. U. was administered forty-eight hours before administration of the second dose PGF₂ alpha. Experimental animals were inseminated after 72 hours. On the 7th day after mating the cows were killed at a slaughterhouse. Evaluated were only the ovaries of the 14 cows in which the persistent large follicles occurred. Ovaries of the 13 control cows in the luteal phase between the 5th—10th days were obtained at the slaughterhouse by the method after Ireland et al. (1980). Correct determination of the phase of sexual cycle was substantiated by determination of progesterone concentrations in blood serum. Follicular fluid was obtained from the largest follicles by aspiration and centrifuged in a cooled centrifuge at 3000 G. The concentrations of 17 beta-estradiol and progesterone in follicular fluid were determined using kits from ÚRVJT at Košice, designated RIA-test-ESTRA (SI-125-9) or RIA-test-Prog (SI-125-6). Concentrations of cyclic nucleotides were determined by RIA kits from ÚVVVR (Prague), designated cAMP¹²⁵ RIA (RIO12) and cGMP¹²⁵ RIA (RIO42). The method after Callesen et al. (1986), based on expression of the index of progesterone and 17 beta-estradiol ratio, was used to determine steroidal dominance of follicles. Average concentrations of 17 beta-estradiol in the luteal phase of physiological sexual cycle within days 5—10 were higher

in progesterone-dominant follicles ($48.3 \pm 22.2 \text{ nmol.l}^{-1}$), compared to persistent follicles ($9.15 \pm 5.47 \text{ nmol.l}^{-1}$). Average concentrations of progesterone in follicular fluid were significantly higher in persistent follicles ($4751.8 \pm 1134.4 \text{ nmol.l}^{-1}$) than in the population of large, progesterone-dominant follicles from the 5th to the 10th day of physiological sexual cycle ($1189.0 \pm 488.2 \text{ nmol.l}^{-1}$) at the level $P < 0.05$ (Fig. 1). Average concentrations of cAMP in progesterone-dominant follicles in the luteal phase of physiological sexual cycle ($35.4 \pm 8.9 \text{ nmol.l}^{-1}$) were significantly higher than in persistent follicles ($4.9 \pm 1.2 \text{ nmol.l}^{-1}$) at the level $P < 0.05$. There were no differences in cGMP concentrations between both groups (Fig. 2). The higher average concentrations of progesterone in follicular fluid and low concentrations of cAMP in animals subjected to treatment with serum gonadotrophin, in comparison with follicles obtained during the physiological sexual cycle, suggest the premature luteinization of follicles presumably due to the long half-life of serum gonadotrophin (Yadav et al., 1986), which has a negative influence on the growth and development of follicles. Our observations indicate that serum gonadotrophin not only stimulates the growth of follicles but also influences markedly the steroidogenic capability of growing follicles. Deviations of physiological changes in functionality of the adenylate-cyclase system and resulting steroidogenesis of preovulation follicles due to the used gonadotrophin can have a negative effect on the full value of produced oocytes and their ability to ovulate.

17 beta-estradiol; progesterone; cAMP; cGMP; serum gonadotrophin; persistent follicles

Adresa autorov:

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

Upozorňujeme čtenáře a zájemce o odbornou zemědělskou literaturu, že Ústav vědeckotechnických informací pro zemědělství ve spolupráci se zemědělským nakladatelstvím Brázda vydává

NAUČNÝ SLOVNÍK ZEMĚDĚLSKÝ — 13. DÍL (PÍSMENO Z)

Publikace je posledním dílem zemědělské encyklopedie, vyjde v rozsahu asi 700 stran, předpokládaná cena je 175 Kčs.

Objednávky na tuto publikaci vyřizuje Ústav vědeckotechnických informací pro zemědělství, oddělení naučného slovníku a terminologie, Slezská 7, 120 56 Praha 2.

POUŽITÍ ANTIKOKCIDIKA TORTRAZURIL (BAYCOX, BAYER) PŘI KOKCIDIÓZE SAJÍCÍCH SELAT

B. Koudela, M. Vodstrčilová, B. Klimeš, P. Vladík, J. Vítovec

KOUDELA, B. — VODSTRČILOVÁ, M. — KLIMEŠ, B. — VLADÍK, P. — VÍTOVEC, J. [Parazitologický ústav ČSAV, České Budějovice; Okresní veterinární zařízení, Rakovník; Státní veterinární ústav, České Budějovice]: *Použití antikokcidika tortrazuril (Baycox, Bayer) při kokcidióze sajících selat*. Veter. Med. (Praha), 36, 1991 (11): 657—663.

Ve velkochovu prasat jsme na základě klinického průběhu průjmového onemocnění selat, výsledků parazitologického a patologického vyšetření a na základě diferenciální diagnostiky určili jako původce hromadného průjmového onemocnění selat kokcidii *Isospora suis* (Apicomplexa, Eimeriidae). V tomto chovu jsme ověřovali terapeutický a preventivní účinek antikokcidika tortrazuril (Baycox, Bayer) ve srovnání s antikokcidikem amprolium (Amprovin, MDS) při kokcidióze sajících selat. Výsledky našeho sledování ukazují na vysoký terapeutický a preventivní účinek tortrazurilu (perorální aplikace, dávka 20 mg na 1 kg ž. h., věk selat 6 a 8 dní) při infekci kokcií *Isospora suis*.

Isospora suis; tortrazuril; amprolium; terapie kokcidiózy sajících selat

Mezi významné původce průjmových onemocnění selat patří v současné době také kokcidie *I. suis*. Této kokcicii se v minulosti nepřikládala žádný praktický význam a teprve v 70. letech se v literatuře objevila sdělení o průjmových onemocněních sajících selat způsobených kokcií *I. suis* (Sangster aj., 1976; O'Neil a Parfitt, 1976). Kokcidióza sajících selat byla zjištěna v řadě zemí světa (Stuart a Lindsay, 1986) včetně Československa (Koudela aj., 1986). Zprávy z veterinárních a diagnostických laboratoří uvádějí stále se zvyšující výskyt isosporózy v chovech prasat (Bergeland, 1981; Bergeland a Henry, 1982; AAVP, 1985). Isosporóza se řadí mezi nejvýznamnější parazitární onemocnění prasat (AAVP, 1985).

Ekonomický význam tohoto onemocnění spočívá především v nepřímých ztrátách, kdy dochází k zastávání v růstu a ke snížení přírůstků infikovaných selat. Lindsay aj. (1985) zjistili u experimentálně infikovaných selat signifikantně nižší přírůstky než u selat kontrolních, neinfikovaných; průměrná hmotnost třítydenních, experimentálně infikovaných, selat byla 3,87 kg a průměrná hmotnost neinfikovaných selat byla 5,59 kg.

Kokcidie *I. suis* se uplatňuje jako původce průjmového onemocnění samic nebo v komplexu s jinými enteropatogeny (Bergeland, 1981; Bergeland a Henry, 1982; Morin aj., 1983; Fitzgerald aj., 1988). Důležitým faktorem pro úspěšnou terapii isosporózy je diferenciální diagnostika ostatních původců průjmových onemocnění satic.

Při eradikaci isosporózy byla ověřována celá řada preparátů: ze sulfonamidů sulfaquinoxalin (Coussement aj., 1981) a sulfaetopyridazin (Cunningham, 1984); z antikokcidik halofuginon a lasalocid, (Männer aj., 1981), decoquat (Stuart a Lindsay, 1986), amprolium (Roberts a Walker, 1982; Stuart a Lindsay, 1986; Koudela aj., 1986; Girard a Morin, 1987) a monenzin (Roberts a Walker, 1982; Doré a Morin, 1987).

Výsledky použití těchto léčiv jsou rozdílné a názory na jejich využití při eradikaci isosporózy se různí.

Cílem naší práce bylo srovnat terapeutický a preventivní účinek nového antikokcidika tortrazuril (Baycox, Bayer) a nejčastěji doporučované antikokcidikum amprolium (Amprovin MSD) v podmínkách velkochovu prasat s výskytem klinické isosporózy satic satic.

MATERIÁL A METODY

Antikokcidika tortrazuril a amprolium jsme ověřovali ve velkochovu prasat na okrese Rakovník. Tento velkochov prasat je vybaven bezsteličnou technologií, je zde uplatňován dvoutýdenní turnusový cyklus, v jednom turnusu je zařazeno 54–60 prasnic do porodny, odstav satic se provádí ve 28 dnech věku.

V tomto chovu prasat jsme v souvislosti s výskytem hromadného průjmového onemocnění odebrali výkaly satic pro koprologické vyšetření se zaměřením na *I. suis*. Odebrali jsme směsné vzorky z podlahy kotce od satic ve věku 9–14 dní a dále jsme odebrali individuální vzorky výkalů stejně starých satic pomocí rektálních tyčinek. Koprologické vyšetření jsme prováděli flotací v Sheatherově cukerném roztoku (500 g cukru, 6,5 g fenolu, 320 ml vody).

Pro bakteriologické vyšetření a následnou typizaci kmenů *E. coli* jsme odebrali rektální výtěry celkem 45 satic s příznaky průjmového onemocnění. Výkaly 25 satic s příznaky průjmového onemocnění jsme vyšetřili metodou negativního barvení s následnou detekcí virových částic v elektronovém mikroskopu (Gibbs aj., 1980; Valíček a Šmíd, 1983). Pět satic ve věku 9–14 dní s průjmovým onemocněním jsme utratili. Odběr materiálu při pitvě a jeho vyšetření jsme uskutečnili podle doporučení autorů Bergeland a Henry (1982). Komplexní vyšetření zaměřené na původce průjmových onemocnění sestávalo z bakteriologického vyšetření a typizace kmenů *E. coli* z vyšetření střevního obsahu metodou negativního barvení a histopatologického vyšetření a vyšetření parazitologického.

Vlastní ověřování terapeutického a preventivního účinku antikokcidik jsme uskutečnili v jednom turnusu prasnic, kde jsme 20 vrhům satic (200 satic) podávali tortrazuril (Baycox, fy Bayer), 20 vrhům satic (191 satic) tohoto turnusu jsme podávali antikokcidikum amprolium (Amprovin, fy MSD) a 18 vrhů (153 satic) sloužilo jako nemedikovaná kontrola. Tortrazuril jsme podávali individuálně saticům *per os* v dávce 20 mg na 1 kg ž. h. 6. a 8. den věku. Amprolium jsme podávali perorálně saticům v dávce 100 mg na 1 kg ž. h. 6., 7. a 8. den věku. V turnusu jsme zahájili podávání antikokcidik tortrazurilem, následovala skupina satic, kterým jsme podávali amprolium a nejmladší satic v turnusu sloužila jako kontrolní. U všech satic v turnusu (543 satic) jsme sledovali hmotnost vrhu při narození, hmotnost vrhu ve věku 21 dní a klinický stav satic se zaměřením na průjmové onemocnění. Z hmotností satic při narození a 21. den věku jsme stanovili průměrnou hmotnost satic ve vrhu v jednotlivých skupinách satic. Výsledky jsme statisticky porovnávali pomocí Studentova *t*-testu.

Pro koprologické vyšetření jsme odebrali individuální vzorky výkalů od všech satic ve věku 11 dní a směsný vzorek výkalů z podlahy kotce 13. den věku satic. Vzorky jsme vyšetřovali po flotaci v Sheatherově flotačním roztoku.

VÝSLEDKY

Ve sledovaném velkochovu prasat bylo opakovaně zjištěno průjmové onemocnění sajících selat. Akutní průjmové onemocnění dříve klinicky zdravých zvířat postihovalo selata ve věku osm až deset dní. Vodnaté výkaly přecházely v průběhu tří až čtyř dnů ve výkaly žluté barvy, pastovité konzistence. Ve vrhu současně průjmovalo 25—33 % selat. Zpravidla byly postiženy skupiny spolu sousedících vrhů selat stejného věku. Morbidita vrhů v turnusu byla 90—100 %, mortalita selat byla nízká. Postižená selata byla často dehydratovaná a zaostávala v růstu.

Při koprologickém vyšetření směsných a individuálních vzorků výkalů selat ve věku 9—14 dní jsme opakovaně zjistili v různých turnusech vysokou prevalenci kokcidie *I. suis*. Celkem jsme vyšetřili 76 vrhů selat a prevalence *I. suis* se v jednotlivých turnusech pohybovala od 66 do 83 %. Individuální vyšetření selat rektálními tyčinkami prokázalo korelaci mezi intenzitou klinických příznaků a množstvím vylučovaných oocyst *I. suis*. Ve stejném období zpravidla vylučovalo oocysty *I. suis* 25—50 % selat ve vrhu. Serologickou typizací kmenů *E. coli* ze selat s průjmovým onemocněním jsme zjistili celkem 6 kmenů, které patří na základě K-antigenů a O-antigenů k enterotoxigenním kmenům *E. coli* (ETEC). Jednotlivé kmeny ETEC jsme zjistili u 2—7 ze 45 vyšetřovaných selat. Bakteriologickým vyšetřením parenchymatózních orgánů a střev utracených selat jsme kmeny ETEC a jiné patogenní bakterie neprokázali. Ve výkalech selat a ve střevním obsahu utracených selat jsme nezjistili rotaviry ani koronaviry.

Koprologickým vyšetřením jsme u 4 z 5 utracených selat zjistili oocysty *I. suis* a v roztěrech sliznice zadního jejunu stadia gametogonie *I. suis*.

Histopatologické vyšetření utracených selat prokázalo v zadním jejunu pozánětlivé reparativní změny s mírnou atrofií a srůsty klků s ojedinělými stadii gametogonie *I. suis* v epitelu. V histologických řezech střeva jsme nepozorovali adheenci bakterií ke střevnímu epitelu.

Na základě klinického průběhu průjmového onemocnění selat, výsledků parazitologického vyšetření a na základě výsledků diferenciální diagnostiky považujeme za hlavního původce průjmového onemocnění selat ve sledovaném velkochovu kokcidiu *I. suis*.

U selat, kterým jsme podávali antikokcidikum tortrazuril jsme nepozorovali hromadný výskyt průjmového onemocnění. Koprologickým vyšetřením individuálních a směsných vzorků výkalů selat této skupiny jsme nezjistili oocysty *I. suis*. Ve skupině selat, kterým jsme podávali amprolium jsme zjistili oocysty *I. suis* celkem u 23 selat (12,04 %) a vyšetřením směsných vzorků výkalů jsme zjistili oocysty *I. suis* u 9 vrhů selat (45 %). U kontrolní nemedikované skupiny jsme pozorovali ojedinělý výskyt průjmového onemocnění selat ve věku tří týdny. Koprologickým vyšetřením jsme prokázali oocysty *I. suis* u 31 selat (20,2 %) a vyšetřením směsných vzorků výkalů jsme zjistili oocysty *I. suis* v 8 vrzích selat (44,4 %). Intenzita vylučování oocyst *I. suis* byla ve všech pozitivních případech nízká. Výsledky našeho sledování shrnuje tab. I.

Průměrná hmotnost selat ve věku 21 dní byla u skupiny selat s tortrazurilem $5,90 \pm 0,753$ kg, u skupiny medikované antikokcidikem amprolium $5,725 \pm 0,750$ kg a ve skupině kontrolní $6,114 \pm 0,968$ kg. Rozdíly v hmotnosti selat jednotlivých skupin nebyly statisticky významné.

Použité antikokcidikum ¹	Počet vyšetřených selat/vrhů ²	Prevalence <i>I. suis</i> ³	
		individuální vzorky ⁴	směsné vzorky ⁵
Tortrazuril (Baycox, Bayer)	200/20	0	0
Amprolium (Amprovin, MSD)	191/20	12,04 %	45 %
Kontrola ⁶	153/18	20,2 %	44,4 %

¹used drug, ²number of examined piglets/litters, ³prevalence of *I. suis*, ⁴individual samples, ⁵mixed samples, ⁶control

DISKUSE

Ve sledovaném velkochovu prasat jsme v souvislosti s výskytem průjmového onemocnění selat zjistili vysokou prevalenci kokcidie *I. suis*. Metodou negativního barvení jsme ve výkalech a ve střevním obsahu selat s průjmovým onemocněním neprokázali rotavirové ani koronavirové částice. Bakteriologickým vyšetřením a typizací kmenů *E. coli* jsme zjistili v nízké prevalenci 6 kmenů *E. coli*, které na základě K-antigenů a O-antigenů patří k ETEC. Histopatologickým vyšetřením jsme neprokázali adheenci bakterií ke střevnímu epitelu. Francis (1983) uvádí, že kmeny ETEC lze zjistit i ve střevním obsahu zdravých selat a zdůrazňuje průkaz adherence bakterií při histologickém vyšetření pro diagnostiku enterálních kolinfekcí selat. Ve sledovaném velkochovu prasat považujeme za hlavního původce průjmového onemocnění selat kokcidiu *I. suis*.

Terapie a prevence isosporózy selat není doposud uspokojivě vyřešena. Někteří autoři považují za zdroj oocyst *I. suis* prasnice, a proto doporučují preventivní podávání antikokcidik prasnicím před porodem a v období laktace (Clark, 1980; Sanford a Josephson, 1981; Roberts a Walker, 1982; Cunningham, 1984; Lindsay aj., 1983). Sami jsme ověřovali vliv podávání antikokcidika amprolium prasnicím v chovu s výskytem klinické isosporózy selat (Koudela aj., 1986).

Rozdílné výsledky při podávání antikokcidik prasnicím a výsledky sledování autorů Lindsay aj. (1984) ukazují, že zdrojem oocyst *I. suis* pro selata nejsou prasnice a terapii a prevenci isosporózy je třeba zaměřit na selata.

Tortrazuril je antikokcidikum vyvinuté firmou Bayer v roce 1983, které je v současné době úspěšně zaváděno při prevenci a terapii kokcidiózy drůbeže (Mundt a Haberkorn, 1989). Tortrazuril má kokcidiocidní účinek a působí na všechna intracelulární stadia vývojového cyklu kokciidií (Mundt a Haberkorn, 1989). Haberkorn a Mundt (1989) referují o účinnosti využití tortrazurilu při kokcidiózách savců.

Tito autoři uvádějí také možnost použití tortrazurilu při kokcidióze selat způsobené druhem *I. suis*. Neuvádějí však konkrétní bližší údaje o dávkách a způsobu použití při isosporóze selat.

Výsledky našeho sledování prokázaly terapeutický a preventivní účinek tortrazurilu při isosporóze selat. Zásadní vliv na průběh našeho sledování měla skutečnost, že jsme zahájili aplikaci antikokcidik v turnusu tortrazurilem. Eliminace vylučování oocyst *I. suis* tortrazurilem v první skupině ovlivnila rozšíření isosporózy u dalších selat v turnusu. Ve srovnání s předcházejícími turnusy jsme ve sledovaném turnusu nepozorovali u žádné skupiny selat hromadný výskyt průjmového onemocnění u selat ve věku 8–10 dní. Také intenzita vylučování oocyst *I. suis* u skupin po aplikaci amprolia a u skupiny kontrolní byla ve srovnání s nálezy u selat jiných turnusů výrazně nižší.

Amprolium je nejčastěji doporučované antikokcidikum při isosporóze selat. V našem sledování jsme použili dávky amprolia a způsob aplikace jako autoři Stuart aj. (1978) a Coussemment aj. (1981). Sami jsme ověřovali účinek amprolia při individuální aplikaci pouze dvěma vrhům selat (Koudela aj., 1986). Srovnání výsledků koprologického vyšetření po aplikaci amprolia a selat kontrolních ukazují na malou účinnost amprolia na kokcii *I. suis*. Obdobné výsledky jsme zjistili při aplikaci amprolia selatům dvou vrhů (Koudela aj., 1986). Na nepřesvědčivé výsledky při použití amprolia k terapii a prevenci isosporózy upozorňují Robinson a Morin (1982) a zdůrazňují, že doposud neexistuje antikokcidikum k eradikaci isosporózy.

Při vyhodnocení hmotnosti vrhů selat všech skupin jsme nezjistili statisticky významné rozdíly. Tuto skutečnost je možné vysvětlit absencí průjmového onemocnění ve všech sledovaných skupinách selat turnusu.

Eliminace vylučování oocyst *I. suis* po aplikaci tortrazurilu a vliv na průběh isosporózy u dalších skupin selat v turnusu potvrzuje předpoklad, že zdrojem oocyst *I. suis* pro selata je vnější prostředí kontaminované oocystami *I. suis*. Velkou výhodou tortrazurilu je rozpustnost ve vodě a jeho působení na všechna intracelulární stadia kokcií. Tyto skutečnosti usnadňují aplikaci a snižují počet aplikací ve srovnání s jinými antikokcidiky. Sami jsme zvolili aplikaci tortrazurilu 6. a 8. den po narození, tedy v období předpokládaného nepohlavního množení (merogonie) *I. suis* ve střevě selat. V dalších studiích bude vhodné posoudit možnost jednorázové aplikace tortrazurilu.

V naší práci jsme zjistili v podmínkách velkochovu prasat terapeutický a preventivní účinek tortrazurilu při kokcidióze selat způsobené druhem *I. suis*. Použitím antikokcidika ve spojení s důkladnou asanací umožňuje eradikaci této ekonomicky závažné parazitózy v chovu prasat.

Poděkování

Autoři děkují zástupcům firem Bayer a MSD za cenné rady a poskytnutí antikokcidik.

Literatura

AMERICAN ASSOCIATION OF VETERINARY PARASITOLOGISTS: Research needs and priorities for swine internal parasites in United States. Amer. J. veter. Res., 46, 1985, s. 1023–1033.

- BERGELAND, M. E.: *Isospora suis* enteritis in piglets. *Diagnosis and epizootology*. Amer. Assoc. veter. Lab. Diagn., 24, 1981, s. 427—436.
- BERGELAND, M. E. — HENRY, S. C.: Infectious diarrheas of young pigs. *Veter. Clin. N. Amer.*: Large Anim. Prac., 4, 1982, s. 389—399.
- CLARK, L. K.: Coccidiosis in baby pigs. *Med. veter. Pract.*, 61, 1980, s. 605—606.
- COUSSEMENT, W. — DUCATELLE, R. — GEERAETS, S. — BERGHEN, P.: Baby pigs diarrhoe caused by coccidiosis. *Veter. Quart.*, 3, 1981, s. 57—60.
- CUNNINGHAM, J. M.: The filed diagnosis and cost-effective treatment of swine coccidiosis. *Agri-Practice*, 5, 1984, s. 24—30.
- DORE, M. — MORIN, M.: Porcine neonatal coccidiosis: evaluation of monensin as preventive therapy. *Can. veter. J.*, 28, 1987, s. 663—666.
- FITZGERALD, G. R. — BARKER, R. — WELTER, M. W. — WELTER, C. J.: Diarrhea in young pigs: Comparing the incidence of the live most common infectious agents. *Veter. Med. (Praha)*, 83, 1988, s. 80—87.
- FRANCIS, D. H.: Use of immunofluorescence, Gram's staining, histologic examination, and seroagglutination in the diagnostic of porcine colibacillosis. *Amer. J. veter. Res.*, 44, 1983, s. 1884—1888.
- GIBBS, E. P. J. — SMALE, C. J. — VOYLE, C. A.: Electron microscopy as an aid to the rapid diagnosis of virus diseases of veterinary importance. *Veter. Rec.*, 106, 1980, s. 451—458.
- GIRARD, CH. — MORIN, M.: Amprolium and furazolidone as preventive treatment for intestinal coccidiosis of piglets. *Can. veter. J.*, 28, 1987, s. 667—669.
- HABERKORN, A. — MUNDT, H. C.: Progress in the control of mammalian coccidiosis. Coccidia and intestinal coccidiomorphs. In: Vth International Coccidiosis Conference, Tours (France), 17—20 October, INRA Publ. (ed.), 1989, s. 435—440.
- KOUDELA, B. — VÍTOVEC, J. — ŠONKOVÁ, J. — VOBROVÁ, D.: Kokcidióza sajfcích selat chovaných ve velkochovu. *Veter. Med. (Praha)*, 31, 1986, s. 725—732.
- LINDSAY, D. S. — ERNST, J. V. — CURRENT, W. L.: Control of *Isospora suis* infection in swine. *Med. veter. Pract.*, 64, 1983, s. 831.
- LINDSAY, D. S. — ERNST, J. V. — CURRENT, W. L. — STUART, B. P.: Prevalence of oocyst of *Isospora suis* and *Eimeria* spp. from sows on farm with and without a history a neonatal coccidiosis. *J. Amer. veter. Med. Assoc.*, 185, 1984, s. 419—421.
- LINDSAY, D. S. — CURRENT, W. L. — TAYLOR, J. R.: Effect of experimentally induced *Isospora suis* infection on morbidity, mortality, and weight gains in nursing pigs. *Amer. J. veter. Res.*, 46, 1985, s. 1511—1513.
- MÄNNER, K. — MATUSCHKA, F. R. — SEEHAWER, J.: Einfluss einer Monoinfektion mit *Isospora suis* und ihre Behandlung mit Halofugion und Lasalocid auf die Aufzuchtleistungen, Verdauungskoeffizienten und die stoffliche Zusammensetzung der Ganztierkörper frühabgesetzter Ferkel. *Berl. Münch. tierärztl. Wschr.*, 94, 1981, s. 25—33.
- MORIN, M. — TURGEON, D. — JOLETTE, J. — ROBINSON, Y. — PHANEUF, J. B. — SAUVAGEAU, R. — BEAUREGARD, M. — TEUSCHNER, E. — HIGGINS, R. — LARIVIERE, S.: Neonatal diarrhea in Quebec: Infectious cases of significant outbreaks. *Can. J. comp. Med.*, 47, 1983, s. 11—17.
- MUNDT, H. C. — HABERKORN, A.: New experiences with tortrazuril in the control of poultry coccidiosis. Coccidia and intestinal coccidiomorphs. In: Vth International Coccidiosis Conference, Tours (France), 17—20 October, INRA Publ. (ed.), 1989, s. 401—406.
- O'NEIL, P. A. — PARFITT, J. W.: Observation on *Isospora suis* infection in minimal disease pig herd. *Veter. Rec.*, 98, 1976, s. 321—323.
- ROBERTS, L. — WALKER, E. J.: Field study of coccidial and rotaviral diarrhea in unweaned piglets. *Veter. Rec.*, 110, 1982, s. 11—13.
- ROBINSON, Y. — MORIN, M.: Porcine neonatal coccidiosis in Quebec. *Can. veter. J.*, 23, 1982, s. 212—216.
- SANFORD, S. E. — JOSEPHSON, G. K. A.: Porcine neonatal coccidiosis. *Can. veter. J.*, 22, 1981, s. 282—285.
- SANGSTER, L. T. — SEIBOLD, H. R. — MITCHELL, F. E.: Coccidial infection in suckling pigs. *Proc. 19th Annual Meeting Amer. Assoc. veter. Lab. Diag.*, 19, 1976, s. 51—55.
- STUART, B. P. — LINDSAY, D. S. — ERNST, J. V.: Coccidiosis as cause of scours in baby pigs. In: *Proc. Int. Symp. Neont. Diarrhea*, 2, 1978, s. 371—382.
- STUART, B. P. — LINDSAY, D. S.: Coccidiosis in swine. *Veter. Clin. N. Amer.*: Food Anim. Prac., 2, 1986, s. 455—468.
- VALÍČEK, L. — SMÍD, B.: Možnosti elektronově mikroskopické diagnostiky virových infekcí. *Veterinářství*, 33, 1983, s. 80—81.

Došlo dne 30. 11. 1990

KOUDELA, B. — VODSTRČILOVÁ, M. — KLIMEŠ, B. — VLADÍK, P. — VÍTOVEC, J. (Institute of Parasitology, Czechoslovak Academy of Sciences, České Budějovice; District Veterinary Station, Rakovník; State Veterinary Institute, České Budějovice): *Chemoprophylaxis of porcine neonatal coccidiosis with tortrazuril (Baycox, Bayer)*. Veter. Med. [Praha], 36, 1991 (11): 657—663.

At present neonatal coccidiosis caused by *Isospora suis* is known to be an important disease in piglets. The coccidium *I. suis* was diagnosed as the causative agent of diarrhoeic disease in piglets on a large pig farm with continuous farrowing operation. The diagnosis of coccidiosis was based on clinical history, gross lesions, histopathology, stained impression smears and aided by detection of oocysts in the faeces. Coccidiosis was associated with diarrhoea in piglets at the age of five to fourteen days. The disease was characterized by variable morbidity and only a portion of the litters was usually affected at one time. The piglets appeared listless, and suffered from yellow watery scours progressing to yellow pasty scours over a three- to five-day period. The lack of response to common antimicrobial therapy, and/or vaccination of sows for *E. coli* was observed. The prophylactic and therapeutic efficacy of tortrazuril (Baycox, Bayer) against coccidiosis was evaluated in naturally infected piglets. Tortrazuril at a dose of 20 mg/kg, given perorally to each piglet on days 6 and 8 of age, proved to be efficacious in preventing clinical coccidiosis in piglets. Tortrazuril fully controlled the oocyst output, prevented the development of diarrhoea but not improved the weight gains in three-week-old piglets if compared to the untreated controls. The prophylactic and therapeutic efficacy of tortrazuril was compared with another drug — amprolium (Amprovin, MSD). Amprolium at a dose of 100 mg/kg, given perorally to piglets from day 6 to 8 of age, was not efficacious in preventing clinical porcine neonatal coccidiosis. Amprolium reduced the oocyst output, but not prevented the development of diarrhoea. Tortrazuril (Baycox, Bayer) is clearly effective against porcine neonatal coccidiosis caused by *I. suis*.

Isospora suis; tortrazuril; amprolium; therapy of porcine neonatal coccidiosis

Adresy autorů:

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

MVDr. Milada Vodstrčilová, MVDr. Bohumil Klimeš, Okresní veterinární zařízení, 369 00 Rakovník

MVDr. Petr Vladík, Státní veterinární ústav, Dolní 2, 370 02 České Budějovice

OCHRANA A TVORBA ŽIVOTNÍHO PROSTŘEDÍ V ZEMĚDĚLSTVÍ A LESNICTVÍ

AKTUALITY ZE SVĚTA

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

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

Cena jednotlivého čísla 15 Kčs, roční předplatné 90 Kčs.

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

DISEMINÁCIA A PREŽÍVANIE ZÁRODKOV ENDOPARAZITOV V ŽIVOTNOM PROSTREDÍ

P. Juriš, M. Breza, D. Schmidtová, J. Venglovský

JURIŠ, P. — BREZA, M. — SCHMIDTOVÁ, D. — VENGLOVSKÝ, J. (Helmintologický ústav SAV, Košice): *Diseminácia a prežívanie zárodkov endoparazitov v životnom prostredí*. Veter. Med. (Praha), 36, 1991 (11): 665—671.

Autori sledovali v terénnych podmienkach dlhodobo (267 dní) vývin a prežívanie vajčiek modelového helminta *Ascaris suum*, kontamináciu životného prostredia zárodkami enteronematódov ošípaných a možnosti ich devitalizácie v mechanicko-chemicko-biologickej čistiarni odpadových vôd. Vajíčka *A. suum* uložené v hĺbkách pôdy od 10 do 60 cm v novembri (1987) sa v zimných mesiacoch nevyvíjali. Vývin vajčiek pokračoval v jarných mesiacoch — po dosiahnutí teploty pôdy (v hĺbke 5 cm) 8,6°C, resp. 8,9°C (v hĺbke 20 cm). Embryonované vajíčka sme získavali od 20. dekády experimentu (máj 1988). Na sledovanej farme ošípaných boli najviac pozitívne vzorky pôdy v okolí centrálnej nádrže s hnojovicou — s nálezom neembryonovaných aj embryonovaných vajčiek *A. suum* a *Trichuris suis*, s ojedinelým výskytom lariev *Oesophagostomum dentatum* 3. štádia. Sledovaný systém čistenia odpadových vôd podľa našich výsledkov vyhovuje len vodohospodárskym požiadavkám — vzhľadom na absenciu zárodkov endoparazitov vo vyčistenej vode. Ich diseminácia do životného prostredia však nastáva prostredníctvom ďalších frakcií z technologického procesu čistenia [pevná frakcia po separácii odpadovej vody, biologicky aktívne kaly po odkaľovaní bioreaktorov].

životné prostredie; zárodky endoparazitov ošípaných; diseminácia a prežívanie

Jednou z kritických oblastí poľnohospodárstva vo vzťahu k životnému prostrediu sú farmy ošípaných s kapacitou v ČSFR od 5 do 20 tisíc kusov ročne. Denná produkcia veľkého množstva tekutých exkrementov (150 až 300 m³) z týchto vysokých koncentrácií zvierat nepredstavuje len technický, ale aj hygienický problém, ktorý je úzko spätý so zdravím zvierat a človeka.

Doposiaľ zaužívaným spôsobom u nás je priame vyvážanie odpadov z fariem na poľnohospodárske plochy. Množstvo sústavne produkovaných odpadov v tekutej forme presahuje kapacitné možnosti priľahlých pôdnych lokalít, čoho dôsledkom je narušenie ekologickej rovnováhy v okolí farmy. Zriedkavejšie sa tekuté odpady z chovov ošípaných spracovávajú v čistiarniach odpadových vôd s následným využitím kalov na hnojné účely (Venglovský a i., 1990). Oba spôsoby odstraňovania odpadov z fariem ošípaných rozširujú do vonkajšieho prostredia biologické patogény majúce aj zoonózný charakter (Forstner, 1970; Enigk, 1980; Juriš a i., 1989 a iní).

V našej práci sme zisťovali dobu vývinu a prežívanie, kontamináciu prostredia a možnosti devitalizácie (v ČOV) vajíčok hygienicky významného endoparazita ošipaných *A. suum*.

MATERIÁL A METÓDY

1. Sledovanie doby prežívania vajíčok modelového helminta *A. suum* v pôde v klimaticko-geografickej oblasti Východoslovenskej nížiny: Začiatkom novembra 1987 sme v rôznych hĺbkach pôdy od 10 do 60 cm umiestnili v kaprónových vrecúškach neembryonované vajíčka *A. suum* vmiešané do 50 g pôdy. Po prezimovaní sme každú dekádu pôdne vzorky s vajíčkami vyšetrovali metódou podľa Romanenka (1968). Metóda je založená na princípe spracovania pôdnej vzorky sedimentáciou a flotáciou s roztokom o m. h. 1350. Vyflotované vajíčka sme zachytávali na sklenú platňu rozmerov 5×5 cm. Vitalitu a štádium ontogenézy sme hodnotili morfológicky a metódou založenou na princípe prechodu farbiva, napr. metylénovej modrej, do vnútra devitalizovaných zárodokov parazitov podľa Enigka (1947 — cit. Williger, 1973).

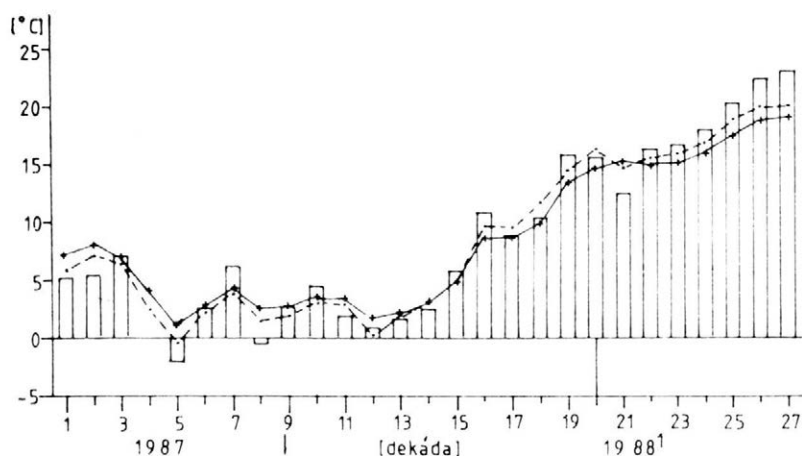
2. Zisťovanie stupňa kontaminácie pôdy zárodkami endoparazitov v areáli farmy s kapacitou 20 tisíc kusov ošipaných ročne: Prítomnosť propagatívnych štádií endoparazitov v pôdnych vzorkách z okrajov komunikácie farmy, z okolia výbehov pre plemenné kance a prasnice a z blízkosti centrálnej nádrže na hnojovicu sme zisťovali vyššie uvedenou metódou podľa Romanenka (1968). Metódou podľa Baermana (1917) sme zisťovali prítomnosť lariev enterostrogylátov v pôdnych vzorkách.

3. Preverili sme efektívnosť mechanicko-chemicko-biologického systému čistenia odpadových vôd (VIDUS-Tatabanya) zo sledovanej farmy ošipaných z aspektu parazitologického: Vzorky odpadových vôd (tekutá frakcia 1000 ml; pevná frakcia resp. biologicky aktívny kal 1000 g) sme odoberali z rôznych miest v technologickom procese čistenia. Na zisťovanie zárodokov endoparazitov v jednotlivých frakciách odpadových vôd (odpadová voda vstupujúca do procesu čistenia; frakcia po mechanickej separácii; voda po chemickom čistení síranom hliníťm; aktívny kal z biologického reaktora) sme použili metódu podľa Čerepanova (1982), ktorá je modifikáciou vyššie uvedenej metódy (Romanenko, 1968). Vyčistenú vodu sme vyšetrovali kombinovanou metódou autorov Gnedinová (1946 — cit. Jírovec, 1977) a Ockert (1968 — cit. Jírovec, 1977). Princíp metódy je vo vyšetrovaní vody sedimentáciou s flotovaním sedimentu a filtráciou supernatantu cez membránový filter pomocou vodnej vývevy.

VÝSLEDKY

Experiment s neembryonovanými vajíčkami modelového helminta *A. suum* sme započali v októbri 1987. Teplota pôdy v hĺbke 5 cm bola v tomto období $6,7^{\circ}\text{C}$ a v hĺbke 20 cm $5,7^{\circ}\text{C}$. V čase kontrolného odberu (november) bola teplota pôdy v hĺbke 5 cm $8,6^{\circ}\text{C}$ a v hĺbke 20 cm $8,9^{\circ}\text{C}$. V čase prvého odberu vzoriek po prezimovaní (apríl 1988) bola teplota v pôde 13°C , resp. $11,7^{\circ}\text{C}$. V ďalšom mesiaci sa teplota pôdy v sledovaných hĺbkach zvýšila (v 5 cm na $19,3^{\circ}\text{C}$ a v 20 cm na $16,6^{\circ}\text{C}$) na hodnoty potrebné pre vývin vajíčok helmintov (obr. 1).

Priebeh ontogenézy neembryonovaných vajíčok *A. suum* v rôznych hĺbkach pôdy (od 10 do 60 cm) a ich vitalitu po prezimovaní sme zaznamenali v tab. I. Počas zimného obdobia sa vajíčka modelového helminta v pôde nevyvíjali a zachovali si pôvodný vzhľad, pričom po prenesení do laboratórnych podmienok ich vývin nebol narušený. Zistili sme, že vajíčka sa v pôde začali vyvíjať až po zvýšení jej teploty nad 8°C v 16. dekáde experimentu (tab. I). Embryonované vajíčka s vitálnou larvou sme v pôde po prezimovaní zisťovali až po 20. dekáde experimentu. Zvýšenie teploty pôdy v 20. dekáde (hĺbky: 5 cm — $16,3^{\circ}\text{C}$, 20 cm — $15,4^{\circ}\text{C}$) a rapidný pokles jej vlhkosti vplyvom jarného zrážkového deficitu sa prejavil nárastom devitalizovaných vajíčok *A. suum*. V 27. dekáde sme v hĺb-



1. Priebeh teploty pôdy a vzduchu; — · — teplota v hĺbke 5 cm, — + — teplota v hĺbke 20 cm, □ teplota vzduchu — Course of soil air temperature from 11/1987 to 05/1988; — · — temperature in depth 5 cm, — + — temperature in depth 20 cm □ temperature of air

I. Prežívanie vajčiek *A. suum* v pôde na východnom Slovensku — Survival of the eggs of *A. suum* in the soil in East Slovakia

Dátum odberu vzoriek ¹	Doba prežívania [dekády] ²	Stav vajčiek v príslušnej hĺbke ³ [cm]					
		10	20	30	40	50	60
7. 4. 1988	17	vajčka bez morfológických zmien, pohyblivé larvy vyvinuté po kultivácii ⁴					
2. 5. 1988	20	embryonované vajčka s vitálnymi larvami ⁵					
15. 7. 1988	27	percento vajčiek s vitálnou larvou ⁶					
		70	70	70	75	70	20
		devitalizované vajčka, morfológicky nezmenené, ktorých vývin zastal v rôznych štádiách embryogenezy ⁷ (%)					
		10	10	10	5	5	40
		devitalizované, morfológicky zmenené vajčka ⁸ (%)					
		20	20	20	20	25	40

¹date of sampling, ²period of durability (decades), ³state of eggs at particular depth, ⁴no changes in morphology of eggs, motile larvae developed after cultivation, ⁵embryonic eggs with vital developed larvae, ⁶percentage of eggs containing motile larvae, ⁷devitalized eggs, without changes in morphology, presenting break of development at various stages of embryogenesis, ⁸devitalized eggs morphologically changed

II. Kontaminácia pôdy zárodkami enteronematódov v areáli farmy ošipaných — Contamination of soil with the propagative stages of enteronematodes in the pig farm area

Miesto odberu vzoriek ¹	Počet vzoriek a % pozitívnych ²	Zastúpenie a počet zárodkov enteronematódov ³		
		<i>A. suum</i>	<i>Oesophagostomum</i> spp.	<i>T. suis</i>
Okolie centrálnej nádrže s hnojivicou ⁴	4 75,0	1—4	1—8	0
Okolie výbehov pre prasnice ⁵	7 28,6	0	1—6	0
Okolie výbehov pre chovné kance ⁶	15 40,0	2—8	0	1—2
Okolie prístupovej komunikácie ⁷	6 16,7	2	0	0

¹site of soil sampling, ²number of samples and % positive, ³representation and number of enteronematode propagative stages, ⁴surroundings of the storage reservoir for liquid sludge, ⁵surroundings of the sow-rearing house, ⁶surroundings of the run for breeding boars, ⁷surroundings of the driveway

III. Kontaminácia odpadových vôd z farmy ošipaných zárodkami endoparazitov v rôznych stupňoch procesu čistenia z ČOV — Contamination of waste water of the pig breeding farm with propagative stages of endoparasites at various stages of treatment

Typ čistenia VIDUS ¹	Počet vzoriek a % pozitívnych ²	Zastúpenie a počet zárodkov endoparazitov ³				
		<i>A. suum</i>	<i>Aesophagostomum</i> spp.	<i>T. suis</i>	<i>Hymenolepis</i> spp.	<i>Eimeria</i> spp.
Odpadová voda ⁴	19 100,0	28—89	5—19	1—3	0—5	6—34
Pevná frakcia po separácii ⁵	21 85,7	12—35	2—6	1—2	0—1	2—12
Tekutá frakcia po chemickom čistení ⁶	15 20,0	1—9	0	1—2	0	0—1
Biologicky aktívny kal ⁷	12 16,6	1—2	0—2	0—1	0—3	0
Vyčistená voda ⁸	21 0	0	0	0	0	0

¹type of treatment VIDUS, ²number of samples and % positive, ³representation and number of endoparasitic propagative stages, ⁴raw water, ⁵solid fraction after separation, ⁶liquid fraction after chemical treatment, ⁷biologically active sludge, ⁸treated water

ke pôdy od 10 do 30 cm zisťovali 30 % a v hĺbke 60 cm až 80 % devitalizovaných a väčšinou morfológicky zmenených vajčiek. U morfológicky nezmenených vajčiek sa embryogenéza zastavila už v rôznych štádiách blastogenézy.

Z areálu farmy ošípaných sme vyšetrili 30 pôdnych vzoriek. Z toho bolo na propagatívne štádiá enteronematódov (*A. suum*, *T. suis* a *Oesophagostomum* spp.) pozitívnych 37,5 % (tab. II). Najviac kontaminovaná bola pôda v okolí centrálnej nádrže s hnojovicou (75 %) s výskytom najmä vajčiek *A. suum* v rôznych štádiách vývinu. Bol zaznamenaný i nález lariev (L3) *Oesophagostomum dentatum*.

Výsledky vyšetrení odpadových vôd z farmy ošípaných poukázali na výskyt celej škály endoparazitov (*A. suum*, *Oesophagostomum* spp., *T. suis*, *Hymenolepis* spp., *Eimeria* spp., *Balantidium coli*), ale aj zárodkov ektoparazitov, roztočov a lariev múch. Z parazitologického hodnotenia rôznych fáz čistiaceho procesu v systéme VIDUS-Tatabanya vyplynulo, že technológia vyhovuje len požiadavkám vodohospodárskym, čo dokazuje absencia zárodkov vo vyčistenej vode (tab. III). Propagatívne štádiá endoparazitov sme nachádzali v pevnej frakcii organických odpadov po separácii (85,7 % pozitívnych vzoriek), ktorá sa spolu s kalom po chemickom čistení a s biologicky aktívnym kalom odvádza bez ďalšej hygienizácie do poľnohospodárskej krajiny.

DISKUSIA

Ako uvádzajú S t r a u c h a a i (1980), v dôsledku častých havárií a technických problémov, ktoré súvisia s odstraňovaním, spracovaním a využitím tekutých exkrementov z chovoch ošípaných, dochádza k dlhodobej diseminácii zárodkov infekčných a inváznych ochorení v životnom prostredí. Kontaminácia prostredia patogénnymi zárodkami je ekologický problém, ktorý sa týka tiež trvalého ohrozenia hygienickej nezávadnosti povrchových a spodných vôd.

Experiment s prežívaním neembryonovaných vajčiek *A. suum* v pôde v klimaticko-geografických podmienkach Východoslovenskej nížiny poukázal na schopnosť ich vývinu i po prezimovaní. V hĺbkach pôdy od 10 do 50 cm sa ďalej vyvíjalo až 70 % vajčiek do embryonovaného až invázneho štádia. Podobné zistenia o prežívaní zárodkov *A. suum* v pôde v extrémnejších zimných podmienkach Kostromskej oblasti (ZSSR) uvádza Z a c h a r o v (1988). Z uvedeného vyplýva, že ani nízke dlhodobé teploty nepôsobia na vitalitu zárodkov parazitov v životnom prostredí negatívne.

Všeobecne známa vysoká tenacita propagatívnych štádií endoparazitov voči biotickým a abiotickým faktorom prostredia a kontaminované lokality, kde sa pravidelne manipuluje s hnojovicou, môžu mať v epizootológii inváznych chorôb ošípaných určujúci význam. Na cirkuláciu propagatívnych štádií pôvodcov helmintóz priamo v areáloch fariem ošípaných poukazuje značná pozitivita pôdnych vzoriek, ktorú sme zistili na prístupových a spojovacích miestach pri centrálnej nádrži, v okolí výbehov pre zvieratá a na nespevnenej krajnici komunikácie. Nachádzali sme tu, podobne ako V a l k o u n o v á (1982), najmä hrubostenné vajíčka druhov *A. suum* a *T. suis* v rôznych štádiách vývinu, čo poukazuje na ich dlhodobú kumuláciu v prostredí.

V literatúre je pomerne málo správ o efektívnosti čistiarní odpadových vôd pri devitalizácii parazitárnych zárodkov. Podľa autorov Buchwalder a Vollmer (1989) v čistiarniach odpadových vôd, ktoré pracujú na princípe anaerobnej fermentácie s tvorbou bioplynu, sa zabezpečí spoľahlivá (100%) devitalizácia parazitárnych zárodkov až po 40dňovom pobyte vo fermentoroch. Preto naším epizootologicky významným zistením je, že mechanicko-chemicko-biologický systém čistenia odpadových vôd z farmy ošipaných (VIDUS-Tatabanya) neničí zárodky endoparazitov v procese čistenia (v pevnej frakcii po separácii, v tekutej frakcii po chemickom čistení a ani v biologicky aktívnom kale). Doporučujeme preto doplniť túto technológiu čistenia odpadových vôd o vhodnejší systém spracovania uvedených frakcií, ktorý by devitalizoval nielen pôvodcov bakteriálnych ochorení, ale aj zárodky parazitov, a to vo všetkých výstupoch z procesu čistenia.

Literatúra

- BAERMANN, G.: Eine einfache Methode zur Auffindung von Ankylostomum — (Nematoden) — Larven in Erdproben. Geenesk. Lab. te Weltevreden Festbundel, Batavia, 1917, s. 41—47.
- BUCHWALDER, R. — VOLLMER, G. R.: Untersuchungen über den Einfluss eines anaeroben GÜllaeaufbereitungsverfahrens auf exogene Helminthenstadien (*Ascaris suum*-Eier). Mh. Veter.-Med. (Jena), 44, 1989, s. 447—449.
- ČEREPANOV, A. A.: Instrukcija po laboratornomu kontrolju čistnych sooruzenij na životnovodčeských kompleksach. Moskva, Kolos 1982.
- ENIGK, K. — cit. WILLING, B.: Ausarbeitung einer standardisierte Methode der Stall-desinfektion für parasitizide Desinfektionsmittel. (Inaugural Dissertation.) 1973, Hannover.
- ENIGK, K.: Vernichtung parasitärer Entwicklungsformen in Flüssigmist. Berl. Münch. tierärztl. Wschr., 93, 1980, s. 379—384.
- FORSTNER, M. J.: Untersuchungen über die Ansteckungsfähigkeit von Eiern menschen- und tierpathogener Würmer in landwirtschaftlich verwerteten Abwasserschlämmen. Z. Kulturtechn. Flurbereinig., 1, 1970, s. 350—365.
- GNEDINOVÁ — cit. JÍROVEC, O.: Parasitologie pro lékaře. III. přepracované a rozšířené vydání. Praha, Avicenum 1977.
- JURIŠ, P. — DUBINSKÝ, P. — BREZA, M. — VENGLOVSKÝ, J.: Problematika ochrany životného prostredia pred pôvodcami parazitóz z veľkochovov ošipaných v SR. In: Zbor. zo XVII. vedeckej konferencie: Aktívne zdravie — základ produkcie a reprodukcie zvierat. Košice, 6.—7. september 1989.
- OCKERT — cit. JÍROVEC, O.: Parasitologie pro lékaře. III. přepracované a rozšířené vydání. Praha, Avicenum 1977.
- ROMANENKO, N. A.: Metod issledovanija počvy i osadka stočnych vod na jaica gel'mintov. Med. Parazit. parazit. Bolez., 6, 1968, s. 723—729.
- STRAUCH, D. — BAADER, W. — TIETJEN, C.: Odpady zo živočíšnej výroby. Bratislava, Príroda 1980.
- VALKOUNOVÁ, J.: Kontaminace půdy vajíčky helmintů v objektech velkochovů prasat. Veterinářství, 32, 1982, s. 123—124.
- VENGLOVSKÝ, J. — JURIŠ, P. — VARGOVÁ, M.: Hygienic aspects of pig feedlot waste management. In: Deutsche Veterinär Medizinische Gesellschaft (DVG) Bericht des 3. Hohenheimer Seminars: Aktuelle Probleme der Desinfektion von Nutztierstellen sowie von Fest- und Flüssigmist. Stuttgart-Hohenheim 18.—19. september 1990, s. 38—48.
- ZACHAROV, P. V.: Ochrana okružajúcej srody ot vzbuditelej gel'mintozov na eksperimentálnych svinovodčeských komplexach. Dissertacija na soiskanie učenoj stepeni kandidata veterinarnych nauk. Moskva, 1988.

Došlo dňa 13. 2. 1991

JURIŠ, P. — BREZA, M. — SCHMIDTOVÁ, D. — VENGLOVSKÝ, J. (Helminthological Institute of the Slovak Academy of Sciences): *Dissemination and survival of the propagative stages of pig endoparasites in the environment*. Veter. Med. (Praha), 36, 1991 (11): 665—671.

Pig farms with the annual capacity from five to 20 thousand head represent one of the crucial fields of agriculture influencing the environment in the CSFR. Daily production of large amounts of liquid excrements (150–300 m³), as a result of high concentrations of animals, poses not only technical but also sanitary problems closely related to the animal and man's health. In a long-term (267 days) field study the authors followed the development and survival of eggs of the model helminth *Ascaris suum*, contamination of the environment with the propagative stages of pig enteronematodes and possibility of their devitalization in a mechanico-chemico-biological waste-water treatment plant. Eggs of *A. suum* placed in the soil to the depth of 10 to 60 cm in November (1987) did not develop in winter months. Their development continued in spring months — at soil temperatures of 8.6 °C (at 5 cm depth) or 8.9 °C (at 20 cm depth). The embryonated eggs were found out at the beginning of the 20th decade of the experiment (May, 1988). The most positive samples on the investigated pig farm were found out in the vicinity of the central reservoir for waste water, showing the presence of both unembryonated and embryonated eggs of *A. suum* and *Trichuris suis*, with sporadic occurrence of *Oesophagostomum dentatum* L3 larvae. As demonstrated by our results, the tested waste-water treatment system complies only with the requirements of water management — with respect to the absence of the endoparasite propagative stages in the treated water. But their dissemination into the environment is carried out by means of another fraction from the technological process of purification (solid fraction after waste-water separation, biologically active sludges after the blow-off of bioreactors). On the basis of the obtained results we recommend to complement the verified technology of waste water treatment with a suitable system of processing the mentioned fractions which would devitalize not only the agents of bacterial diseases but also the parasite propagative stages in all outputs of the treatment process.

environment; propagative stages of pig endoparasites; dissemination and survival

Adresy autorov:

MVDr. Peter Juriš, CSc., MVDr. Michal Breza, CSc., MVDr. Dagmar Schmidtová, CSc., MVDr. Ján Venglovský, CSc., Helminologický ústav SAV, Dukelských hrdinov 3, 040 01 Košice

Upozornění pro přispěvatele a čtenáře časopisu

VETERINÁRNÍ MEDICÍNA

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

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

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

Redakce časopisu

DYNAMIKA ZMIEN KONCENTRÁCIE CHOLESTEROLU, TYROIDNÝCH A OVARIÁLNYCH HORMÓNOV KRVNÉHO SÉRA V POSTPARTÁLNOBOM OBDOBÍ BAHNÍC

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

BEKEOVÁ, E. — ELEČKO, J. — KRAJNÍČÁKOVÁ, M. — HENDRICHOVSKÝ, V. — MARAČEK, I. (Ústav experimentálnej veterinárnej medicíny, Košice): *Dynamika zmien koncentrácie cholesterolu, tyroidných a ovariálnych hormónov krvného séra v postpartálnom období bahníc*. Veter. Med. (Praha), 36, 1991 (11): 673—684.

Za účelom štúdia postpartálnych tyroideo-ovariálnych vzťahov sme sa v práci zamerali na sledovanie dynamických zmien koncentrácií tyroxínu (T_4), trijódtyronínu (T_3), 17 beta-estradiolu (E_2), progesterónu (P_4), cholesterolu (Chol) v krvnom sére a ich vzájomnej korelačnej závislosti od 36. hodiny do 51. dňa po januárovom a februárovom pôrode bahníc plemena slovenské merino s priemernou hmotnosťou 40—50 kg. Krv sa odoberala punkciou v. jugularis 14 dní (—14. deň) pred pôrodom (a. p.), do 36 h po pôrode (p. p.), v 4., 7., 14., 17., 21., 25., 34., 42. a 51. dni p. p. Od 36. h do 21. dňa p. p. s výnimkou prechodného vzostupu v 7. dni p. p. mali koncentrácie T_4 v porovnaní k východzímu —14. dňu klesajúcu tendenciu s najnižšími hodnotami v 4. a 21. dni p. p. ($P < 0,05$). Ich vzostup na úroveň východzieho hodnôt sme zaznamenali medzi 25. a 51. dňom p. p. V koncentráciách T_3 sme medzi 36. h a 7. dňom p. p. v porovnaní k —14. dňu zaznamenali signifikantný nárast ($P < 0,001$; $P < 0,05$; $P < 0,01$). Po poklese medzi 14. a 21. dňom p. p. sme ich opätovný a pretrvávajúci vzostup so signifikantnosťou v 34., 42. a 51. dni p. p. ($P < 0,05$) zistili v 25. dni p. p. Klesajúci charakter poporodných koncentrácií E_2 so signifikantne najnižšími hodnotami v 25., 34. a 51. ($P < 0,05$; $P < 0,01$; $P < 0,05$) dni p. p. bol prerušený ich prechodným vzostupom so širokou variáciou individuálnych hodnôt v 17. a 42. dni p. p. Signifikantné poporodné zníženie koncentrácií P_4 ($P < 0,001$) bolo prerušené epizootickým, štatisticky nepreukazným vzostupom v 34. dni p. p. s podobným rozptylom individuálnych hodnôt ako u E_2 . Koncentrácie Chol. s výnimkou vzostupu v 4. ($P < 0,05$) a 34. dni p. p. poklesli v 25. dni p. p., kolísali na úrovni východzieho hodnôt. Signifikantnú korelačnú závislosť sme zaznamenali vo vzťahoch T_4 : T_3 v 14., 17., 34. a 42. dni p. p., T_3 : E_2 v 36. h p. p., T_3 : P_4 v 14. dni p. p. a P_4 : E_2 v 4. dni p. p. Zo vzájomných dynamických a korelačných vzťahov sledovaných parametrov uvažujeme o dočasnom „laktanom“ prerušení tyroideo-ovariálnych vzťahov a poporodnom preradení tyroidných hormónov do energiu mobilizujúceho a homeostaticko-adaptačného komplexu organizmu.

bahnice; puerpérium; tyroxín; trijódtyronín; 17 beta-estradiol; progesterón; cholesterol

Významnou rezervou pre plné využitie reprodukčného potenciálu oviec za súčasného rozpracovávaní metód navodenia a synchronizácie ruje sa javí postpartálna anestria, spontánne prechádzajúca do sezónnej anestrie. Hoci dĺžka gestácie oviec je iba 148 dní (± 5 dní), neschopnosť väčšiny

oviec prísť do cyklu v jarných mesiacoch limituje ich bahnenie na jedenkrát za rok. Dosiahnutie dvoch bahnení v priebehu roka, resp. troch bahnení za dva roky, je podmienené koncepcieschopnosťou bahnič za 35 až 40 dní po obahnení.

Podľa doterajších poznatkov je anestría domácich prežúvavcov spôsobená refrakternosťou ovárií ku gonadotropnej stimulácii, nedostatočnou produkciou a sekréciou gonadotropínov alebo gonadotropín-releasing hormónov (Nett, 1987; Wallace a i., 1989). Mimo deficitných funkcií hypotalamo-adenohypofyzárno-ovariálnej osi môže byť suboptimálna fertilita anestrických oviec podmienená dĺžkou involúcie uteru, fotoperiodou (Bubeník a i., 1986) alebo laktáciou a dojčením (Riis a Madsen, 1985), pričom pri nástupe popôrodnej pohlavnej aktivity sa nemožno vyhnúť otázkam významu plemena, ročnej doby, úrovne výživy a dĺžke kojenja (Dražan a Hruška, 1983; Dražan, 1983).

Experimenty, v ktorých sa zistil pokles koncentrácií tyroxínu v určitých fázach laktácie poukazujú na homeorhetickú adaptačnú schopnosť organizmu vyrovnáť sa so zvýšenými energetickými požiadavkami znížením produkcie tyroidálnych hormónov (Riis a Madsen, 1985), ktoré môžu mať spätný negatívny vplyv na syntézu ovariálnych i adenohypofyzárnych hormónov.

Za účelom prehĺbovania vedomostí o hormonálnych pomeroch v puerériu oviec sme sa v predkladanej práci zamerali na sledovanie dynamických zmien koncentrácií tyroxínu, trijódtyronínu, 17 beta-estradiolu, progesterónu a cholesterolu a ich vzájomných korelačných vzťahov v systémovej krvi oviec od prvých postpartálnych dní do 51. dňa po pôrode.

MATERIÁL A METODY

POKUSNÉ ZVIERATÁ

Do experimentu sme zaradili 9 oviec plemena slovenské merino s priemernou hmotnosťou 40–50 kg, obahnených v mesiacoch január a v prvej polovici februára. Bahniče pred pôrodom a po pôrode spolu i s jahňatami boli chované v ovčine staršieho klasického typu na hlbokoj podstielke. Kímná dávka vybilancovaná podľa ČSN 46 7070 pozostávala zo siláže, sena, repy a kímnjej zmesi BAK. Voda a dobyčcia soľ boli podávané *ad libitum*.

ODBER VZORIEK KRVÍ

Vzorky krvi sme odoberali punkciou v. *jugularis* 14 dní pred pôrodom (–14. deň), do 36. hodiny po pôrode, v 4., 7., 14., 17., 21., 25., 34., 42. a 51. dni po pôrode. Bezprostredne po odbere sme vzorky krvi centrifugovali. Sérum sme do spracovania držali v jednorázových skúmavkách z PH-397 136 03 0010 pri teplote –18 °C.

POUŽITÉ METODIKY

Koncentrácie tyroxínu, trijódtyronínu, 17 beta-estradiolu a progesterónu sme stanovovali v krvnom sére. Použili sme komerčne dostupné rádioimunologické súpravy RIA-test-T₄, RIA-test-T₃, RIA-test-ESTRA a RIA-test-PROG (ÚRVJT, Košice). Koncentrácie cholesterolu sme stanovili BIO-Lachema-Testom (Lachema, Brno).

MATEMATICKO-ŠTATISTICKÉ ANALÝZY

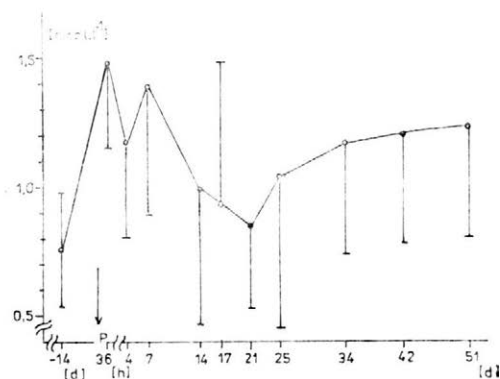
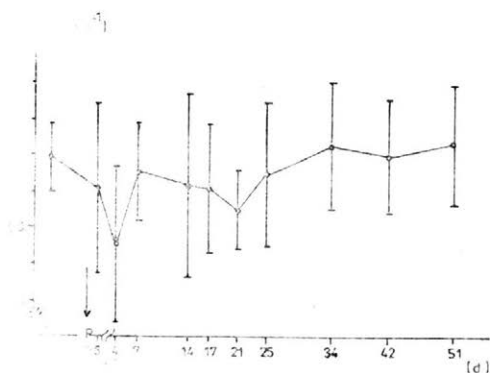
Štatistickú významnosť diferencí v koncentráciách sledovaných parametrov medzi –14. dňom a ostatnými dňami experimentu sme určili Studentovým *t*-testom. Vzájomnú závislosť zmien zadaných parametrov sme určili výpočtom korelačného koeficientu (*r*) a jeho štatistickej významnosti (Červenka, 1975).

VÝSLEDKY

V -14. dni sledovania sa koncentrácie T_4 pohybovali na hladine $69,55 \pm 9,12 \text{ nmol.l}^{-1}$ séra (obr. 1, tab. I). V prvých 36. hodinách jeho koncentrácie pozvoľne klesali. Po 36. h pozvoľný pokles nadobudol charakter prudkého zostupu a v porovnaní k -14. dňu signifikantne najnižšie hodnoty ($45,66 \pm 21,61 \text{ nmol.l}^{-1}$; $P < 0,05$) boli zaznamenané v 4. popôrodnom dni. Po prechodnom vzostupe v 7. dni koncentrácie T_4 opäť pozvoľne klesali k hodnotám $54,89 \pm 11,06 \text{ nmol.l}^{-1}$ ($P < 0,05$), zisteným v 21. dni po obahnení. Od 25. do 51. popôrodného dňa kolísali jeho koncentrácie v medziach $64,68 \pm 20,08$ až $73,02 \pm 16,24 \text{ nmol.l}^{-1}$, t. z. približne na úrovni východných hodnôt.

V porovnaní k hodnotám $0,76 \pm 0,22 \text{ nmol.l}^{-1}$ v -14. dni sme v 36. h, 4. a 7. dni po pôrode zaznamenali v koncentráciách T_3 ich prudký nárast ($P < 0,001$; $P < 0,05$; $P < 0,01$) s vrcholovými hodnotami $1,48 \pm 0,34 \text{ nmol.l}^{-1}$ v 36. h po pôrode (obr. 2, tab. II). Medzi 14. a 21. dňom mali koncentrácie T_3 klesajúcu tendenciu, pohybovali sa na úrovni hodnôt $0,85 \pm 0,32$ až $0,99 \pm 0,55 \text{ nmol.l}^{-1}$. Po vzostupe pozorovanom v 25. popôrodnom dni sa koncentrácie T_3 udržiavali až do konca sledovania na temer vyrovnané zvýšených hladinách so štatistickou preukaznosťou v porovnaní k -14. dňu v 34., 42. a 51. dni po pôrode ($P < 0,05$).

Koncentrácie E_2 (obr. 3, tab. I) 14 dní pred pôrodom dosiahli priemerné hodnoty $0,44 \pm 0,41 \text{ nmol.l}^{-1}$. Vysoká hodnota smerodatnej odchýlky (σ) však naznačuje, že koncentrácie E_2 v tomto dni u jednotlivých zvierat kolísali v širokom variačnom rozpätí. Po obahnení priemerné koncentrácie E_2 u všetkých zvierat mali výrazne klesajúcu tendenciu so



1. Koncentrácie tyroxínu (T_4) v krvnom sére bahníc v popôrodnom období — Thyroxine (T_4) concentrations in the blood serum of ewes in the puerperium

Vysvětlivka pro obr. 1—5 — Explanatory notes to Figs. 1—5: P = pôrod — parturition

2. Koncentrácie trijódtyronínu (T_3) v krvnom sére bahníc v popôrodnom období — Triiodothyronine (T_3) concentrations in the blood serum of ewes in the puerperium

I. Koncentrácie tyroxínu [T₄], trijódtyronínu [T₃], 17 beta-estradiolu [E₂], progesterónu [P₄] a cholesterolu [Chol] v krvnom sére bahnic v popôrobnom období — Concentrations of thyroxine [T₄], triiodothyronine [T₃], 17 beta-estradiol [E₂], progesterone [P₄] and cholesterol [Chol] in the blood serum of ewes in the puerperium

Dni, hodiny pred a po pôrode ¹	Koncentrácie ³ (nmol . l ⁻¹)				
	T ₄	T ₃	E ₂	P ₄	Chol
-14	69,55 ± 9,12	0,76 ± 0,22	0,44 ± 0,41	37,31 ± 16,57	1,75 ± 0,33
36 h ²	60,68 ± 23,44	1,48 ± 0,34***	0,30 ± 0,24	0,05 ± 0,08***	1,92 ± 0,39
4	45,66 ± 21,61*	1,17 ± 0,36*	0,17 ± 0,09	0,06 ± 0,14***	2,19 ± 0,53*
7	66,38 ± 13,57	1,39 ± 0,50**	0,19 ± 0,09	0,07 ± 0,10***	1,90 ± 0,32
14	61,47 ± 25,54	0,99 ± 0,54	0,13 ± 0,09	0,03 ± 0,07***	1,68 ± 0,21
17	60,79 ± 17,97	0,94 ± 0,55	0,20 ± 0,27	0,04 ± 0,10***	1,74 ± 0,33
21	54,89 ± 11,06*	0,85 ± 0,32	0,15 ± 0,12	0,06 ± 0,16***	1,86 ± 0,42
25	64,68 ± 20,08	1,04 ± 0,59	0,08 ± 0,07*	0,04 ± 0,14***	1,56 ± 0,27
34	72,84 ± 17,44	1,16 ± 0,43*	0,12 ± 0,07**	0,96 ± 2,82***	2,01 ± 0,42
42	69,81 ± 15,54	1,21 ± 0,43*	0,24 ± 0,15	0,05 ± 0,08***	1,74 ± 0,33
51	73,02 ± 16,24	1,24 ± 0,44**	0,20 ± 0,15*	0,02 ± 0,07***	1,74 ± 0,44

Signifikantnosť zmien koncentrácií T₄, T₃, E₂, P₄ a Chol v sledovaných dňoch v porovnaní k 14. dni vyjadrené Studentovým *t*-testom: * *P* < 0,05; ** *P* < 0,01; *** *P* < 0,001 — Significance of changes in concentrations of T₄, T₃, E₂, P₄ and Chol on the days of observation, in comparison with those on day 14, expressed by Student's *t*-test: * *P* < 0.05; ** *P* < 0.01; *** *P* < 0.001

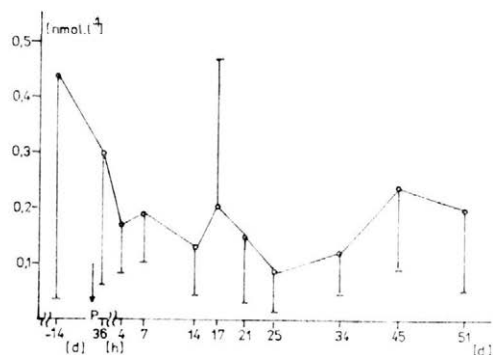
¹days, hours before and after parturition, ²hours, ³concentrations

II. Vzájomné vzťahy medzi koncentraciami tyroxínu (T_4), trijódtyronínu (T_3), 17 beta-estradiolu (E_2), progesterónu (P_4) a cholesterolu ($Chol$) vyjadrené korelačným koeficientom (r) — Correlative dependences between the concentrations of thyroxine (T_4), triiodothyronine (T_3), 17 beta-estradiol (E_2), progesterone (P_4) and cholesterol ($Chol$) expressed by correlation coefficient (r)

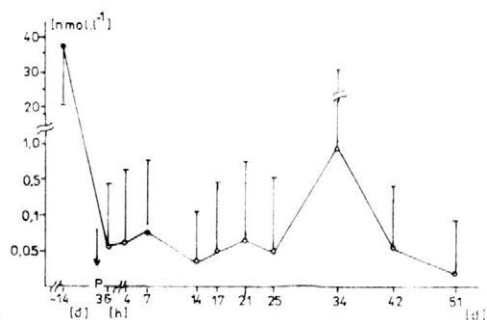
Dni, hodiny pred a po pôrode ¹	Korelačné hodnotenie vzťahov ³							
	+1 $T_4 : E_2$	$T_4 : P_4$	$T_4 : Chol$	+3 $T_4 : T_3$	+2 $T_3 : E_2$	$T_3 : P_4$	$T_3 : Chol$	$P_4 : E_2$
-14	-0,4280	-0,1542	0,2345	-0,3582	0,0585	0,4502	0,4055	-0,1107
36 h ²	0,1885	0,2532	-0,3507	0,6570	0,7495*	-0,1490	-0,1656	-0,1529
4	-0,1093	0,0926	-0,1485	0,4296	-0,4619	-0,1962	0,0465	-0,8091*
7	0,4473	0,3708	-0,2994	0,5728	0,4269	0,3486	-0,3499	0,1772
14	0,5696	0,6873	0,5350	0,7410*	0,3330	0,8987**	0,6237	0,4733
17	0,3294	0,2754	0,1767	0,7693**	0,0890	0,3753	0,0327	0,2761
21	-0,0193	0,5304	-0,2977	0,6266	0,3025	0,1303	0,2896	0,1862
25	0,1976	—	0,4414	0,3984	0,2418	0,1729	0,2708	-0,1390
34	0,3730	0,3557	-0,1047	0,7398*	0,2541	0,1004	-0,0153	-0,0178
42	-0,0623	0,1501	0,1180	0,6531*	0,1539	-0,3123	0,4496	-0,5712
51	0,2157	0,2201	0,4520	-0,2237	0,2745	-0,0826	-0,1222	-0,2837

Statistická významnosť korelačnej závislosti: * $P < 0,05$; ** $P < 0,01$ — Statistical significance of correlative dependence: * $P < 0,05$; ** $P < 0,01$

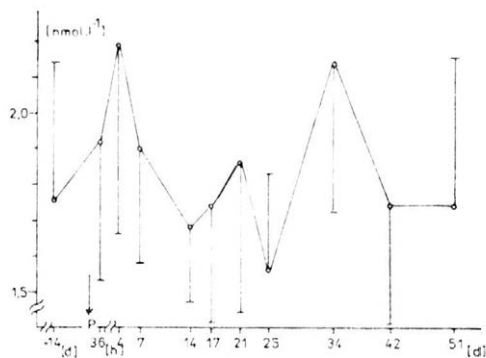
For 1—2 see Tab. I; ³correlative evaluation of dependences



3. Koncentrácie 17 beta-estradiolu (E_2) v krvnom sére bahnič v popôrodnom období — 17 beta-estradiol (E_2) concentrations in the blood serum of ewes in the puerperium



4. Koncentrácie progesterónu (P_4) v krvnom sére bahnič v popôrodnom období — Progesterone (P_4) concentrations in the blood serum of ewes in the puerperium



5. Koncentrácie cholesterolu (Chol) v krvnom sére bahnič v popôrodnom období — Cholesterol (Chol) concentrations in the blood serum of ewes in the puerperium

signifikantnosťou a v porovnaní k -14. dňu v 25., 34. a 51. dni po pôrode ($P < 0,05$; $P < 0,01$; $P < 0,05$). Nesignifikantný epizodický vzostup koncentrácií E_2 sme zaznamenali v 17. a 42. dni po pôrode. Smerodajná odchýlka však opäť naznačuje širokú variáciu individuálnych hodnôt jeho koncentrácií.

V koncentráciách P_4 (obr. 4, tab. I) sme zaznamenali prudký pokles z hodnôt $37,31 \pm 16,57 \text{ nmol.l}^{-1}$ zistených v -14. dni na úroveň $0,05 \pm 0,08 \text{ nmol.l}^{-1}$ ($P < 0,001$) v 36. h po pôrode. Na signifikantne nižších hladinách v porovnaní k -14. dni sa koncentrácie P_4 udržiavali počas celého sledovaného obdobia. Epizodické zvýšenie jeho koncentrácií sme zaznamenali v 34. dni po pôrode. Výška smerodajnej odchýlky zistená v tomto, ale i pri ostatných sledovaných dňoch naznačuje široký variáčny rozptyl individuálnych hodnôt.

V prvých dňoch po pôrode mali koncentrácie cholesterolu v porovnaní k hodnotám $1,75 \pm 0,33 \text{ nmol.l}^{-1}$ zisteným v -14. dni vzostupný charakter (obr. 5, tab. I). Po výraznom zvýšení v 36. h po obahnení sme ich signifikantne najvyššie hladiny $2,19 \pm 0,53 \text{ nmol.l}^{-1}$ ($P < 0,05$) zistili v 4. popôrodnom dni. Od 7. do 25. dňa, s výnimkou prechodného štatisticky nepreukazného vzostupu v 21. dni pozorovania, mali koncentrácie cholesterolu klesajúcu tendenciu s pohybom hodnôt v medziach $1,56 \pm 0,27$ až $1,90 \pm 0,32 \text{ nmol.l}^{-1}$. Ďalší štatisticky nepreukazný vzostup k hodnotám $2,01 \pm 0,42 \text{ nmol.l}^{-1}$, zistený v 34. dni po obahnení, vystriedal pokles jeho koncentrácií na úroveň východných hodnôt.

Pri korelačnom hodnotení vzťahov $T_4 : E_2$, $T_4 : P_4$ a $T_4 : \text{CHOL}$ (tab. II) sme signifikantnosť nezistili ani v jednom z uvedených prípadov. Štatisticky preukaznú koreláciu sme zaznamenali vo vzťahoch $T_3 : E_2$ v 36. hodine ($P < 0,05$); $T_3 : P_4$ v 14. dni ($P < 0,05$); $P_4 : E_2$ v 4. dni ($P < 0,05$) a $T_4 : T_3$ v 14., 34., 42. ($P < 0,05$) a 17. dni ($P < 0,01$) po pôrode.

DISKUSIA

Postpartálne koncentrácie 17 beta-estradiolu sledované od 36. hodiny do 51. dňa po pôrode mali v porovnaní k -14. dňu klesajúcu tendenciu so signifikantnosťou v 25., 34. a 51. dni po obahnení. Ich epizodický vzostup so širokým variačným rozpätím sme zaznamenali v 17. a 42. dni *post partum*. Ani v jednom prípade epizodického zvýšenia však koncentrácie E_2 nedosiahli úroveň hodnôt $0,54 \text{ nmol.l}^{-1}$ séra, ktorú sme zistili po 10 dňoch pôsobenia chlorsuperlutinu pri synchronizačnom ošetrení bahníc v sezónnom období (B e k e o v á a i., 1991). Pri celkovom hodnotení postpartálneho endokrinného profilu u domácich prežúvavcov popisuje K u d l á č (1987) mimo LH nápadný pokles ovariálnych steroidov. K podobnému záveru, s kolísaním koncentrácií 17 beta-estradiolu v medziach od $0,09$ do $0,20 \text{ nmol.l}^{-1}$ séra v prvých 7. týždňoch po pôrode, dospela K r a j n i č á k o v á (1990). S a s a k i a i. (1984) zaznamenali pretrvávanie 17 beta-estradiolu na nižších hodnotách, v priemere okolo 5 pg.ml^{-1} , až do nástupu prvej ruje. Táto sa v nimi sledovanom súbore zvierat zistila medzi 14. až 40. dňom *post partum*. V krvi lám klesli koncentrácie 17 beta-estradiolu z predpôrodných hodnôt $196 \pm 10 \text{ pg.ml}^{-1}$ na $25 \pm 5,0 \text{ pg.ml}^{-1}$, na ktorých zotrvali počas sedemdnového postpartálneho pozorovania (L e o n a i., 1990).

Koncentrácie progesterónu sa s výnimkou 34. dňa po pôrode udržiavali pod hodnotu $0,1 \text{ nmol.l}^{-1}$ séra. V 34. dni sme zistili ich prechodný vzostup s extrémnym variačným rozptylom individuálnych hodnôt. Predpokladáme, že tento nárast koncentrácií progesterónu v 34. dni a 17 beta-estradiolu v 17. a 42. postpartálnom dni súvisí s ovariálnou aktivizáciou, resp. ovuláciou, ktorá sa bez vonkajších rujevých symptómov môže v závislosti od endo-, resp. exogénnych faktorov vyskytnúť medzi 15. až 23., resp. 10. až 25. dňom po pôrode (S e f i d b a k h t a i., 1977; S c h i r a r, 1986). Jestvujúca popôrodná deficitnosť riadiacich endokrinných mechanizmov (N e t t, 1987), ktoré kontrolujú ovariálne funkcie sa môže manifestovať redukciou luteálnej aktivity, skrátenou životnosťou a funkčnosťou žltého telieska (L a n d, 1971; Q u i r k e a i., 1983) čo sa môže prejavíť aj v nami zistenej širokej variácii individuálnych hodnôt sledovaných ovariálnych hormónov. Významnú úlohu pri vzniku luteálnych dysfunkcií,

v tomto období odsledovaných prevážne u dojnic, môže zohrať neplnohodnotnosť ováriálnych folikulov, produkcia uterinného luteolýzínu, resp. zvýšená senzitivita novoformovaného žltého telieska k pôsobeniu uterinného PGF_2 alfa (Anderson, 1977; Odde a i., 1980). U oviec bol návrat PGF_2 alfa hladín k bazálnym hodnotám pozorovaný až po štvrtom popôrodnom týždni (Fredrickson a i., 1985) v porovnaní k našim zisteniam Bostedt a i. (1981) pri štúdiu nástupu ováriálnej aktivity u oviec plemena merino, obahnených v mesiacoch január až marec, znamenali v závislosti od dojčenia jedného alebo dvoch jahniat vzostup koncentrácií progesterónu nad $0,5 \text{ ng} \cdot \text{ml}^{-1}$ v 22. resp. 26. dni po pôrode. Progesterónový profil podobný normálnemu estrálnemu cyklu zistili v 62. postpartálnom dni. U bahnic plemena assaf (Izrael, 32° zemepisnej šírky) sa po februárovom obahnení prvá ovulácia s hodnotami progesterónu nad $1,0 \text{ ng} \cdot \text{ml}^{-1}$ a estrus zistili za $35 \pm 2,5$ a $71 \pm 7,7$ dni *post partum* (Amir a Gacitua, 1987). Luteálna aktivita u troch z ôsmich oviec obahnených v januári a ošetrených fyziologickým roztokom bola v experimentoch Ainswortha a i. (1982) potvrdená v 50. dni po pôrode. Sefidbakht a i. (1977) v experimentálnom stáde s prirodzenou plemenitbou zaznamenali do 100 dní po pôrode vyššie percento gravidných oviec po jesennom v porovnaní k jarnému bahneniu (72 % a 50 %) so súčasným predĺžením medziobdobia po jarnom bahnení. Mallampati a i. (1971) a Hunter a Van Aarade (1973) na základe svojich pozorovaní považujú sezónu pôrodu u oviec za významný faktor vplývajúci na obnovenie postpartálnej reprodukčnej aktivity. Predĺženie medziobdobia po bahnení v jarných mesiacoch je výsledkom sumarizácie prirodzenej postpartálnej anestríckej periódy, na ktorú bezprostredne nadväzuje sezónny anestrus (Mallampati a i., 1971) s manifestnou absenciou ováriálnych cyklov. Pri štúdiu genézy sa zistilo, že kauzálnou príčinou ováriálnej acyklie je zabrzdenie vývoja ováriálnych folikulov spôsobené gestačnou redukciou adenohipofyzárneho obsahu LH (Chamley a i., 1976) s návaznou inadequatečnou postpartálnou sekréciou LH s jeho spätnou defektnou reflexiou na pulzatívne uvoľňovacie LH-RH (Restall a Starr, 1977; Wright a i., 1981). Systémové koncentrácie FSH, citlivosť adenohipofýzy k GnRH a obsah GnRH v *area preoptica*, mediobazálnom hypotalame a *eminencia medialis* sú v priebehu postpartálneho anestru zachované (Moss a i., 1980). K reštitúcii obsahu LH v uvedených oblastiach hypotalamu bahnic dochádza v priebehu 3–10 týždňov po pôrode, v závislosti od úrovne pre- a postpartálnej výživy, dojčenia resp. laktácie a ich trvania a sezóny pôrodu (Jenkin a i., 1977; Nett, 1987).

Popôrodné koncentrácie T_4 mali do 21. dňa, s výnimkou prechodného vzostupu v 7. dni *post partum*, v porovnaní k —14. dňu klesajúcu tendenciu. Od 21. do 51. dňa po pôrode sa pohybovali na zvýšených hladinách s kolísaním na úrovni predpôrodných hodnôt. V koncentráciách T_3 sme zaznamenali signifikantný nárast s pretrvávaním do 7. dňa po pôrode. Ich pokles medzi 14. a 21. postpartálnym dňom vystriedal od 25. dňa nárast so signifikantnosťou od 34. dňa popôrodného pozorovania. Podobné dynamické zmeny koncentrácií T_4 s ich vzostupom od 21. popôrodného dňa sme zaznamenali u dojnic (Bekeová a i., 1986). Kesler a i. (1981) zistili, že koncentrácie tyroxínu u dojnic lineárne klesali do 6. dňa, na znížených hladinách pretrvávali do 10. dňa po pôrode a v priebehu prvého postpartálneho cyklu sa pohybovali na hodnotách dvakrát niž-

ších ako v nasledujúcom cykle. Najnižšie popôrodné koncentrácie tyroxiínu u kôz boli pozorované v 1.—3. týždni laktácie (Riis a Madsen, 1985). U ošípaných sa vzostup koncentrácií T_4 zaznamenal za 10 dní po odstave mláďat (Benjaminson, 1981). Depresívny vplyv laktácie na koncentrácie tyroidných hormónov sa potvrdil u krýs. U nelaktajúcich jedincov sa koncentrácie T_4 a T_3 upravili v štvrtý deň po pôrode, u dojčiacich matiek pretrvávali na subnormálnych hodnotách ešte niekoľko dní po odstave mláďat (Fukuda a i., 1980).

Popôrodná depresia systémových koncentrácií tyroidných hormónov je podľa doterajších zistení spôsobená ich redistribúciou do mliečnej žľazy a hyposekreciou štítnej žľazy (Fukuda a i., 1980; Riis a Madsen, 1985). Zdá sa, že pokles tyroidných hormónov v čase laktácie plní dve základné funkcie. Má kľúčové postavenie v homeostatickej a metabolickej adaptácii organizmu na zvýšenú energetickú spotrebu (Riis a Madsen, 1985) a súčasne cez zvýšenú produkciu TRH stimuluje sekreciu prolaktínu. Prolaktín stimuláciou 5α reduktázovej aktivity vedie k folikulárnej atézii (Polan a Behrman, 1981), ktorá brzdí dozrievanie folikulov a ovulácie bráni predčasnej, pre organizmus nežiadúcej popôrodnej koncepcii. Na podobnom princípe, ale bez hlbšieho poznania významu, sa zakladá i sezónna anestria oviec (Walton a i., 1977; Rhinda i., 1978; McNeilly a i., 1982).

Inhibičné prolaktínové pôsobenie na syntézu ovariálnych steroidov a zaťaženie tyroidných hormónov do regulácie metabolických pochodov v čase laktácie je v našej práci nepriamo potvrdené prakticky žiadnou signifikantnosťou v korelačných vzťahoch $T_4 : E_2$, $T_4 : P_4$, $T_3 : E_2$ a $T_3 : P_4$ signifikantnosťou korelácie medzi T_4 a biologicky aktívnym T_3 v 14., 17., 34. a 42. postpartálnom dni. Absencia štatisticky preukaznej závislosti vo vzťahoch $T_4 : Chol$ a $T_3 : Chol$ naznačuje, že v popôrodnom období sú systémové koncentrácie cholesterolu modulované skôr intenzitou laktácie ako ovariálnymi, resp. tyroidálnymi hormónmi. Zo štúdií, v ktorých sa zistilo, že približne 50 % mastných kyselín v kravskom mliečnom tuku je derivovaných z plazmatických lipidov (Riis a i., 1960) pričom cholesterol má úlohu nosiča mastných kyselín vo forme cholesterolesterov pri syntéze mlieka (Prakash a Tan Don, 1979) vyplýva, že systémové koncentrácie cholesterolu sú v priebehu laktácie pod kontrolou celého komplexu laktogénnych faktorov, medzi ktorými sú zahrnuté aj tyroidné hormóny (Varley a Foxcroft, 1990).

Z hodnotenia zmien dynamiky sledovaných parametrov a z ich vzájomnej korelačnej analýzy usudzujeme, že v popôrodnom období a v čase laktácie dochádza u oviec k prechodnému prerušeniu vzájomných tyreoideo-ovariálnych vzťahov a hormóny štítnej žľazy sa v období ovariálnej acyklie stávajú súčasťou energiu mobilizujúceho a homeostaticko-adaptačného komplexu organizmu.

Literatúra

- AINSWORTH, L. — LACHANCE, R. — LABRIE, F.: Effect of GnRH induced endogenous luteinizing hormone release and exogenous progesterone treatment on ovarian activity in postpartum ewe. *J. anim. Sci.*, 54, 1982, s. 998—1004.
- ANDERSON, L. L.: Uterine control of ovarian function. In: WYNN, D. M.: *Biology of the uterus*. New York, London, Plenum Press 1977, s. 587—633.
- AMIR, D. — GACITVA, H.: Sexual activity of Assaf ewes after October and February lamings. *Theriogenology*, 27, 1987, s. 377—382.

- BEKEOVÁ, E. — ELEČKO, J. — LAZÁR, L. — MARAČEK, I.: Koncentrácie tyroxínu a cholesterolu u jalovic po skrmovaní beta karoténom. In: Konf. O reprodukci hospodárskych zvierat — VI. Pribylvy dny, 16. a 17. IV., 1986.
- BEKEOVÁ, E. — KRAJNÍČKOVÁ, M. — HENDRICHOVSKÝ, V. — MARAČEK, I.: Vplyv synchronizačného ošetrenia v sezónnom období a gravidity oviec na koncentrácie tyroxínu, trijódtyronínu, 17 beta-estradiolu, progesterónu a cholesterolu. Veter. Med. (Praha), 36, 1991, s. 433—444.
- BENJAMINSEN, E.: Plasma thyroxine in the sow during pregnancy and lactation and during resumption of ovarian activity after weaning. Acta veter. scand., 22, 1981, s. 1—13.
- BOSTEDT, H. — STOLLA, R. — KLENNER, A.: Progesteronkonzentrationen im Blutplasma laktierender und nicht laktierender Schafe der ersten Wochen nach der Geburt. Z. Tierzücht. Zücht.-Biol., 98, 1981, s. 11—20.
- BUBENIK, G. A. — SMITH, P. S. — SCHAMS, D.: The effect of orally administered melatonin on the seasonality of deer pelage exchange, antler development, LH, FSH, prolactin, testosterone, T₃, T₄, cortisol and alkaline phosphatase. J. Pineal Res., 3, 1986, s. 331—349.
- ČERVENKA, J.: Základy štatistiky. In: GORDAN, J. (ed.), Martin, Osveta 1975, s. 80—93.
- DRAŽAN, J.: Intenzifikace reprodukce u ovcí. In: Konf. Reprodukce hospodárskych zvierat. 29.—30. 6. 1983, Brno.
- DRAŽAN, J. — HRUŠKA, K.: Pohlavní aktivita ovce v průběhu roku. In: Zbor. Ref. z V. konferencie o aktuálnych zdravotných a reprodukčných problémoch oviec v súčasných podmienkach chovu. 14.—15. september 1983, Oravská priehrada.
- FREDRICKSON, G.: Release of PGF₂alpha during parturition and the postpartum period in the ewe. Theriogenology, 24, 1985, s. 313—335.
- 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.
- HUNTER, G. L. — VAN AARDE, I. M. R.: Influence of season of lambing on postpartum intervals to ovulation and estrus in lactating and dry ewes at different nutritional levels. J. Reprod. Fertil., 32, 1973, s. 1—11.
- CHAMLEY, W. A. — JONAS, H. A. — PARR, R. A.: Content of LH, FSH and growth hormone in the pituitaries of pregnant and anestrus sheep. Endocrinology, 98, 1976, s. 1535—1538.
- JENKIN, G. — HEAP, R. B. — SYMONS, D. B. A.: Pituitary responsiveness to synthetic LH-RH and pituitary LH content at various reproductive stages in the sheep. J. Reprod. Fertil., 49, 1977, s. 207—214.
- KESLER, D. J. — JOHNSON, H. D. — GARVERICK, H. A.: Postpartum concentrations of thyroxine in plasma dairy cows. J. Dairy Sci., 64, 1981, s. 1618—1620.
- KUDLÁČ, E.: Puerperium. In: Veterinárny porodnictví a gynekologie. Praha, SZN 1987, s. 130—141.
- KRAJNÍČKOVÁ, M.: Niektoré morfológické, funkčné a hormonálne zmeny v popôrobnom období oviec. [Kandidátska dizertácia.] Košice 1990, s. 56—60. — Ústav experimentálnej veterinárnej medicíny.
- LAND, R. B.: The incidence of oestrus during lactation in Finnish Landrace, Dorset Horn and Finn × Dorset sheep. J. Reprod. Fertil., 24, 1971, s. 345—352.
- LEON, J. B. — SMITH, B. B. — TIMM, K. I. — LECREN, G.: Endocrine changes during pregnancy, parturition and the early post-partum period in the llama (*Lama g. lama*). J. Reprod. Fertil., 81, 1990, s. 503—511.
- MALLAMPATI, R. S. — POPE, A. L. — CASIDA, L. E.: Effect of suckling on postpartum anestrus in ewes lambing in different seasons of the year. J. anim. Sci., 32, 1971, s. 673—682.
- MAULEON, P. — DAUZIER, L.: Variations de duree de l'anoestrus de lactation les brebis de race Ile-de-France. Annes. Biol. anim. Biochim. Biophys., 16, 1965, s. 521—528.
- MCNEILLY, A. S. — D'CONNELL, M. — BAIRD, D. T.: Induction of ovulation and luteal function by pulsed injections of luteinizing hormones in anestrus ewes. Endocrinology, 110, 1982, s. 1292—1299.
- MOSS, G. E. — ADAMS, T. E. — NISWENDER, G. D. — NETT, T. M.: Effects of parturition and suckling on concentrations of pituitary gonadotropins, hypothalamic GnRH and pituitary responsiveness to GnRH in ewes. J. anim. Sci., 50, 1980, s. 496—502.
- NETT, T. M.: Function of the hypothalamic-hypophyseal axis during the post-partum period in ewes and cows. J. Reprod. Fertil., 34, 1987, s. 201—213.
- ODDE, K. G. — WARD, H. S. — KIRACOFÉ, G. H. — MCKEE, R. M. — KITTOCK, R. J.: Short estrous cycles and associated serum progesterone levels in beef cows. Theriogenology, 14, 1980, s. 105—112.

- POLAN, M. L. — BEHRMAN, H. R.: Prolactin-stimulated ovarian androgen metabolism. *Amer. J. Obstet. Gynecol.*, 139, 1981, s. 487—491.
- PRAKASH, B. S. — TANDON, R. N.: A note on the effect of late pregnancy and early lactation on blood serum cholesterol and total lipids of Holstein × Tharparkar first lactation cows. *Indian J. anim. Sci.*, 49, 1979, s. 308—309.
- QUIRKE, J. F. — STABENFELDT, G. H. — BRADFORD, G. E.: Resumption of ovarian function in autumn lambing Dorset, Rambouillet and Finnish Landrace ewes. *Theor. Appl. Genet.*, 19, 1983, s. 243—248.
- RESTALL, B. J. — STARR, B. G.: The influence of season of lambing and lactation on reproduction activity and plasma LH concentrations in Merino ewes. *J. Reprod. Fert.*, 49, 1977, s. 297—303.
- RHIND, S. M. — CHEWORTH, J. M. — ROBINSON, J. J.: A seasonal difference in ovine peripheral plasma prolactin and progesterone concentrations in early pregnancy and the relationship between the two hormones. *J. Reprod. Fert.*, 52, 1978, s. 79—81.
- RIIS, P. M. — LUICK, J. R. — KLEIBER, M.: Role of plasma lipids in transport of fatty acids for butter — fat formation. *Amer. J. Physiol.*, 198, 1960, s. 45—47.
- RIIS, P. M. — MADSEN, A.: Thyroxine concentrations and secretion rates in relation to pregnancy lactation and energy balance in goats. *J. Endocrinol.*, 107, 1985, s. 421 to 427.
- SASAKI, N. — DOMEKI, I. — MAKAHARAA, T. — YAMAUCHI, M.: Plasma estradiol-17 beta and progesterone levels and ovarian activity in postpartum cows. *Jap. J. anim. Reprod.*, 30, 1984, s. 80—86.
- SEFIDBAKHT, N. — MOSTAFAVI, M. S. — FARID, A.: Effect of season of lambing on postpartum ovulation, conception and follicular development of four fat-tailed Iranian breeds of sheep. *J. anim. Sci.*, 45, 1977, s. 305—310.
- SCHIRAR, A.: L'anoestrus de lactation chez la brebis Préalpes du Sud. Reprise de l'activité hypothalamohypophysaire et de l'activité ovarienne. Thèse Doctorat d'Etat en Sciences Naturelles. Univ. Paris VI, 1986, Paris, 84 s.
- VARLEY, M. A. — FOXCROFT, G. R.: Endocrinology of the lactating and weaned sow. *J. Reprod. Fert.*, 40, 1990, s. 47—61.
- WALLACE, J. M. — ROBINSON, J. J. — AITKEN, R. P.: Does inadequate luteal function limit the establishment of pregnancy in the early post partum ewe? *J. Reprod. Fert.*, 85, 1989, s. 229—240.
- WALTON, J. S. — McNEILLY, J. R. — McNEILLY, A. S. — CUNINGHAM, F. J.: Changes in concentrations of follicle-stimulating hormone, luteinizing hormone, prolactin and progesterone in the plasma of ewes during the transition from anoestrus to breeding activity. *J. Endocrinol.*, 75, 1977, s. 127—136.
- WRIGHT, P. J. — GEYTENBEEK, P. E. — CLARKE, I. J. — FINDLAY, J. K.: Evidence for change in oestradiol negative feedback and LH pulse pregnancy in postpartum ewes. *J. Reprod. Fert.*, 61, 1981, s. 97—102.

Došlo dňa 20. 12. 1990

BEKEOVÁ, E. — ELEČKO, J. — KRAJNÍČÁKOVÁ, M. — HENDRICHOSKÝ, V. — MARAČEK, I. (Institute of Experimental Veterinary Medicine, Košice): *Dynamics of changes in concentrations of cholesterol and thyroid and ovarian hormones in blood serum during postparturient period of ewes*. *Veter. Med. (Praha)*, 36, 1991 (11): 673—684.

Postparturient anoestrus, spontaneously changing over to seasonal anoestrus, represents an important reserve of full utilization of the reproductive potential of sheep. In spite of the fact that the length of gestation in sheep only amounts to 148 days (± 5 days), inability of most sheep to enter the cycle during the spring season acts as a factor limiting the number of lambings — and at the same time production of lambs — to one lambing per year. In order to obtain more detailed knowledge of hormonal conditions in sheep puerperia, the presented work was directed at the study of dynamic changes in concentrations of thyroxine (T_4), triiodothyronine (T_3), 17 beta-estradiol (E_2), progesterone (P_4) and cholesterol ($Chol$) in the blood serum of ewes and at their mutual correlative dependences between the 36th hour and the 51st postparturient day. The observation was carried out in nine nursing ewes of the Slovak Merino breed, with average weight 40—50 kg, lambed in January and February. Blood was sampled by means of jugular vein puncture 14 days (—14th day) before parturition (a. p.), up to 36 h after parturition (p. p.) and on day 4, 7, 14, 17, 21, 25, 34, 42 and 51 p. p. In the period from the 36th h to day 21 p. p., concentrations of T_4 (Tab. I,

Fig. 1) showed a decreasing tendency compared to the starting -14th day ($69.55 \pm 0.12 \text{ nmol.l}^{-1}$) with the exception of a temporary increase on the 7th day p. p. The lowest values were recorded on days 4 and 21 p. p. ($45.66 \pm 21.61 \text{ nmol.l}^{-1}$, $P < 0.05$ and $54.89 \pm 11.06 \text{ nmol.l}^{-1}$, $P < 0.05$, resp.). An increase of these values to the starting level was observed between days 25 and 51 p. p. Compared to the values on -14th day ($0.76 \pm 0.22 \text{ nmol.l}^{-1}$), a significant increase of T_3 concentrations [Tab. I, Fig. 2] was recorded at the 36th h and on days 4 and 7 p. p. with the highest values ($1.48 \pm 0.34 \text{ nmol.l}^{-1}$, $P < 0.001$) at 36 h p. p. After the temporary decrease between days 14 and 21 p. p. its concentrations showed a constantly rising tendency statistically significant on days 34, 42 and 51 p. p., compared to the -14th day ($P < 0.05$). Concentrations of E_2 [Tab. I, Fig. 3] reached the values of $0.44 \pm 0.41 \text{ nmol.l}^{-1}$ on the -14th day. Concentrations observed from the 36th h to the end of the followed period varied at levels which were significantly lower than those recorded on the -14th day. The lowest significant values were observed on days 25, 34 and 51 ($P < 0.05$; $P < 0.01$; $P < 0.05$; resp.). A slight and insignificant rise of these values was recorded on days 17 and 42 p. p. ($0.20 \pm 0.27 \text{ nmol.l}^{-1}$, $P > 0.05$ and $0.24 \pm 0.15 \text{ nmol.l}^{-1}$, $P > 0.05$, resp.) at a wide variation of individual concentrations. P_4 concentrations showed a sharp decline [Tab. I, Fig. 4] from the values $37.31 \pm 16.57 \text{ nmol.l}^{-1}$ observed on the -14th day down to the level of $0.05 \pm 0.08 \text{ nmol.l}^{-1}$ ($P < 0.001$) as early as 36 h p. p. They remained on significantly lower values compared to the -14th day, till the end of the observation. An episodic increase of P_4 concentrations with high variation dispersion was observed on the 34th day p. p. ($0.96 \pm 2.82 \text{ nmol.l}^{-1}$, $P > 0.05$). Concentrations of Chol [Tab. I, Fig. 5] varied approx. at the level of values obtained on the -14th day ($1.75 \pm 0.33 \text{ nmol.l}^{-1}$ with the exception of increase on days 4 and 34 p. p. (2.19 ± 0.53 , $P < 0.05$ and $2.01 \pm 0.42 \text{ nmol.l}^{-1}$, $P < 0.05$, resp.). A significant correlative dependence [Tab. II] was recorded for the ratios $T_4:T_3$ on days 14, 17, 34 and 42 p. p.; $T_3:E_2$ 36 hours p. p.; $T_3:P_4$ on day 14 p. p. and $P_4:E_2$ on day 4 p. p. On the basis of the obtained results and available literature we may assume that the thyroid hormones, predominantly thyroxine, play an important part in the initiation of both postparturient and seasonal anoestrus and in their persistence. It seems possible that its decline at the time of the onset of lactation fulfills several functions. It occupies a key place in homeostatic and metabolic adaptation of organism to the increased energetic consumption and, at the same time, activates the secretion of prolactin through the increased production of TRH. Prolactin has a stimulative effect on 5 alpha reductase activity and leads to follicular atresia and in this way prevents the premature, from the viewpoint of organism undesirable postparturient conception. The inhibitory effect of prolactin on the synthesis of ovarian steroids and participation of thyroid hormones in regulation of metabolic processes during lactation is indirectly confirmed in our study by practical absence of significant correlative relations of $T_4:E_2$, $T_4:P_4$, $T_3:E_2$ and $T_3:P_4$ and significance of $T_4:T_3$ relation on days 14, 17, 34 and 42 after parturition. Absence of a statistically significant dependence of T_4 :Chol and T_3 :Chol relations suggests that the modulation of systemic concentrations of cholesterol by lactation intensity in the postparturient period is more probable than the modulation by ovarian or thyroid hormones. These considerations, based on the obtained results and available literature, lead to the conclusions that the temporary interruption of mutual thyroid-ovarian relations takes place in the postparturient period and period of lactation and the thyroid hormones become the part of energy-mobilizing and homeostatic-adaptative complex of the organism in the period of ovarian acycilia.

ewes; puerpery; thyroxine; triiodothyronine; 17 beta-estradiol; progesterone; cholesterol

Adresa autorov:

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

DLOUHODOBÝ PŘÍJEM MYKOTOXINU OCHRATOXIN A U KUŘAT Z HLEDISKA REZIDUÍ V POTRAVINÁŘSKÝCH A KRMNÝCH SUROVINÁCH

J. Ruprich, J. Košutzký, V. Ostrý, E. Košutzká

RUPRICH, J. — KOŠUTZKÝ, J. — OSTRÝ, V. — KOŠUTZKÁ, E. (Institut hygieny a epidemiologie, Brno; Výzkumný ústav hydinářstva, Ivanka pri Dunaji): *Dlouhodobý příjem mykotoxinu ochratoxin A u kuřat z hlediska reziduí v potravinářských a krmných surovinách*. Veter. Med. (Praha), 36, 1991 (11): 685—693.

Byl proveden krmný pokus s kuřecími brojlery (kohoutci). Šest týdnů bylo podáváno krmivo s přísadkou 850 μg ochratoxinu A (OA) $\cdot \text{kg}^{-1}$. 12 hodin před porážkou nebyla zvířata krmena (v souladu s technologií porážení kuřat). Byly odebrány vzorky krve, jater a ledvin. Na konci pokusu nepřesáhla hodnota reziduí OA v odebraných vzorcích úroveň 5 $\mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$. V dalších pokusech byla sledována dynamika reziduí OA v krevní plazmě kuřat po jeho i. v. aplikaci v množství 2 a 20 μg na kus (1,5 kg ž. h.). K odhadu toxikokinetických parametrů byl použit otevřený dvoukompartimentový model. Eliminační poločas ($t_{1/2(\text{beta})}$) činil asi 3,3 hodiny. Vysoká celková clearance (CL) 34,2 $\text{ml} \cdot \text{min}^{-1} \cdot \text{kg}^{-1}$ ž. h. a zdánlivý distribuční objem ($V_{d(\text{area})}$) 9,8 $\text{l} \cdot \text{kg}^{-1}$ ž. h. svědčí o rychlé distribuci do tkání a eliminaci OA. Výsledky dokládají, že i při dlouhodobém příjmu krmiva kontaminovaného do výše 850 μg OA $\cdot \text{kg}^{-1}$ nebudou překročeny současné hygienické limity reziduí pro potravinové suroviny (5 a 20 $\mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$), jsou-li dodrženy zásady správné výrobní praxe při porážce. Krev kuřat použitá jako krmivo není v tomto případě významným zdrojem OA.

kuřata; krmivo; ochratoxin A; rezidua; toxikokinetika

Mykotoxin ochratoxin A (dále OA) je metabolit produkovaný některými mikroskopickými houbami (plísněmi) z rodu *Aspergillus* a *Penicillium* (Rosenthaler aj., 1984). Je považován za silně toxickou látku s účinkem nefrotoxickým, hepatotoxickým, teratogenním (Cole aj., 1981), ale i imunotoxickým (Luster aj., 1987). OA vyvolává u drůbeže řadu zdravotních problémů (Krogh, 1978; Pier aj., 1985; Duff aj., 1987 a další). Méně poznatků existuje o závislosti velikosti reziduí OA na jeho příjmu krmivem. Touto otázkou se zabývali již v roce 1983 Golinski aj. Ve své práci upozornili na rychlý metabolismus OA u kuřat. V poslední době byly publikovány některé další poznatky o odchylkách v toxikokinetice OA u drůbeže (Galtier aj., 1988; Hagelberg aj., 1989) oproti savcům. Od roku 1986 platí v České republice předpisy limitující nejvyšší přípustné koncentrace OA v poživatinách (Směrnice č. 69, MZ ČSR č. 69/1986). Sledování zdrojů OA má význam pro omezení zdravotního rizika u člověka.

Nové poznatky o toxikokinetice OA u drůbeže nás vedly k experimentům, ve kterých jsme se pokusili o odhad nebezpečí spojeného s výkrmem brojlerových kuřat směsmi kontaminovanými OA. Všeobecně je drůbež považována za „nebezpečnou potravinovou surovinu“ z hlediska reziduí OA. Kuřecí maso a droby představují na našem trhu hlavní položku spotřeby drůbeže a může tak tvořit významný zdroj pravidelného příjmu OA člověkem.

MATERIÁL A METODA

OA pro pokusné účely byl připraven způsobem podle Rupricha aj. (1987). Čistota připraveného OA byla stanovena pomocí HPTLC (fluorescence, excit. 333 nm) jako vyšší než 96 %. Identifikace byla provedena srovnáním se standardem OA (Sigma O-4001), UV-VIS spektrografií a HS (MBÚ ČSAV Praha).

BIOLOGICKÉ EXPERIMENTY

Krmný pokus na kuřecích brojlerch

V pokuse byla použita kuřata brojlerového typu, sexovaní kohoutci SLOVGAL (finál). Kohoutci byli rozděleni do dvou skupin po 40 kusech. Ustájení bylo provedeno odděleně na hluboké podestýlce. Voda a krmivo bylo k dispozici *ad libitum*, světelný režim byl nepřetržitý. Po celou dobu pokusu bylo podáváno krmivo BR II (ME 12,8 MJ, N-látky 19,9 %). Pro pokusnou skupinu bylo do krmiva přidáno 850 μg OA $\cdot \text{kg}^{-1}$ (přes premix). Kontaminované krmivo bylo připraveno opakovaně po 21 dnech. Krmivo bylo podáváno od prvního dne věku až do 42. dne. V průběhu pokusu byla kuřata pravidelně každý týden vážena, byl kontrolován klinický stav a od věku 21 dnů byla každý týden porážena náhodně vybraná část kuřat v počtu 5–10 kusů, určená k odběru vzorků. 12 hodin před porážkou nebyla kuřata krmena. Po dekapitaci byly odebrány vzorky krve, ledviny a levý lalok jater pro stanovení OA. Sérum bylo získáno po sražení krve. Odebrané vzorky byly před analýzou skladovány při teplotě -20°C .

Intravenózní aplikace ochratoxinu A kuřecím brojlerům

1. Pokus: K pokusu byla použita kuřata stejného typu jako v krmném pokusu, ve věku 47 dnů a o hmotnosti 1,45–1,50 kg. 15 kuřat bylo rozděleno do 3 skupin po 5 kusech a umístěno do chovných klecí. OA byl aplikován po rozpuštění v dimethylsulfoxidu (DMSO) do *v. subcutanea ulnaris* takto:

- | | |
|-----------------------|--|
| 1. skupina — kontrola | — 0 μg OA . 0,2 ml ⁻¹ DMSO na kus |
| 2. skupina — pokus | — 20 μg OA . 0,2 ml ⁻¹ DMSO na kus |
| 3. skupina — pokus | — 2 μg OA . 0,2 ml ⁻¹ DMSO na kus |

Krev byla odebrána před aplikací a pak v časových intervalech 3, 6, 12 a 48 hodin po aplikaci OA z *v. subcutanea ulnaris* heparinizovanou stříkačkou. Vzorek byl odstředěn a získaná plazma byla použita pro analýzu.

2. Pokus: Stejný typ kuřat byl použit v dalším pokusu. Čtyřem kuřatům bylo aplikováno 20 μg OA . 0,2 ml⁻¹ DMSO na kus. Krev byla odebírána stejným způsobem před aplikací, a pak v intervalech 10, 30 a 60 minut.

ANALÝZA REZIDUÍ OA

Vzorky krevní plazmy

A. 1 ml séra bylo smícháno se 4 ml 0,33 M kyseliny octové a pomalu aplikováno na kolonku Silica-Cart SGX C18 (Tessek). Předem promytou 5 ml metanolu a 5 ml 0,33 M kyseliny octové. Po prokapání vzorku byla kolonka promyta 10 ml 0,33 M kyseliny octové. Zbytek roztoku byl z kolonky vřouknut a OA byl eluován 5 ml metanolu. Metanolové eluát byl odpařen do sucha na rotačním vakuovém odpařováku a použit pro HPTLC. Výťažnost na úrovni 1 μg OA činila asi 85 %.

B. 1 ml séra byl smíchán s 10 ml směsí 0,1 M chloridu hořečnatého a 0,1 M kyseliny chlorovodíkové (1+1). Po 5 min byla směs pomalu prokapána přes kolonku Silica-Cart SGX C18, předem promytou 5 ml metanolu a 5 ml 0,05 M kyseliny chlorovodíkové.

Po aplikaci vzorku byla kolonka promyta 10 ml směsí vody a metanolu (85 + 15). Po vyfouknutí mycího roztoku byl OA eluován 5 ml metanolu. Metanolvý eluát byl odpařen na rotačním vakuovém odpařováku a použit pro HPTLC. Výtěžnost na úrovni $1 \mu\text{g} \cdot \text{l}^{-1}$ činila asi 95 %.

Vzorky jater a ledvin

5 g tkáně bylo homogenizováno ve 30 ml směsí 0,1 M kyseliny chlorovodíkové a 0,1 M chloridu hořečnatého (1 + 1). Směs byla extrahována 10 ml chloroformu (10 min). Chloroformový extrakt byl separován odstředěním. 5 ml extraktu bylo vytřepáno 10 ml 0,05 M uhličitany sodného (5 min). Uhličitánový extrakt byl pak okyselen koncentrovanou kyselinou chlorovodíkovou na pH asi 2 a extrahován chloroformem (10 min). 5 ml extraktu bylo odpařeno na rotačním vakuovém odpařováku do sucha a použito pro HPTLC. Výtěžnost na úrovni $1 \mu\text{g} \text{ OA} \cdot \text{kg}^{-1}$ činila asi 75 %.

Vzorky krmiva

100 g krmiva bylo důkladně homogenizováno. 10 mg homogenizovaného krmiva bylo okyseleno 2 ml 0,25 M kyseliny chlorovodíkové a extrahováno 100 ml chloroformu (10 min). 80 ml filtrátu bylo vytřepáno 25 ml 0,05 M uhličitany sodného (10 min). Po okyselení uhličitánového extraktu koncentrovanou kyselinou chlorovodíkovou na pH asi 2, byl OA extrahován 10 ml chloroformu. 5 ml extraktu bylo odpařeno na rotačním vakuovém odpařováku do sucha a použito pro HPTLC. Výtěžnost na úrovni $5 \mu\text{g} \text{ OA} \cdot \text{kg}^{-1}$ činila asi 75–80 %.

HPTLC

Příslušně naředěný vzorek a standard OA byl aplikován na HPTLC plotnu, 10×10 centimetrů, Kieselgel 60 (Merck 5633). Plotna byla vyvíjena ve směsí benzen + metanol + kyselina octová (18 + 1 + 1) — (AOAC, 1980), v horizontální vyvíjecí komoře (Camag). Po vyvinutí byla plotna vysušena při laboratorní teplotě (15 min) a do 30 min vyhodnocena pomocí denzitometru (Camag TLC Scanner II). K měření byla využita fluorescence excitovaná světlem o vlnové délce 333 nm, měřicí filtr 400 nm. Citlivost stanovení dosahovala $25 \text{ pg OA na skvrnu}$. Citlivost v přepočtu na ředění vzorků činila 0,25 — $0,80 \mu\text{g} \text{ OA} \cdot \text{kg}^{-1}$. Identifikace OA byla provedena derivatizací pomocí borontrifluoridmetanolu (Fluka 15715) metodikou podle AOAC (1980).

TOXIKOKINETIKA OA

Toxikokinetika byla hodnocena podle známých kritérií (např. Phillips aj., 1990). K odhadu parametrů byl použit otevřený dvoukompartimentový model závislosti:

$$C_p = A + \exp(-\alpha t) + B + \exp(-\beta t)$$

Vlastní výpočet byl proveden metodou zbytků (Janků, 1989).

VÝSLEDKY A DISKUSE

KRMNÝ POKUS

Základní otázkou, kterou jsme si kladli při koncipování experimentů bylo, zda je možná vysoká úroveň reziduí OA u kuřecích brojlerů při dlouhodobém příjmu krmiva kontaminovaného relativně vysokým množstvím OA, a to v podmínkách blízkých technologii jatečného zpracování brojlerových kuřat. V krmném pokusu nebyla proto zvířata 12 hodin před porážkou a odběrem vzorků krmiva. Vylučnění zvířat před porážkou je záležitostí správné výrobní praxe. Vysokou kontaminaci krmiva (nad $500 \mu\text{g} \text{ OA} \cdot \text{kg}^{-1}$) lze v našich klimatických podmínkách považovat za výjimku, což dokládají výsledky vyšetřování po dobu více než 10 roků (Ruprich aj., 1988; Piskač aj., 1989). Jak je patrné z výsledků krmného pokusu (tab. I, II, III), byla velikost reziduí OA v krevní plazmě, játrech a ledvině pokusných kuřat poměrně nízká. Po 42 dnech zkrmování kontaminovaného krmiva ($850 \mu\text{g} \text{ OA} \cdot \text{kg}^{-1}$) byla v krevní plazmě

I. Rezidua OA zjištěná v krevní plazmě kuřat krmených dietou s přidavkem $850 \mu\text{g OA} \cdot \text{kg}^{-1}$. Citlivost metody byla $0,6 \mu\text{g OA} \cdot \text{l}^{-1}$ (pro výpočet průměrů byla u analýz pod mezí citlivosti použita hodnota $0,5 \mu\text{g OA} \cdot \text{l}^{-1}$) — OA residues detected in the blood plasma of chicks administered the feed with an addition of $850 \mu\text{g OA}$ per kg. The method sensitivity was $0.6 \mu\text{g OA}$ per l (the value of $0.5 \mu\text{g OA}$ per l was used to calculate the averages for analyses below the detection limit)

Podávání diety kontaminované OA (dny) ¹	Celkem vzorků [hodnota reziduí ($\bar{x} + s_x$) v $\mu\text{g} \cdot \text{l}^{-1}$] ²	
	kontrola ³	pokus ⁴
21	6 [< 0,6]	5 ($0,7 \pm 0,3$)
28	10 [< 0,6]	10 [< 0,6]
35	5 [< 0,6]	5 [< 0,6]
42	4 [< 0,6]	5 ($0,8 \pm 0,3$)

¹administration of feed contaminated with OA (days), ²total number of samples, [value of residues ($\bar{x} + s_x$) in μg per l], ³control, ⁴trial

zjištěna rezidua maximálně $1,2 \mu\text{g OA} \cdot \text{l}^{-1}$. Hodnoty v tkáni jater a ledvin po 42 dnech krmného pokusu nepřevýšily hodnotu $5 \mu\text{g OA} \cdot \text{kg}^{-1}$. Ustájení kuřat bylo provedeno způsobem běžným pro faremní výkrm brojlerů, tj. na hluboké podestýlce. Jak ukazují výsledky vyšetření tkáně jater a ledvin u kontrolní skupiny (tab. II, III), bylo zdrojem kontaminace OA u některých kusů prostředí. Krmivo použité během experimentů bylo opakovaně kontrolováno na obsah OA. Kontaminace OA nedosahovala $5 \mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$ a nepovažujeme ho proto za zdroj pro kontrolní skupinu. Zdrojem byla pravděpodobně hluboká podestýlka, na které byla zvířata ustájena. Tuto komplikaci nepovažujeme za překážku pro vyhodnocení pokusu. Rozhodující je zjištění, že v žádném případě nebyla překročena hygienická norma pro obsah OA v potravinové surovině obecně, tj. $20 \mu\text{g OA} \cdot \text{kg}^{-1}$, ani norma pro dětskou výživu, tj. $5 \mu\text{g OA} \cdot \text{kg}^{-1}$. Rezidua OA ve svalové tkáni nebyla souběžně hodnocena proto, že byla prokázána jejich řádově nižší hodnota ve srovnání s hodnotami v tkáni jater a ledvin (Golinskí aj., 1983). Tuto skutečnost jsme si ověřili i při našich dřívějších předběžných pokusech. Ve výše citované práci (Golinskí aj., 1983) nebyla při dávce $500 \mu\text{g OA} \cdot \text{kg}^{-1}$ nalezena žádná rezidua v játrech, ledvinách, tmavé a světlé svalovině. Při dávce $1000 \mu\text{g OA} \cdot \text{kg}^{-1}$ krmiva a vyšší byla nalezena rezidua ve všech uvedených tkáních. Následovalo-li vyšetření po čtyřech dnech krmení nekontaminovaným krmivem, nebyla zjištěna žádná rezidua, což potvrdilo předpoklad o rychlé metabolizaci a eliminaci OA u kuřecích brojlerů. Při porážce nenalezli žádné makroskopické změny zachytitelné veterinární prohlídkou zvířat, i v případě vysoké úrovně reziduí OA v tkáních. V našem experimentu nebyly na zvířatech na konci krmného pokusu rovněž nalezeny žádné

změny postižitelné běžnou veterinární prohlídkou. Jak je patrné z obr. 1, byla zjištěna průkazně snížená hmotnost pokusných kusů proti kontrole v průběhu pokusu, ale další klinické rozdíly, použitelné např. k rychlé diagnostice při porážce zvířat, nebyly pozorovány. Snížení živé hmotnosti svědčí o negativním zdravotním vlivu OA na kuřata.

II. Rezidua OA zjištěná v tkáni jater kuřat krmených dietou s přídavkem 850 μg OA . kg^{-1} . Citlivost metody byla 0,8 μg OA . kg^{-1} (pro výpočet průměrů byla u analýz pod mezí citlivosti použita hodnota 0,7 μg OA . kg^{-1}) — OA residues detected in the liver tissue of chicks administered the feed with an addition of 850 μg OA per kg. The method sensitivity was 0.8 μg OA per kg (the value of 0.7 μg OA per l was used to calculate the averages for analyses below the detection limit)

Podávání diety kontaminované OA (dny) ¹	Celkem vzorků [hodnota reziduí ($\bar{x} + s_{\bar{x}}$) v $\mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$] ²	
	kontrola ³	pokus ⁴
21	6 (< 0,8)	6 (2,0 $\pm$ 0,4)
28	10 (0,8 $\pm$ 0,2)	10 (2,4 $\pm$ 2,0)
35	+	5 (1,4 $\pm$ 0,9)
42	5 (1,2 $\pm$ 1,2)	5 (1,3 $\pm$ 0,4)

+ vzorky nebyly analyzovány — the samples were not analyzed

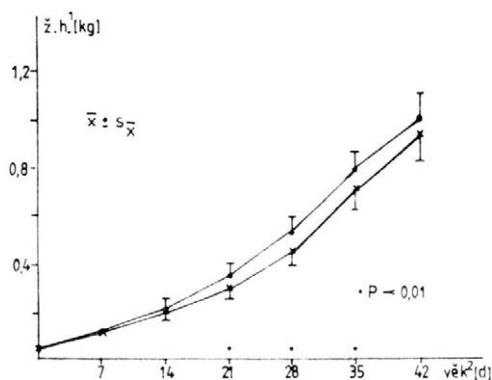
For 1—4 see Tab. I

III. Rezidua OA zjištěná v tkáni ledvin kuřat krmených dietou s přídavkem 850 μg OA . kg^{-1} . Citlivost metody byla 0,8 μg OA . kg^{-1} (pro výpočet průměrů byla u analýz pod mezí citlivosti použita hodnota 0,7 μg OA . kg^{-1}) — OA residues detected in the kidney tissue of chicks administered the feed with an addition of 850 μg OA per kg. The method sensitivity was 0.8 μg OA per kg (the value of 0.7 μg OA per kg was used to calculate the averages for analyses below the detection limit)

Podávání diety kontaminované OA (dny) ¹	Celkem vzorků [hodnota reziduí ($\bar{x} + s_{\bar{x}}$) v $\mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$] ²	
	kontrola ³	pokus ⁴
21	6 (< 0,8)	6 (3,2 $\pm$ 1,2)
28	10 (1,0 $\pm$ 0,5)	10 (1,1 $\pm$ 0,5)
35	+	5 (1,8 $\pm$ 0,4)
42	5 (0,9 $\pm$ 0,5)	5 (2,2 $\pm$ 0,4)

+ vzorky nebyly analyzovány — the samples were not analyzed

For 1—4 see Tab. I



1. Živá hmotnost brojlerových kuřat během pokusu, při kterém byla zkrmována dieta s přídatkem 850 μg OA $\cdot \text{kg}^{-1}$ po dobu 42 dnů (kohoutci, Slovgal); ● kontrola, × pokus — The liveweight of broiler chicks during the trial when the feed with an addition of 850 μg OA per kg was administered for 42 days [cockrels, Slovgal]; ● control, × trial
¹liveweight, ²age

Zdá se, že existuje nesoulad mezi dosavadním názorem, že kuřata jsou významným článkem přenosu OA potravním řetězcem ke člověku, a našimi zjištěnými skutečnostmi. V krmných pokusech je důležitou hodnotou pro hodnocení výsledků údaj o biologické dostupnosti *p. o.* podaného OA. U křepelek byla zjištěna resorbce 62 % podaného OA (Hagelberg aj., 1989). Galtier aj. (1988) zjistili přímo na kuřatech resorbci ve výši 40 %. Necelá polovina OA v krmivu se tedy vstřebává z trávicího traktu.

INTRAVENÓZNÍ APLIKACE

Výsledky krmného pokusu nás vedly k doplňujícím experimentům, ve kterých jsme se pokusili nepřímo potvrdit výsledky krmného pokusu z hlediska rychlosti eliminace OA z krevní plazmy kuřat. V prvním pokusu jsme podávali OA kuřatům jednorázově, intravenózně dávku 0, 2 a 20 μg OA na kus. U 1. skupiny (kontrolní) nebyla zjištěna rezidua OA v žádném z odběrů. Při dávce 2 μg OA na kus (3. skupina) jsme již při prvním odběru po aplikaci (po 3 h) nestanovili žádný OA v krevní plazmě (citlivost stanovení 0,25 μg OA $\cdot \text{l}^{-1}$). Po aplikaci 20 μg (2. skupina) dosáhla rezidua OA v krevní plazmě při prvním odběru po aplikaci (po 3 h) výše pouze okolo 0,4 $\mu\text{g} \cdot \text{l}^{-1}$. Další odběry již nezachytily žádný OA (méně než 0,25 μg OA $\cdot \text{l}^{-1}$). Provedli jsme proto druhý pokus, doplňující, s dávkou 20 μg OA na kus a odběry jsme prováděli ve velmi krátkých intervalech (10, 30 a 60 min). Již po 30 min klesla hodnota reziduí v krevní plazmě kuřat pod hygienický limit pro dětskou výživu (5 μg OA $\cdot \text{l}^{-1}$). Další odběry nebyly z biologického hlediska na těchto kuřatech možné. Výsledky prvního pokusu (2. skupina) a výsledky druhého pokusu jsou uvedeny v tab. IV, kde jsou kombinované výsledky použity k odhadu toxikokinetických parametrů OA u brojlerových kuřat.

K odhadu těchto parametrů jsme použili otevřený dvoukompartmentový model. Odhad některých parametrů je uveden v tab. IV. Distribuční poločas $t_{1/2}(\alpha)$ je velmi krátký — asi 6 min. Intenzita reziduí v eliminační fázi („biologický poločas“) $t_{1/2}(\beta)$ je 3,3 h a odpovídá již dříve vypočítanému „biologickému poločasu“ 4,1 h (Galtier aj., 1988). Teoreticky

IV. Hodnoty reziduí OA nalezené v krevní plazmě pokusných kuřat po jednorázovém podání 20 μg OA na kus intravenózně [citlivost stanovení byla 0,25 μg OA . l⁻¹ plazmy] a odhad toxikokinetických parametrů — The values of OA residues detected in the blood plasma of experimental chicks after intravenous administration of a single dose of 20 μg OA per chick (the sensitivity of detection was 0.25 μg OA per l plasma) and estimate of toxicokinetic parameters

Čas (min) ¹	μg OA . l ⁻¹ plazmy	Pokus č. ³
0	< 0,25	2
Aplikace 20 μg OA na kus (odpovídá asi 400 μg OA . l ⁻¹ plazmy) ⁴		
10	7,64 $\pm$ 3,11	2
30	1,34 $\pm$ 0,39	2
60	0,56 $\pm$ 0,15	2
180	0,37 $\pm$ 0,21	1
360	< 0,25	1
720	< 0,25	1
2880	< 0,25	1
pokus č. 1⁵ — n = 5 pokus č. 2⁶ — n = 4 Odhad parametrů⁷: (A = 21,831, alfa = 6,84, B = 0,694, beta = 0,21) Velikost plochy pod křivkou⁸ Koncentrace OA⁹ — AUC = 6,5 $\mu\text{g} \cdot \text{h}^{-1} \cdot \text{l}^{-1}$ Celková clearance¹⁰ — CL = 34,2 ml . min⁻¹ . kg⁻¹ ž. h. Zdánlivý distribuční objem¹¹ — V_{d(area)} = 9,8 l . kg⁻¹ ž. h. Odhad poločasů — distribuční¹² — t_{1/2(alfa)} = 0,1 h — eliminační¹³ — t_{1/2(beta)} = 3,3 h		

¹time (min), ² μg OA per l plasma, ³trial no., ⁴administration of 20 μg OA per chick (corresponds to about 400 μg OA per l plasma), ⁵trial no. 1, ⁶trial no. 2, ⁷estimate of parameters, ⁸size of area below the curve, ⁹OA concentrations, ¹⁰total clearance, ¹¹apparent distribution volume, ¹²estimate of half-times — distribution, ¹³elimination

to znamená, že během 12 h by se kuřecí organismus zbavil asi 90 % reziduí OA, za předpokladu nulového příjmu. Zabrání-li se příjmu OA z prostředí (např. podestýlky), lze očekávat nízkou úroveň reziduí, i když je nutné počítat s možností resorbce OA z tráveniny v trávicím traktu i po přerušení příjmu OA z prostředí. Vysoká celková clearance, CL — 34,2 ml . min⁻¹ . kg⁻¹ ž. h., dokumentuje schopnosti kuřat zbavit se přijatého a vstřebaného OA. Zdánlivý distribuční objem byl odhadnut značně vysoký, V_{d(area)} — 9,8 l . kg⁻¹ ž. h. a naznačuje rychlou distribuci do tkání, degradaci a eliminaci OA. Údaje nejsou v úplné shodě s daty zjištěnými na křepelkách (H a g e l b e r g aj., 1989). Námi aplikovaná dávka však byla asi 4× nižší (40× nižší než použil G a l t i e r aj., 1988) a jednalo se o jiný živočišný druh. Námi zvolenou dávkou OA (20 μg na kus = 13,5 $\mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$ ž. h.) považujeme za reálnější pro naše podmínky. Toxikokinetika OA je u kuřat poněkud jiná, než je známo u savců. Velmi pěkně porovnává tyto skutečnosti H a g e l b e r g aj. (1989). Krevní plazma kura domácího není prostředím, kde by OA dlouhodobě persistoval, tak jako je tomu u savců. Dokladem je i práce autorů B a u e r aj. (1988) a S c h o l t y s s e k aj. (1988), kteří u slepic zjišťovali po 4 týdnech krmení krmivem s přídatkem 1300 μg OA . kg⁻¹ krmiva hodnoty pouze 4,7 μg OA . l⁻¹ krevní plazmy.

Literatura

BAUER, J. — NIEMIEC, J. — SCHOLTYSEK, S.: Ochratoxin A im Legehennenfutter. 2. Mitteilung: Rückstände in Serum, Leber und Ei. Arch. Geflügelkde., 52, 1988, s. 71—75.
 COLE, R. J. — COX, R. H.: Handbook of toxic fungal metabolites. New York, Academic Press 1981, s. 137—140.

DUFF, S. R. I. — BURNS, R. B. — DWIVEDI, P.: Skeletal changes in broiler chicks and turkey poult fed diets containing ochratoxin A. Res. veter. Sci., 43, 1987, s. 301 to 307.

GALTIER, P. — ALVINERIE, M.: Toxicokinetics of ochratoxin A in animals. In: Mycotoxins, ecotoxinogenesis, metabolism, mycotoxicosis, prevention, USDA + INRA, Toulouse, 1988, s. 24—25.

GOLINSKI, P. — CHELKOWSKI, J. — KONARKOWSKI, A. — SZEBIOTKO, K.: Mycotoxins in cereal grain. Part VI. The effect of ochratoxin A on growth and tissue residues of the mycotoxin in broiler chickens. Nahrung, 27, 1983, s. 251—256.

HAGELBERG, S. — HULT, K. — FUCHS, R.: Toxicokinetics of ochratoxin A in several species and its plasma-binding properties. J. appl. Toxicol., 9, 1989, s. 91—96.

JANKŮ, I.: Analýza a zpracování farmakokinetických a biofarmaceutických dat. In: ZATHURECKÝ, L. aj.: Biofarmácia a farmakokinetika. Bratislava, Osveta 1989, s. 244 až 372.

KROGH, P.: Causal association of mycotoxic nephropathy. Acta path. microbiol. scand., Sect. A, 1978, s. 17—18.

LUSTER, M. I. — GERMOLEC, D. R. — BURLESON, G. R. — JAMESON, CH. W. — ACKERMANN, M. F. — LAMM, K. R. — HAYES, H. T.: Selective immunosuppression in mice of natural killer cell activity by ochratoxin A. Canc. Res., 47, 1987, s. 2259—2263.
 PHILLIPS, J. C. — GANGOLLI, S. D.: Theory and practice in metabolic studies. In: ENDERSON, D. aj.: Experimental toxicology. The Royal Soc. Chem., Cambridge, 1990, s. 180—200.

PIER, A. C. — McLOUGHLIN, M. E.: Mycotoxic suppression of immunity. In: LACEY, J.: Trichothecenes and other mycotoxins. JOHN WILEY, Chichester, 1985, s. 507—521.

PISKAČ, A. — RUPRICH, J.: Occurrence of aflatoxins and ochratoxin A in feed and food in period 1971—1988. In: The microscopic fungi and their toxic products (mycotoxins) as the factor influencing the health of animals and man, Bull. I, Brno, ČSVTS 1989, s. 1—8.

RÖSCHENTHALER, R. — CREPPY, E. E. — DIRHEIMER, G.: Ochratoxin A: on the mode of action of a ubiquitous mycotoxin. J. Toxicol-Toxin. Rev., 3, 1984, s. 53—86.

RUPRICH, J. — PISKAČ, A.: Příprava mykotoxinu ochratoxin A k výzkumným a diagnostickým účelům. Veter. Med. (Praha), 32, 1987, s. 675—680.

RUPRICH, J. — PISKAČ, A. — MALÁ, J.: Použití radioimunologického stanovení mykotoxinu ochratoxin A ke screeningové kontrole potravin a krmiv rostlinného původu — typu obilovin. Veter. Med. (Praha), 33, 1988, s. 165—173.

SCHOLTYSEK, J. — NIEMIEC, J. — BAUER, J.: Ochratoxin A im Legehennenfutter. 1. Mitteilung: Einfluss auf Legeleistung und Eiqualität. Arch. Geflügelkde., 51, 1987, s. 234—240.

Směrnice č. 69, kterými se mění a doplňují směrnice MZ ČSR — hlavního hygienika ČSR č. 50/1978 sb. Hygienické předpisy o cizorodých látkách v poživatinách, ve znění směrnice č. 63/1984 Sb. Hygienické předpisy. MZ ČSR, Hygienické předpisy, svazek 61, 1986, s. 21.

NATURAL POISONS: Mycotoxins. Official methods of analysis. Assoc. Off Anal. Chem., 1980, s. 428—430.

Došlo dne 19. 12. 1990

RUPRICH, J. — KOŠUTZKÝ, J. — OSTRÝ, V. — KOŠUTZKÁ, E. (Institute of Hygiene and Epidemiology, Brno; Research Institute for Poultry Breeding, Ivanka pri Dunaji): A long-term intake of the mycotoxin ochratoxin A by chicks with respect to its residues in foods and feeds. Veter. Med. (Praha), 36, 1991 (11): 685—693.

A feeding trial was performed with chick broilers (cockerels). The feed with an addition of 850 µg ochratoxin A (OA) per kg was administered for six weeks. The feeding of the chicks stopped twelve hours before slaughter (in keeping with slaughter technology for chicks). Blood, liver and kidney samples were taken. At the end of trial the level of OA residues in the samples did not exceed 5 µg per kg. In other trials the dynamics of OA residues in the blood plasma of chicks was investigated after i. v. implantation at an amount of 2 and 20 µg per chick (1.5 kg lw.). An open

two-compartment model was used to estimate toxicokinetic parameters. The half-time of elimination ($t_{1/2(\text{beta})}$) was about 3.3 hours. The high total clearance (CL) of 34.2 ml/min/kg lw. and apparent distribution volume ($V_{d(\text{area})}$) of 9.8 l/kg lw. demonstrate rapid distribution to the tissues and rapid OA elimination. The results document that neither at a long-term intake of feed contaminated to the level of 850 μg OA per kg will the present hygienic limits of residues for foods be exceeded (5 and 20 μg per kg) if the principles of correct slaughter technology are observed. The blood of chicks used as feed is not an important source of OA in this case.

chicks; feed; ochratoxin A; residues; toxicokinetics

Adresy autorů:

MVDr. Jiří Ruprich, CSc., MVDr. Vladimír Ostrý, CSc., Institut hygieny a epidemiologie, Palackého 1–3, 612 42 Brno
MVDr. Jozef Košutský, DrSc., MVDr. Eugénia Košutská, CSc., Výskumný ústav hydínárstva, 040 01 Ivanka pri Dunaji

Upozorňujeme čtenáře, že v čísle 12/91 časopisu

VETERINÁRNÍ MEDICÍNA

mají být uveřejněny tyto příspěvky:

J. Brouček, L. Novák, K. Kovalčík, D. Gajdošík:
Zmeny biochemických ukazovateľov krvi teliat pod vplyvom nízkych teplôt

M. Benková, Z. Borošková, J. Šoltýs: Imunostimulačné účinky niektorých látok pri experimentálnej askaridóze prasiat

B. Pástorová, A. Staníková, J. Várady: Biochemické a histologické zmeny v hypotalame u hormonálne stimulovaných oviec

J. Zajac, L. Novotná: Vyhodnotenie výsledkov ELISA pri kvantitatívnom stanovení protilátok proti infekčnej burzitíde hydiny

ELISA, HIT a AGPT

V. Míčková: *Listeria monocytogenes* v potravinách

IDENTIFIKACE REZIDUÍ ANTIBIOTIK VE TKÁNÍCH JATEČNÝCH ZVÍŘAT ELEKTROFORÉZOU S BIOAUTOGRAFICKOU DETEKCÍ

J. Hrdlička

HRDLIČKA, J. [Státní veterinární ústav, Jihlava]: *Identifikace reziduí antibiotik ve tkáních jatečných zvířat elektroforézou s bioautografickou detekcí*. Veter. Med. [Praha], 36, 1991 [11]: 695—701.

Sestavili jsme elektroforetickou identifikační mapu antibiotik — penicilin, streptomycin, neomycin, erytromycin, tylosin a tetracykliny. Stanovili jsme minimální inhibiční koncentrace sledovaných antibiotik k testacním bakteriálním kmenům — *Bacillus subtilis* BGA, *Micrococcus luteus* ATCC 9341 a *Bacillus stearothermophilus* v. *calidolactis* C 953. Dosažené výsledky jsme aplikovali na identifikaci reziduí antibakteriálních látek ve tkáních jatečných zvířat, mléce a dalších vzorcích v návaznosti na prováděné detekční mikrobiologické metody plotnové agarové difúze.

jatečná zvířata; rezidua antibiotik; elektroforéza; bioautografie

Výskyt reziduí antibiotik v potravinách a surovinách živočišného původu zvyšuje zdravotní rizika, má ekologicky závažný dopad a způsobuje technologické problémy. V chovech hospodářských zvířat jsou antibiotické preparáty používány s cílem terapeutickým, preventivním a růstově stimulačním. V podmínkách tak široké aplikace antibiotik ve veterinární praxi vzrůstá význam identifikace látek s antibakteriálním účinkem.

Autoři Lingbowa a Rossi (1965) publikovali metodu identifikace antibiotik elektroforézou v agarovém gelu. Sledovaná antibiotika rozdělili elektroforézou do 11 skupin bez možnosti další specifikace uvnitř skupiny. Postup extrakce tří rozdílných skupin antibiotik, výsledky elektroforézy a identifikační mapy antibiotik uvedli Bozzi a Valdebouze (1973). Holec a Limberková (1975) se zabývali metodami průkazu inhibičních látek v mléce a ověřili možnosti identifikace antibiotik a desinfekčních látek elektroforézou. Postup identifikace a kvantifikace směsi antibiotik léčebně použitých v humánní klinické praxi metodou elektroforézy popsali Carlström aj. (1977). Smither a Vaughan (1978) publikovali výsledky identifikace vysokonapětovou elektroforézou několika desítek antibiotik, sulfonamidů a dalších antibakteriálních sloučenin. Uvedli minimální inhibiční koncentrace antibakteriálních látek, rychlost a směr jejich pohybu v závislosti na použití agaru nebo agarózy, ověřili změnu pohyblivosti při dvou odlišných

hodnotách pH migračního pufru a média. Identifikaci antibiotik v mléce popsali Billon a Tao (1979), šest antibiotik identifikovali elektroforézou při různých hodnotách pH pufru a migračního média, detekci provedli třemi bakteriálními testačními kmeny. Metodu extrakce antibiotik z mléka, rozdělení elektroforézou a detekci dvěma testačními kmeny vypracovali Stadhouders aj. (1981). Lott aj. (1985) popsali univerzální extrakci lyofilizovaných vzorků krmiva, mléka a tkání, navrhli předchozí orientační plotnovou mikrobiologickou detekci a uvedli vlastní elektroforetický postup s bioautografií. Autoři Tao a Poumeyrol (1985) publikovali metodu identifikace antibiotik nízkonapětovou elektroforézou, bez použití extrakce tkání jatečných zvířat; detekci prováděli mikrobiologicky.

Cílem práce bylo ověření možností identifikace reziduí antibiotik ve tkáních jatečných zvířat metodou elektroforézy s bioautografickou detekcí v návaznosti na pozitivní záchyt antibakteriálních látek detekčními mikrobiologickými metodami.

MATERIÁL A METODY

V průběhu práce byly použity tyto pomůcky a materiál: souprava pro horizontální elektroforézu, zdroj stejnosměrného napětí do 300 V, skleněné desky $220 \times 160 \times 5$ mm, vlhké komory, kovový rám 210×150 mm, sterilní gáza 210×50 mm, aretovací stolek, korkovrt $\varnothing 14$ mm a další běžné laboratorní potřeby.

— Standardní roztoky antibiotik ($1 \text{ mg} \cdot \text{ml}^{-1}$): vodné roztoky — penicilin-G, streptomycin, neomycin, oxytetracyklin, chlortetracyklin; metanolové roztoky — erytromycin, tylosin. Standardní roztoky byly uchovávány maximálně jeden týden při teplotě $+4^\circ\text{C}$. Pracovní roztoky standardů antibiotik byly čerstvě připravovány ze zásobních roztoků ředěním ve tkáňové tekutině z rozmražených vzorků tkání bez antibakteriální aktivity.

— Veronalový pufr a migrační médium pro elektroforézu, $\text{pH} = 8,6$ (Tao a Poumeyrol, 1985).

— Bakteriální testační kmeny: *Bacillus subtilis* BGA, *Micrococcus luteus* ATCC 9341, *Bacillus stearothermophilus* v. *calidolactis* C 953.

— Detekční živná média (Bogaerts a Wolf, 1980; Prozatímní doplňky veterinárních laboratorních vyšetřovacích metodik, 1982).

Vyšetřili jsme zmražené vzorky tkání (svalovina, játra, ledvina) z léčených a nutně poražených jatečných zvířat, dále vzorky mléka a proplachové vody z dojících aparátů. Po ukončené elektroforéze jsme agarovou desku s rámem položili vodorovně a migrační agar jsme zalili 50 ml testačního agaru s bakteriálním kmenem. Po inkubaci jsme zjistili inhibiční zóny, vyhodnotili jsme směr a rychlost pohybu antibakteriálních látek.

IDENTIFIKACE STANDARDŮ A STANOVENÍ MINIMÁLNÍ INHIBIČNÍ KONCENTRACE (MIC)

Připravili jsme pracovní standardy sledovaných antibiotik. Od každého antibiotika jsme sestavili řadu šesti koncentrací tak, aby předpokládaná hodnota MIC byla uprostřed řady. Provedli jsme elektroforetické dělení samostatně pro každé antibiotikum. Elektroforézu jsme opakovali desetkrát pro každou řadu antibiotických standardů. Detekční kmen, živné médium a jeho pH jsme zvolili podle literárních údajů a našich předchozích výsledků (Hrdlička, 1987, 1988). Zjistili jsme směr, rychlost pohybu standardů antibiotik a hodnoty MIC k testačním kmenům.

Dále jsme provedli identifikaci standardů všech sledovaných antibiotik současně. Vybraná koncentrace standardu od každého antibiotika odpovídala detekční citlivosti použitého testačního kmene. Identifikační schéma jsme sestavili z výsledků dvaceti stanovení.

Ověřili jsme identifikaci antibiotik ze směsi dvou a tří standardů v nejrůznějších kombinacích.

Tkáně léčených a nutně poražených jatečných zvířat jsme vyšetřili mikrobiologickými metodami agarové difúze. Tkáňovou tekutinu získanou z rozmražených pozitivních vzorků jsme použili pro elektroforetickou identifikaci společně s pracovními standardy antibiotik. Bioautografickou detekci jsme přizpůsobili výsledkům předchozích testů agarové difúze. V případě, že byla inhibiční zóna u plotnových metod větší než 15 mm, ředili jsme tuto tkáňovou tekutinu sterilní destilovanou vodou a potom jsme provedli elektroforézu. Vzorky mléka a jiných tekutin jsme vyšetřili stejným postupem. Po inkubaci jsme vyhodnotili výsledek vyšetření vzorku porovnáním se standardy antibiotik.

Při ověřování metody identifikace antibiotik elektroforézou jsme vycházeli z postupu autorů Tao a Poumeyrol (1985). Metodu jsme modifikovali v části detekce. Detekční bioautografii jsme volili podle výsledků předchozího vyšetření mikrobiologickými metodami agarové difúze — čtyřplotnová metoda (Bogaerts a Wolf, 1980) a metoda stanovení inhibičních látek testačním kmenem *B. stearothermophilus* v. *calidolactis* C 953 (Prozatímní doplňky veterinárních laboratorních vyšetřovacích metodik, 1982).

PŘÍPRAVA AGAROVÝCH DESEK A VODICÍCH MOSTŮ PRO ELEKTROFORÉZU

Odmaštěné a sterilní skleněné desky s kovovým rámem jsme položili na vodorovnou plochu stolu. Na plochu skla jsme nalili 50 ml migračního média, tj. 1,6 mm vysoká vrstva agaru. Po ztuhnutí agaru jsme korkovrtem vykrojili šest jamek, vzdálených 5 cm od delšího okraje desky. Odstranili jsme agarové disky a dno jamek jsme uzavřeli minimálním množstvím migračního média. Agarové desky, jednotlivě uloženy ve vlhké komoře, jsme uchovávali při teplotě $+4^{\circ}\text{C}$ maximálně tři týdny. Agarové vodící mosty jsme zhotovili ze dvou pruhů sterilní gázy, které byly na skleněné desce s rámem zality 50 ml migračního agaru.

ELEKTROFORÉZA

Agarovou desku, umístěnou v elektroforetické soupravě, jsme spojili agarovými vodíci mosty s veronalovým pufrům. Do jamek jsme nanášeli po 100 μl roztoku standardu nebo vzorku. Po uzavření byla elektroforéza napojena na zdroj stejnosměrného napětí tak, aby anoda byla na straně desky blíže k řadě jamek. Dělení probíhalo při napětí 180 V, tj. intenzita proudu 50 mA, po dobu jedné až dvou hodin.

BIOAUTOGRAFICKÁ DETEKCE

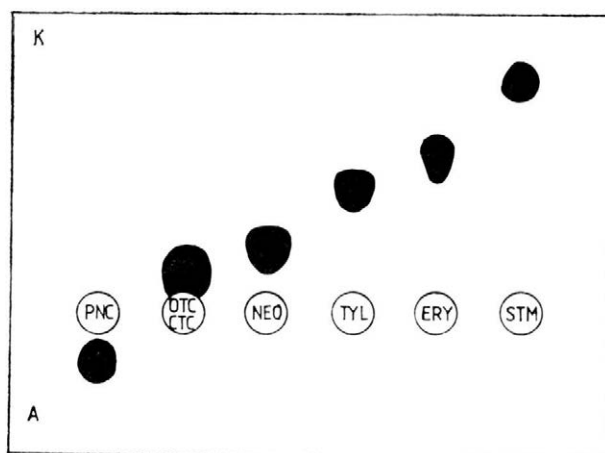
Testační bakteriální kmen, živné médium a jeho pH jsme zvolili podle výsledků předchozích mikrobiologických metod agarové difúze (Bogaerts a Wolf, 1980; Prozatímní doplňky veterinárních laboratorních vyšetřovacích metodik, 1982).

VÝSLEDKY A DISKUSE

Obr. 1 znázorňuje výsledky identifikace sledovaných standardů antibiotik. Pouze penicilin-G vykazoval anodický směr pohybu. Rychlost pohybu antibiotik katodickým směrem rostla v pořadí: tetracyklinová antibiotika, neomycin, tylosin, erytromycin a streptomycin.

Směr a rychlost pohybu antibiotik autoři Tao a Poumeyrol (1985) neuvádějí. Anodický směr pohybu penicilinu-G, případně dalších beta-laktamových antibiotik potvrzují Bozzi a Valdebouze (1973), Holec a Limberková (1975), Smither a Vaughan (1978). Rychlost a směr pohybu antibiotik závisí především na použitém migračním médiu — agar nebo agaróza, hodnotě pH migračního média i pufru a na podmínkách elektroforetického dělení. Vzhledem k odlišným postupům jsou proto literární údaje i námi dosažené výsledky srovnatelné pouze orientačně.

Při identifikaci antibiotik ze směsi dvou nebo tří standardů jsme nezaznamenali rozdíly ve směru a rychlosti pohybu jednotlivých antibiotik



1. Schéma identifikace antibiotik — Diagramme of antibiotic identification

- PNC — penicilin-G — penicillin-G
 OTC — oxytetracyklin — oxytetracycline
 CTC — chlortetracyklin — chlortetracycline
 NEO — neomycin — neomycin
 TYL — tylosin — tylosin
 ERY — erytromycin — erythromycin
 STM — streptomycin — streptomycin

ve srovnání s jejich samostatným dělením. Větší rozdíly v pohyblivosti, např. směs penicilin-G + streptomycin + neomycin, umožňovaly výrazné rozdělení a jednoznačnou identifikaci. Tetracyklinová antibiotika — oxytetracyklin a chlortetracyklin, jsme elektroforézou neidentifikovali jednotlivě, ale pouze jako skupinu.

Údaje autorů Bozzi a Valdebouze [1973], Stadhouders aj. [1981] rovněž potvrzují pouze skupinovou identifikaci tetracyklinů. Smither a Vaughan [1978] uvádějí identifikaci jednotlivých tetracyklinů elektroforézou v agaru nebo agaróze při pH 8,0 a napětí 1200 V.

Tvar inhibičních zón rozdělených standardů antibiotik byl kruhovitý nebo mírně eliptický. Skupina tetracyklinových antibiotik vykazovala neostrý okraj inhibiční zóny s bifázickým útlumem, okraje inhibičních zón ostatních antibiotik byly ostré.

Výsledky stanovení minimálních inhibičních koncentrací (MIC) zachycuje tab. I. Volba testačních kmenů vycházela z předpokládané návaznosti elektroforézy na detekční mikrobiologické metody agarové difúze. V případě penicilinu-G jsme použili testační kmen *B. stearothermophilus* v. *calidolactis* C 953, který je vysoce senzitivní k reziduům beta-laktamových antibiotik a je ve veterinárních laboratořích ČSFR součástí metody detekce reziduí inhibičních látek. Aminoglykosidová antibiotika a tetracykliny jsme detekovali kmenem *B. subtilis* BGA, s odlišnými hodnotami pH testačního média. Makrolidová antibiotika jsme detekovali kmenem *M. luteus* ATCC 9341. Oba kmeny jsou součástí čtyřplotnové metody, používané v zahraničí a postupně zaváděné v našich laboratořích.

Testační kmen *M. luteus* ATCC 9341 doporučují pro detekci makrolidů rozdělených elektroforézou Bozzi a Valdebouze [1973], Smither a Vaughan [1978], Lott aj. [1985], Tao a Poumeyrol [1985]. V případě detekce tetracyklinů je používán kmen *B. cereus* v. *mycoides* ATCC 11778 [Bozzi a Valdebouze, 1973; Smither a Vaughan, 1978; Lott aj., 1985]. Pro tento kmen jsou uváděny hodnoty MIC chlortetracyklinu $0,05 \mu\text{g} \cdot \text{ml}^{-1}$ [Billon a Tao, 1979], MIC chlortetracyklinu $0,1 \mu\text{g} \cdot \text{ml}^{-1}$, MIC oxytetracyklinu $1,0 \mu\text{g} \cdot \text{ml}^{-1}$ [Stadhouders aj., 1981], MIC chlortetracyklinu $0,04 \mu\text{g} \cdot \text{ml}^{-1}$, MIC

I. Stanovení minimální inhibiční koncentrace antibiotik (MIC) — Determination of minimum inhibiting concentrations (MIC) of antibiotics

Antibiotikum ¹	Testační kmen ²	pH de- tekčního živného média ³	Inkubace ⁴ °C/h	MIC
Penicilin-G	<i>B. subtilis</i> BGA	6	31/18	0,125 IU . ml ⁻¹
	<i>B. stearothermo- phillus v.calido- lactis</i> C 953	8	55/18	0,007 IU . ml ⁻¹
Streptomycin	<i>B. subtilis</i> BGA	8	31/18	0,5 — 1,0 μ g . ml ⁻¹
Neomycin	<i>B. subtilis</i> BGA	8	31/18	0,5 μ g . ml ⁻¹
Oxytetracyklin	<i>B. subtilis</i> BGA	6	31/18	0,25—0,5 μ g . ml ⁻¹
Chlortetracyklin	<i>B. subtilis</i> BGA	6	31/18	0,06 μ g . ml ⁻¹
Erytromycin	<i>B. subtilis</i> BGA	8	31/18	0,25 μ g . ml ⁻¹
	<i>M. luteus</i> ATCC 9341	8	37/18	0,015 μ g . ml ⁻¹
Tylosin	<i>M. luteus</i> ATCC 9341	8	37/18	0,25 μ g . ml ⁻¹

¹antibiotics, ²tester-strain, ³pH of detection nutrient medium, ⁴incubation

oxytetracyklinu 0,2 μ g . ml⁻¹ (Hrdlička, 1987). Této detekční citlivosti dosahuje námi použitý kmen *B. subtilis* BGA. V bioautografické části metody jsme využili naše dosavadní výsledky (Hrdlička, 1988) a početné literární údaje z oblasti detekce antibakteriálních látek mikrobiologickými metodami.

Tab. II shrnuje počty vyšetřených vzorků elektroforézou. Vzorky svaloviny a orgánů pocházely z léčených a nutně poražených jatečných zvířat. Do skupiny „ostatní“ jsme zařadili vzorky mléka a proplachové vody z dojících aparátů. Anamnestické údaje byly většinou neúplné, pouze asi u 10 % vzorků bylo uvedeno použité léčivo. Vzorky jsme vyšetřili mikrobiologickými metodami agarové difúze na přítomnost inhibičních látek, v případě pozitivního nálezu byla inhibiční látka identifikována elektroforézou.

Tab. III uvádí výsledky identifikace reziduí antibiotik ve vzorcích. Z celkového počtu 158 vzorků jsme v 72 případech identifikovali jednotlivé antibiotikum nebo směs antibiotik. Nejčastěji se jednalo o rezidua penicilinu v kombinaci se streptomycinem, rezidua penicilinu samostatně a dále skupinu tetracyklinových antibiotik. V 18 vzorcích jsme nezjistili rezidua námi sledovaných antibiotik a inhibiční látku jsme neurčili. Vyšetření elektroforézou bylo u 68 vzorků negativní, přestože se jednalo o vzorky s pozitivním nálezem inhibičních látek, zjištěných předchozími detekčními metodami. Významnou úlohu zde zřejmě hrají neantibiotické látky s antibakteriálním účinkem — jiná léčiva, cizorodé chemické látky i tzv. „přirozené inhibitory“, inhibující růst testačních kmenů plotnových difúzních metod. Námi ověřovanou modifikací elektroforézy jsme tuto skupinu látek neidentifikovali — 18 vzorků nebo nedetekovali — 68 vzorků.

II. Přehled vyšetřených vzorků — A survey of examined samples

Vzorek ¹	Počet vzorků ²
Svalovina ³	61
Játra ⁴	30
Ledvina ⁵	47
Ostatní ⁶	20
Celkem vyšetřeno ⁷	158

¹sample, ²number of samples, ³flesh, ⁴liver, ⁵kidney, ⁶other samples, ⁷examined total

III. Výsledky elektroforetické identifikace reziduí antibiotik ve vzorcích — The results of electrophoretic identification of antibiotic residues in the samples

	Počet vzorků ¹
Penicilin	15
Penicilin + streptomycin	21
Penicilin + streptomycin + tetracykliny	1
Streptomycin	9
Streptomycin + tylosin + neidentifikovaná inhibiční látka ²	3
Neomycin	3
Tetracykliny	10
Tetracykliny + penicilin	2
Erytromycin	3
Tylosin	3
Tylosin + penicilin	2
Neidentifikovaná inhibiční látka ²	18
Negativní výsledek ³	68

¹number of samples, ²unidentified inhibitory substance, ³negative effect

Identifikaci antibiotik elektroforézou s následnou detekcí bioautografií považujeme za alternativní multidetekční metodu zjišťování antibiotik. Exaktnost metody je možné zvýšit chemickou extrakcí, dalšími separačními postupy a využitím kvalitního přístrojového vybavení pro vysoko-napěťovou elektroforézu s denzitometrickou kvantifikací výsledků. V těchto směrech chceme pokračovat a metodicky zkvalitnit úroveň laboratorní diagnostiky v oblasti kontroly reziduí antibakteriálních látek.

Literatura

- BILLON, J. — TAO, S. H.: Détection des antibiotiques dans le lait — Identification et dosage par la méthode électrophorétique. *Le Lait*, 587, 1979, s. 361—375.
- BOGAERTS, R. — WOLF, F.: A standardized method for the detection of residues of anti-bacterial substances in fresh meat. *Fleischwirtschaft*, 60, 1980, s. 672—674.
- BOZZI, F. — VALDEBOUZE, P.: Méthode d'identification des antibiotiques dans les aliments des animaux par électrophorèse sur gélose. *J. Chromatogr.*, 87, 1973, s. 305—310.
- CARLSTRÖM, A. — DORNSBUCH, K. — HAGELBERG, A.: Use of electrophoresis in the identification and quantification of antibiotics administered in combination. *Scand. J. Infect. Dis.*, 1977, s. 46—54.
- HOLEC, J. — LIMBERKOVÁ, V.: Diferenciace antibiotik a jiných inhibičních látek v mléku. [Závěrečná zpráva.] Brno, Vysoká škola veterinární 1975. 59 s.
- HRDLIČKA, J.: Zjišťování reziduí tetracyklinů ve tkáních jatečných zvířat metodou TLC a mikrobiologickou metodou agarové difúze. In: Sbor. věd. Prací ÚSVÚ Praha, 1987, č. 17, s. 94—98.
- HRDLIČKA, J.: Možnosti zjišťování reziduí antibiotik ve tkáních jatečných zvířat — zkušenosti s některými metodami ve SVÚ Jihlava. In: Sbor. Ref. Veterinární farmaka z hlediska hygieny potravin. Brno, 1988, s. 35—39.
- LIGHTBOWN, J. W. — ROSSI, P.: The identification and assay of mixtures of antibiotics by electrophoresis in agar gel. *Analyst*, 90, 1965, s. 89—98.
- LOTT, A. F. — SMITHER, R. — VAUGHAN, D. R.: Antibiotic identification by high voltage electrophoresis bioautography. *J. Assoc. off. analyt. Chem.*, 68, 1985, s. 1018—1020.
- SMITHER, R. — VAUGHAN, D. R.: An improved electrophoretic method for identifying antibiotics with special reference to animal tissues and animal feeding stuffs. *J. appl. Bact.*, 44, 1978, s. 421—429.
- STADHOUDERS, J. — HASSING, F. — GALESLOOT, T. E.: An electrophoretic method for the identification of antibiotic residues in small volumes of milk. *Netherl. Milk. and Dairy J.*, 35, 1981, s. 23—33.
- TAO, S. H. — POUMEYROL, M.: Méthodes de détection des antibiotiques dans les viandes par électrophorèse. *Recu. Méd. vétér.*, 161, 1985, s. 457—463.
- Prozatímní doplňky veterinárních laboratorních vyšetřovacích metodik, sv. II, Praha, ÚSVÚ 1982, s. 101—103.

Došlo dne 7. 11. 1990

HRDLIČKA, J. [State Veterinary Institute, Jihlava]: *Identification of antibiotic residues in the tissues of slaughter animals by bioautographic detection electrophoresis*. *Veter. Med. [Praha]*, 36, 1991 (11): 695—701.

An electrophoretic identification chart of the antibiotics penicillin, streptomycin, neomycin, erythromycin, tylosin and tetracyclines was made. Minimum inhibiting concentrations of the above antibiotics were determined for the bacterial tester-strains *Bacillus subtilis* BGA, *Micrococcus luteus* ATCC 9341 and *Bacillus stearothermophilus* v. *calidolactis* C 953. The obtained results were applied to identify residues of anti-bacterial substances in the tissues of slaughter animals, milk and other samples, as a follow-up of detection microbiological methods of plate agar diffusion.

slaughter animals; antibiotic residues; electrophoresis; bioautography

Adresa autora:

MVDr. Josef Hrdlička, Státní veterinární ústav, Rantířovská 93, 586 05 Jihlava

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 nechť se vyvarují nadměrného množství tabulek a zařazují raději grafy.

Technická úprava rukopisu

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

Úprava vlastní práce

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

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

Souhrn

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

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

Klíčová slova (Key words, index terms)

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

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

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

Úvod

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

Materiál a metody

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

Výsledky

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

Diskuse

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

Poděkování

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

Literatura

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

Literatura musí odpovídat ČSN 01 0197.

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

Adresa autora

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



**CHCETE PODNIKAT
A NEVÍTE JAK NA TO?
NEVÍTE S KÝM,
NEVÍTE ZA CO,
PŘIJĎTE — JE TU
A D E K O !!!**

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

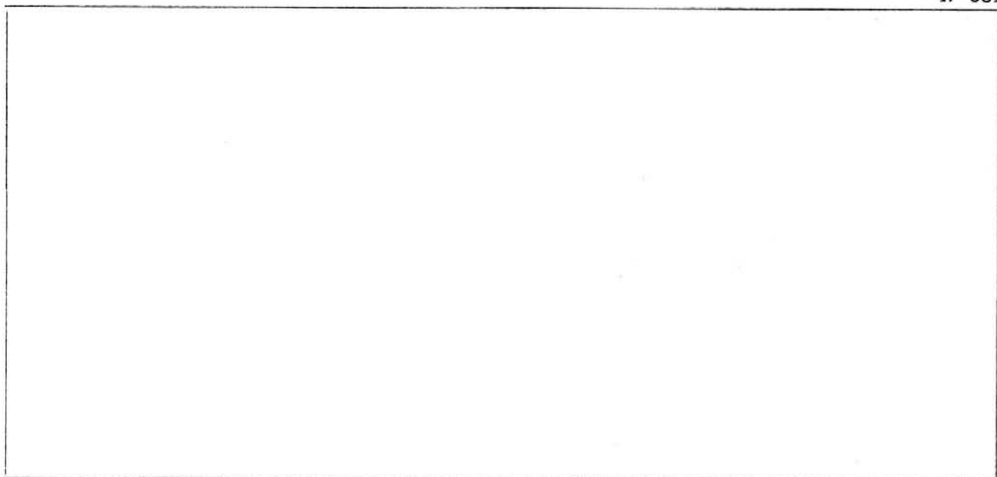
A D E K O a. s.

Slezská 7

120 56 PRAHA 2

Telefon: 25 83 42

Fax: 25 92 70



Rukopisy odevzdány k tisku 9. 12. 1991 — Podepsáno k tisku 3. 3. 1992

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 TISKÁRNÝ, 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. Májna 206, 709 90 Ostrava 9.