

VĚDECKÝ ČASOPIS



VETERINÁRNÍ MEDICÍNA

12

ROČNÍK 36 (LXIV)
PRAHA
PROSINEC 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 Hoffrek, 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

Brouček J., Novák L., Kovalčík K., Gajdošík D.: Zmeny biochemických ukazovateľov krvi teliat pod vplyvom nízkych teplôt	705
Benková M., Borošková Z., Šoltýs J.: Imunostimulačné účinky niektorých látok pri experimentálnej askarióze prasiat	717
Pástorová B., Staníková A., Várady J.: Biochemické a histologické zmeny v hypotalame u hormonálne stimulovaných oviec	725
Zajac J., Novotná L.: Vyhodnotenie výsledkov ELISA pri kvantitatívnom stanovení protilátok proti infekčnej burzitíde hydiny	737
Míčková V.: <i>Listeria monocytogenes</i> v potravinách	745

RECENZE

Sova Z.: L. Slanina, J. Sokol: Vademecum veterinárního lékaře	716
---	-----

CONTENTS

Brouček J., Novák L., Kovalčík K., Gajdošík D.: Variations of biochemical indicators of calf blood as a result of low temperatures	714
Benková M., Borošková Z., Šoltýs J.: Immunostimulative effects of some substances in pigs with experimental ascariasis	724
Pástorová B., Staníková A., Várady J.: Biochemical and histological changes in the hypothalamus of hormonally stimulated ewes	736
Zajac J., Novotná L.: Evaluation of ELISA results at quantitative determination of antibodies to infectious bursal disease virus	743
Míčková V.: <i>Listeria monocytogenes</i> in foods	750

ZMENY BIOCHEMICKÝCH UKAZOVATEĽOV KRVÍ TELIAT POD VPLYVOM NÍZKÝCH TEPLÔT

J. Brouček, L. Novák, K. Kovalčík, D. Gajdošík

BROUČEK, J. — NOVÁK, L. — KOVALČÍK, K. — GAJDOŠÍK, D. [Výskumný ústav živočíšnej výroby, Nitra]: *Zmeny biochemických ukazovateľov krvi teliat pod vplyvom nízkych teplôt*. Veter. Med. [Praha], 36, 1991 (12): 705—715.

20 teliat — jalovičiek holštajnsko-frízkeho plemena a krížencov so slovenským strakatým plemenom sa v priemernom veku 19 dní rozdelilo do dvoch skupín. Pokusná skupina bola ustajnená v drevených vonkajších búdach a kontrolná v zateplenom teľatníku. Krv sa odoberala vo veku 20, 33, 48 a 60 dní pri vonkajších teplotách 3, -2, -5 a -8 °C. U teliat z búd sa zistili signifikantne vyššie hladiny neesterifikovaných mastných kyselín v porovnaní s kontrolnou skupinou. Najväčší rozdiel sa pozoroval pri teplote -8 °C ($271 \mu\text{mol} \cdot \text{l}^{-1}$ oproti $224 \mu\text{mol} \cdot \text{l}^{-1}$). Podobný trend sa evidoval aj u glykémie, najväčšia diferenciacia bola pri teplote -5 °C ($4,3 \text{ mmol} \cdot \text{l}^{-1}$ oproti $3,9 \text{ mmol} \cdot \text{l}^{-1}$). Koncentrácia inzulínu sa postupne zvyšovala s vekom. Signifikantné zvýšenie hladiny trijódtyronínu sa u pokusnej skupiny prejavilo až pri teplote -8 °C ($0,85 \text{ nmol} \cdot \text{l}^{-1}$ oproti $0,64 \text{ nmol} \cdot \text{l}^{-1}$) a podobný stav bol aj pri stanovení obsahu tyroxínu ($66,3 \text{ nmol} \cdot \text{l}^{-1}$ oproti $52,9 \text{ nmol} \cdot \text{l}^{-1}$). Vplyvom nízkych teplôt sa evidovali zmeny v natrémii a kalémii, najširší pomer, štatisticky preukazný, medzi sodíkom a draslíkom sa zistil pri teplote -2 °C (31,0 a 27,4).

teľatá; nízke teploty; neesterifikované mastné kyseliny; glukóza; tyroxín

Pre hodnotenie reakcie zvierat na extrémne nízke teploty je okrem zootechnických ukazovateľov a správanie sa dôležité tiež sledovanie homeostázy. Indikátormi eventuálnych zmien stálosti vnútorného prostredia sú hematologické a biochemické ukazovatele a hormóny. S poklesom teploty okolia pod zónu termoneutrality stúpajú tepelné straty a musia byť vyrovňované aktívnym pôsobením termoregulačných mechanizmov. Keď nestačí na udržanie telesnej teploty zamedzenie výdaja tepla, zvyšuje sa jeho produkcia chvením svalov, alebo u zvierat adaptovaných na chlad netrasovou termogenezou. Termogénna bez svalového chvenia je vyvolávaná predovšetkým kalorigénnym účinkom noradrenalinu. Stimuláciou sympatiku sa vyplaví z drene nadobličiek katecholamíny, po interakcii noradrenalinu s bunkovou membránou sa aktivuje adenylcykláza [Janáček, 1966]. Zvyšuje sa tvorba 3,5-adenozínmonofosfátu, nastáva lipolýza a uvoľňovanie neesterifikovaných mastných

kyselín z depotných zásob (Horwitz, 1971). Veľký význam má aj inzulín svojím kalorigénnym účinkom, predovšetkým na pečeň, svaly a mozog. Zvyšuje aj oxidačný metabolizmus bieleho tukového tkaniva (Janský, 1973), Johnson (1986) a Groth (1984) zistili, že na tejto termoregulácii majú najväčší podiel hormóny štítnej žľazy. Ich pôsobením sa zvyšuje intenzita metabolizmu. Zvyšuje sa spotreba kyslíka v tkanivách a indukuje sa činnosť $\text{Na}^+ \text{K}^+$ pumpy v bunčných membránach (Kriesten, 1981). Zvýšenie úrovne celkového metabolizmu zlepšením oxidačnej činnosti vplyvom štítnej žľazy dokázal Roberts-haw (1981). Hormóny štítnej žľazy tyroxín a trijódtyronín zabezpečujú mobilizovanie energetických zdrojov zasahovaním do glycidového, bielkovinového a lipidového metabolizmu. Nízka teplota pôsobí ako stresový faktor, aktivuje sa os hypotalamus—hypofýza—nadobličky, zvyšuje sa aktivita tyreoidy (Girardier a Stock, 1983). Brouček a i. (1987) zistili u jalovic chovaných v otvorenej, nezateplenej maštali pri teplotách až -10°C , významné zvýšenie obsahu neesterifikovaných mastných kyselín a tyroxínu. Priamy negatívny dopad na úžitkovosť zvierat má chemická termoregulácia odčerpávaním časti energie, ktorá by inak slúžila na rast živej hmotnosti. Kariya a i. (1985) zistili už pri krátkodobom nízkotepeľnom strese (6 hodín pri teplote -10°C) zvýšenie celkových bielkovín, cholesterolu a hematokritu.

MATERIÁL A METÓDA

Použilo sa 20 teliat — jalovičiek holštajnsko-frízskeho plemena a krížencov so slovenským strakatým plemenom s vyšším podielom zušľachťujúceho plemena. Priemerný vek pri naskladnení bol 19 dní. Teľce boli rozdelené do dvoch skupín po 10 kusov, pričom sa zohľadnil ich vek a živá hmotnosť. Pokusná skupina bola ustajnená v individuálnych drevených vonkajších búdach s podstielaním, kontrolná v zateplenom tefatníku voľne v kotercoch na hlbokoj podstielke. Napájanie mliečnou kŕmnom zmesou Laktavit bolo individuálne dvakrát denne, štartérová kŕmna zmes a seno sa podávali do chuti. Odstav od mliečnej výživy sa previedol vo veku 50 dní. Uskutočnili sa štyri pozorovania vo veku 20, 33, 48 a 60 dní, pri vonkajších teplotách 3, -2 , -5 a -8°C . Krv sa odoberala vždy o 8. hodine ráno. V krvi sa stanovovala glukóza Bio-La—testom, v sére neesterifikované mastné kyseliny (Brenner a Reinhardt, 1976), sodík, draslík a vápnik plameňovou fotometriou. Analýza trijódtyronínu a tyroxínu sa prevádzala rádiomunologickou metódou pomocou súprav ÚRVJT Košice, inzulín kítom IAE—IPRC Otwock, Poľsko a cyklický adenosínmonofosfát súpravou ÚVVVR Praha.

VÝSLEDKY

Zo sledovania koncentrácie neesterifikovaných mastných kyselín (tab. I) vidno, že teľce ustajnené v búdach, kde bola vždy nižšia teplota ako v zateplenom objekte, mali vo všetkých pozorovaniach vyššiu hladinu tohoto ukazovateľa. Najväčší rozdiel vysoko preukazný sa stanovil vo veku 60 dní pri vonkajšej teplote -8°C ($271 \mu\text{mol} \cdot \text{l}^{-1}$ oproti $224 \mu\text{mol} \cdot \text{l}^{-1}$), ale aj v prvom a treťom odbere krvi pri teplotách 3°C a -5°C sa zistili signifikancie. U prvej skupiny boli vysoko preukazné rozdiely medzi prvým a štvrtým a druhým a štvrtým odberom. U teliat zo zatepleného objektu bol preukazný rozdiel medzi prvým a štvrtým pozorovaním, pretože aj tu sa postupne mierne zvyšoval obsah voľných mastných kyselín.

I. Obsah neesterifikovaných mastných kyselín (NEMK) a adenosínmonofosfátu v krvnej plazme sledovaných skupín teliat —
The content of nonesterified fatty acids (NEFA) and adenosine monophosphate in the blood plasma of the observed groups of calves

Ukazovateľ ¹	Vonkajšia teplota a priemerný vek ²								Preukaznosť rozdielov v rámci skupiny ³
	3 °C, 20 dní		—2 °C, 33 dní		—5 °C, 48 dní		—8 °C, 60 dní		
	búdy ⁴	zateplený objekt ⁵	búdy ⁴	zateplený objekt ⁵	búdy ⁴	zateplený objekt ⁵	búdy ⁴	zateplený objekt ⁵	
NEMK ⁶ [μmol · l ⁻¹]	$\bar{x}$ s % d t—test	224,0 35,6 15,9 36,0 2,364+	188,0 31,4 16,7 15,7 197,0 33,1 17,6 14,0 0,887	211,0 33,1 15,7 15,7 243,0 38,4 15,7 207,0 26,5 12,8 36,0 2,441+	271,0 27,7 10,2 224,0 32,1 14,3 47,0 3,469++	271,0 27,7 10,2 224,0 32,1 14,3 47,0 3,469++	271,0 27,7 10,2 224,0 32,1 14,3 47,0 3,469++	271,0 27,7 10,2 224,0 32,1 14,3 47,0 3,469++	búdy ⁴ 1:4++ 2:4++ objekt ⁵ 1:4+
Adenosín- monofosfát ⁷ [μmol · l ⁻¹]	$\bar{x}$ s % d t—test	10,3 2,0 19,7 9,0 1,8 19,8 1,3 1,513	12,1 2,7 22,2 12,1 2,2 18,3 0,0 0,063	11,5 3,0 16,5 10,0 2,3 22,9 1,5 1,256	12,9 2,8 22,0 11,5 1,9 16,3 1,4 1,316	12,9 2,8 22,0 11,5 1,9 16,3 1,4 1,316	12,9 2,8 22,0 11,5 1,9 16,3 1,4 1,316	12,9 2,8 22,0 11,5 1,9 16,3 1,4 1,316	búdy ⁴ 1:4+ 1:4+ objekt ⁵ 1:2++

+ P < 0,05

++ P < 0,01

¹ parameter, ² outdoor temperature and average age, ³ significance of differences within the group, ⁴ hutch, ⁵ insulated building, ⁶ NEFA, ⁷ adenosine monophosphate

Hladina adenosínmonofosfátu u obidvoch skupín vykazala zvýšenie vo veku 33 a 60 dní. Následkom toho bol u prvej skupiny stanovený preukazný rozdiel medzi prvým a štvrtým odberom a u druhej skupiny zo zatepleného objektu medzi prvým a druhým a prvým a štvrtým odberom. Diferencie medzi pokusnou a kontrolnou skupinou boli nízke a nesignifikantné (tab. I).

Podobne ako u neesterifikovaných mastných kyselín boli aj v prípade glukózy vždy vyššie hodnoty u teliat z bŕd (tab. II). Najvýraznejší rozdiel, signifikantný, sa zistil vo veku 48 dní pri vonkajšej teplote -5°C ($4,3 \text{ mmol} \cdot \text{l}^{-1}$ oproti $3,9 \text{ mmol} \cdot \text{l}^{-1}$). Signifikantné diferencie v rámci skupiny sa zistili len u teliat pokusnej skupiny z bŕd, a to medzi prvým a štvrtým a druhým a štvrtým odberom.

Obsah inzulínu sa postupne zvyšoval vekom zvierat (tab. II). Vo veku 20 dní boli hodnoty prakticky rovnaké u obidvoch skupín ($9,9 \mu\text{UI} \cdot \text{l}^{-1}$ a $10,4 \mu\text{UI} \cdot \text{l}^{-1}$) a najvyššie hladiny sa namerali vo veku 60 dní ($19 \mu\text{UI} \cdot \text{l}^{-1}$ a $15,6 \mu\text{UI} \cdot \text{l}^{-1}$). Rozdiely medzi skupinami boli nepreukazné, najvyššia diferencia sa zistila na konci mliečnej výživy vo veku 60 dní ($19 \mu\text{UI} \cdot \text{l}^{-1}$ u zvierat z bŕd a $15,6 \mu\text{UI} \cdot \text{l}^{-1}$ u teliat zo zatepleného objektu). Jediný signifikantný rozdiel (na úrovni pravdepodobnosti 99 %) v rámci jednotlivých skupín sa vypočítal u teliat z bŕd pri porovnaní prvého a štvrtého odberu krvi.

Koncentrácia hormónu štítnej žľazy trijódtyronínu sa z počiatočných $0,8 \text{ nmol} \cdot \text{l}^{-1}$ a $0,76 \text{ nmol} \cdot \text{l}^{-1}$ znížila u obidvoch skupín na $0,61$ a $0,62 \text{ nmol} \cdot \text{l}^{-1}$. V ďalších dvoch sledovaniach sa u kontrolnej skupiny zo zatepleného objektu zaznamenali minimálne zmeny, naproti tomu sa u zvierat pokusnej skupiny pod vplyvom nízkoteplnej expozície zistilo pri teplotách -5°C zvýšenie na $0,72 \text{ nmol} \cdot \text{l}^{-1}$ a pri ďalšom odbere, ktorý nasledoval po teplotách -8°C , eleváciu na $0,85 \text{ nmol} \cdot \text{l}^{-1}$. Pri tomto pozorovaní bol rozdiel medzi skupinami signifikantný (tab. III). V rámci pokusnej skupiny sa zaevidovala signifikancia v porovnaní druhého a štvrtého odberu.

Pri prvom sledovaní sa u pokusnej skupiny teliat zistila o 11,8 % vyššia hladina tyroxínu ($71,2 \text{ nmol} \cdot \text{l}^{-1}$ a $63,7 \text{ nmol} \cdot \text{l}^{-1}$). V druhom a treťom odbere sa hodnoty u obidvoch skupín rozlišovali len málo (tab. III), o to väčší rozdiel, vysoko signifikantný, sa stanovil vo veku 60 dní a pri vonkajšej teplote -8°C ($66,3 \text{ nmol} \cdot \text{l}^{-1}$ oproti $52,9 \text{ nmol} \cdot \text{l}^{-1}$) — 25,3 %. Podobne ako v predchádzajúcom parametri štítnej žľazy trijódtyronínu sa prejavil preukazný rozdiel medzi druhým a štvrtým odberom u teliat z bŕd.

Natrémia sa u obidvoch skupín pri druhom sledovaní výrazne znížila z pôvodných $142,3 \text{ nmol} \cdot \text{l}^{-1}$ a $138,8 \text{ nmol} \cdot \text{l}^{-1}$ na $135,4 \text{ nmol} \cdot \text{l}^{-1}$ a $132,9 \text{ nmol} \cdot \text{l}^{-1}$. Tento pokles je u obidvoch skupín signifikantný. V ďalších sledovaniach sa koncentrácia sodíka v krvnom sére u zvierat z bŕd mierne zvyšovala, zatiaľ čo u zvierat zo zatepleného objektu výrazne. Následkom toho sa u teliat vo veku 60 dní pri teplote prostredia -8°C zaregistroval preukazný rozdiel $2,3 \text{ nmol} \cdot \text{l}^{-1}$ medzi pokusnou a kontrolnou skupinou (tab. IV).

Hladina draslíka sa v priebehu odchovu u obidvoch skupín zvyšovala (tab. IV), ale zatiaľ čo u teliat zo zatepleného objektu bola táto elevácia postupná a takmer pravidelná, u pokusnej skupiny nastal vo veku 33 dní výrazný pokles a v ďalších odberoch opäť výrazný vzostup. Rozdiel medzi druhým a štvrtým sledovaním je u týchto zvierat signifikantný.

II. Koncentrácia glukózy a inzulínu v krvnej plazme sledovaných skupín teliat — Glucose and insulin concentrations in the blood plasma of the observed groups of calves

Ukazovateľ ¹	Vonkajšia teplota a priemerný vek ²								Preukaznosť rozdielov v rámci skupiny ³	
	3 °C, 20 dní		-2 °C, 33 dní		-5 °C, 48 dní		-8 °C, 60 dní			
	búdy ⁴	zateplený objekt ⁵	búdy ⁴	zateplený objekt ⁵		zateplený objekt ⁵	búdy ⁴	zateplený objekt ⁵		
Glukóza ⁶ [mmol · l ⁻¹]	$\bar{x}$	4,1	3,9	4,1	4,0	4,3	3,9	4,5	4,1	búdy ⁴ 1:4+ 2:4+
	s	0,3	0,4	0,3	0,4	0,2	0,4	0,4	0,5	
	%	6,6	10,3	7,0	9,1	4,6	9,9	8,9	12,0	
	d		0,2		0,1		0,4		0,4	
	t-test		1,428		0,342		2,813+		2,078	
Inzulín ⁷ [μUI · l ⁻¹]	$\bar{x}$	9,9	10,4	15,4	13,4	15,0	13,7	19,0	15,6	búdy ⁴ 1:4++
	s	4,4	5,3	8,1	5,6	5,6	5,9	5,8	6,6	
	%	44,2	50,5	52,6	42,0	37,4	43,6	30,8	42,2	
	d		-0,5		2,0		1,3		3,4	
	t-test		0,221		0,621		0,505		1,226	

+ P < 0,05

++ P < 0,01

For 1—5 see Tab. I; ⁶ glucose, ⁷ insulin

III. Hladina hormónov štítnej žľazy v krvnej plazme sledovaných skupín teliat — The level of thyroid hormones in the blood plasma of the observed groups of calves

Ukazovateľ ¹	Vonkajšia teplota a priemerný vek ²								Preukaznosť rozdielov v rámci skupiny ³
			—2 °C, 33 dní		—5 °C, 48 dní		—8 °C, 60 dní		
	búdy ⁴	zateplený objekt ⁵	búdy ⁴	zateplený objekt ⁵	búdy ⁴	zateplený objekt ⁵	búdy ⁴	zateplený objekt ⁵	
Trijód-thyronín ⁶ [nmol · l ⁻¹]	$\bar{x}$ 0,80 s 0,20 25,70 d 0,04 t —test 0,340	0,76 0,25 32,90 0,04 0,340	0,61 0,18 29,60	0,62 0,13 21,10 —0,01 0,212	0,72 0,14 20,20	0,66 0,22 34,20 0,06 0,706	0,85 0,20 23,60	0,64 0,20 31,10 0,21 2,280+	búdy ⁴ 2 : 4+
Tyroxín ⁷ [nmol · l ⁻¹]	$\bar{x}$ 71,2 s 11,0 15,5 d 7,5 t —test 1,258	63,7 15,4 24,3 7,5 1,258	67,8 10,2 15,1	67,7 15,7 23,2 0,1 0,020	63,4 10,1 16,0	61,2 15,5 25,4 2,2 0,371	66,3 7,0 10,6	52,9 10,2 19,2 13,4 3,411++	objekt ⁵ 2 : 4+

+ $P < 0,05$

++ $P < 0,01$

For 1—5 see Tab. I; ⁶ triiodothyronine, ⁷ thyroxine

IV. Obsah sodíka a draslíka v krvnej plazme sledovaných skupín teliat — Sodium and potassium contents in the blood plasma of the observed groups of calves

Ukazovateľ ¹	Vonkajšia teplota a priemerný vek ²								Preukaznosť medzi odbermi krvi v rámci skupiny ³
	3 °C, 20 dní		— 2°C, 33 dní		—5 °C, 48 dní		—8 °C, 60 dní		
	búdy ⁴	zateplený objekt ⁵	búdy ⁴	zateplený objekt ⁵	búdy ⁴	zateplený objekt ⁵	búdy ⁴	zateplený objekt ⁵	
Sodík ⁶ [mmol · l ⁻¹]	$\bar{x}$ 4,9 s 3,5 % d t—test	142,3 138,8 6,6 4,7 3,5 1,346	135,4 132,9 3,4 1,6 2,5 2,139	137,0 2,4 1,7 —1,5 1,379	135,5 2,5 1,8	137,4 1,6 1,1	139,7 1,8 1,3 —2,3 3,015+	búdy ⁴ 1 : 2+ 1 : 3+ objekt ⁵ 1 : 2+	
Draslík ⁷ [mmol · l ⁻¹]	$\bar{x}$ 0,37 s 8,08 % d t—test	4,59 4,73 0,37 7,79 —0,14 0,827	4,41 4,87 0,54 0,42 8,68 —0,46 2,153	5,00 0,43 8,61 —0,03 0,176	4,97 0,41 8,19	5,09 0,30 5,87	5,05 0,28 5,48 0,04 0,271	búdy ⁴ 2 : 4+	

+ $P < 0,05$

For 1—5 see Tab. I; ⁶ sodium, ⁷ potassium

V. Obsah vápníka a pomer sodíka k draslíku v krvnej plazme sledovaných skupín teliat — Calcium content and sodium to potassium ratio in the blood plasma of the observed groups of calves

Ukazovateľ ¹	Vonkajšia teplota a priemerný vek ²								Preukaznosť medzi odbermi krvi v rámci skupiny ³
	3 °C, 20 dní		-2 °C, 33 dní		-5 °C, 48 dní		-8 °C, 60 dní		
	búdy ⁴	zateplený objekt ⁵	búdy ⁴	zateplený objekt ⁵	búdy ⁴	zateplený objekt ⁵	búdy ⁴	zateplený objekt ⁵	
Pomer sodíka k draslíku ⁶	$\bar{x}$ 31,1 s 2,3 % 7,3 d t -test	29,4 1,9 6,7 1,7 1,772	31,0 3,1 10,1	27,4 2,3 8,4 3,6 2,950+	27,5 2,5 9,3	27,7 2,0 7,2 -0,2 0,263	27,1 1,6 5,9	27,7 1,5 5,6 -0,6 0,912	búdy ⁴ 1 : 3,4+ 2 : 3,4+
Vápnik ⁷ [mmol · l ⁻¹]	$\bar{x}$ 2,69 s 0,32 % 11,90 d t -test	2,50 0,21 8,60 0,19 1,547	2,49 0,21 8,50	2,35 0,13 5,60 0,14 1,722	2,41 0,06 2,60	2,42 0,08 3,50 -0,01 0,330	2,45 0,16 6,70	2,51 0,28 11,30 -0,06 0,517	

+ $P < 0,05$ For 1—5 see Tab I; ⁶ sodium to potassium ratio, ⁷ calcium

Pomer sodíka k draslíku (tab. V) bol v prvých dvoch pozorovaniach vo veku 20 a 33 dní širší u teliat z búd. Najväčší rozdiel, štatisticky preukazný, sa zistil pri druhom odbere krvi pri teplote -2°C (31,0 a 27,4). U pokusnej skupiny boli signifikantné rozdiely v porovnaní medzi sledovaniami.

Kalcinémia sa u pokusnej skupiny s vekom znižovala z $2,69 \text{ mmol} \cdot \text{l}^{-1}$ na $2,41$ až $2,45 \text{ mmol} \cdot \text{l}^{-1}$. U teliat kontrolnej skupiny bol z pôvodných $2,5 \text{ mmol} \cdot \text{l}^{-1}$ pokles na $2,35 \text{ mmol} \cdot \text{l}^{-1}$ vo veku 33 dní a potom nastalo postupné zvyšovanie opäť na $2,51 \text{ mmol} \cdot \text{l}^{-1}$. Žiadny rozdiel nebol štatisticky preukazný (tab. V).

DISKUSIA

Zo sledovaných biochemických ukazovateľov sa medzi telatami z búd a zatepleného teľatníku zistili signifikancie u neesterifikovaných mastných kyselín, glukózy, trijódtyronínu, tyroxínu, sodíku a pomeru sodíka k draslíku. Z literárnych údajov (Janský, 1973; Kriesten, 1981 a ďalší) je známe, že pri nízkych teplotách sa zvyšuje tvorba tepla v svaloch netresovou termogenézou, ktorá je vyvolaná najmä účinkom neurotransmitterov. Najvýraznejším indikátorom tohto javu bola zvýšená koncentrácia neesterifikovaných mastných kyselín u pokusnej skupiny. Pri dlhotrvajúcim pôsobení nízkych teplôt sa zvyšuje intenzita metabolických pochodov, čo dokazuje zvýšený obsah hormónov tyreoidy trijódtyronínu a tyroxínu v krvi zvierat chovaných v extrémnych podmienkach prostredia — v búdach (Johnson, 1986; Robertshaw, 1981; Brouček a i., 1987). Počas aktivizácie osi hypotalamus—hypofýza—nadobličky vplyvom mineralokortikoidov dochádza k zadržovaniu sodíka v organizme, čo sa potvrdilo pri teplote -8°C , kedy mali teľce z búd nižší obsah tohto prvku v porovnaní s kontrolnou skupinou (Girardier a Stock, 1983). Experiment sme uskutočnili v podmienkach prirodzeného vývoja teplôt v mesiacoch január — február. Zhodou okolností sa teploty postupne znižovali, tak že teľatá mali možnosť sa prispôsobiť. Preto sa nedomnievame, že zvyšovanie hladiny neesterifikovaných mastných kyselín u kontrolnej skupiny bolo vyvolané adaptáciou na teploty, ale že to je skôr výrazom vekových zmien. Toto potvrdzuje správanie sa hormónov tyreoidy, ktoré sa u týchto zvierat postupne znižovali. Podobným spôsobom sa môže vysvetliť aj priebeh hladín inzulínu, a to u oboch sledovaných skupín.

Literatúra

- BRENNER, K. V. — REINHARDT, P.: Untersuchungen zur photometrischen Bestimmung und zur Stabilität der freien Fettsäuren im Plasma und Serum von Rind. *Mh. Vet.-Med.*, 31, 1976, č. 18, s. 707—711.
- BROUČEK, J. — KOVALČÍK, K. — GAJDOŠÍK, D.: Vplyv extrémnych teplôt prostredia na hematologické a biochemické ukazovatele u jalovíc. *Veter. Med. (Praha)*, 32, 1987, č. 5, s. 259—268.
- GIRARDIER, L. — STOCK, M. J.: *Mammalian thermogenesis*. Chapman and Hall Ltd., Cambridge, 1983, s. 368.
- GROTH, W.: Der Einfluss des Stallklimas auf Gesundheit und Leistung von Rind und Schwein. *Zbl. Veter. Med., R. B.*, 31, 1984, s. 561—584.
- HORWITZ, B. A.: Brown fat thermogenesis: Physiological control and metabolic basis. In: *Nonshivering thermogenesis*. Praha, 1971, s. 63—65.

- JANSKÝ, L.: Body organ thermogenesis of the rat during exposure to cold and maximal metabolic rate. *Fed. Proc.*, 25, 1966, s. 1297–1302.
- JANSKÝ, L.: Homiothermie a její přizpůsobivost. Praha, Avicenum 1973, 132 s.
- JOHNSON, H. D.: The effects of temperature and thermal balance on milk production. In: MOBERG, G. P. (ed.): Limiting the effects of stress on cattle. Utah State University, Res. Bull., 1986, č. 512, s. 33–45.
- KARIYA, Y. — FURUKAWA, R. — MATSUMOTO, H. — TERUI, S.: Effect of rapid changes of environmental temperature on physiological constituents in cattle exposed to low environmental temperatures. *Bull. Nat. Grassl. Res. Inst.*, 32, 1985, č. 32, s. 70–78.
- KRIESTEN, K.: Aspekte der zitterfreien Thermogenese bei Säugetieren. *Prakt. Tierarzt*, 62, 1981, č. 6, s. 500–505.
- ROBERTSHAW, D.: In: CLARK, J. A.: Environmental aspects of housing for animal production. London, Butterworths 1981, s. 181–192.

Došlo dňa 8. 2. 1991

BROUČEK, J. — NOVÁK, L. — KOVALČÍK, K. — GAJDOŠÍK, D. (Research Institute of Animal Production, Nitra): *Variations of biochemical indicators of calf blood as a result of low temperatures*. *Veter. Med. (Praha)*, 36, 1991 (12): 705–715.

Twenty calves, heifers of the Holstein–Friesian breed and crossbreeds with the Slovak Pied breed, were divided into two groups at the average age of 19 days. The trial group was kept outdoors in wooden hutches and the control group was housed in an insulated building. Blood was sampled at the age of 20, 33, 48 and 60 days at the outdoor temperatures of 3 °C, –2 °C, –5 °C and –8 °C. The calves kept in hutches where temperatures were always lower than in the insulated calf–house had the higher level of nonesterified fatty acids in all observations. The largest, highly significant difference was determined at the age of 60 days at the outdoor temperature of –8 °C (271 μmol/l vs. 224 μmol/l), and the significance of differences was also observed in the first and third blood samplings at the temperatures of 3 °C and –5 °C. The differences were highly significant in the first group between the first and fourth, and second and fourth samplings. In the calves kept in the insulated building the difference was significant between the first and fourth observation because the content of free fatty acids was also gradually increasing in this case (Tab. I). Glycaemia values were also higher in the calves kept in hutches (Tab. II). The most noticeable (significant) difference was determined at the age of 48 days at the outdoor temperature of –5 °C (4.3 mmol/l vs. 3.9 mmol/l). Significant differences within the group were recorded only in calves from the trial group kept in hutches. Insulin concentrations increased gradually with the older age of animals (Tab. II). At the age of 20 days the values were identical in fact in both groups and the highest concentrations were recorded at the age of 60 days. The differences between the groups were not significant, the largest difference was observed at the end of milk feeding period at the age of 60 days (19 μUI/l in calves from hutches and 15.6 μUI/l in calves from the insulated building). Triiodothyronine concentrations decreased from the starting values of 0.8 nmol/l and 0.76 nmol/l in both groups at the age of 33 days to the values of 0.61 and 0.62 nmol/l. In the two following observations the variations in the control group from the insulated calf–house were minimum, on the other hand in the animals of the trial group the low–temperature exposure resulted in an increase to 0.72 nmol/l at –5 °C and in a subsequent sampling which took place following the exposure to –8 °C there was an elevation to 0.85 nmol/l. The difference between the groups in this observation was significant (Tab. III). The thyroxine content was found to be higher in the trial group of calves in the first observation (71.1 nmol/l and 63.7 nmol/l). In the second and third sampling the difference in the values of both groups was small (Tab. III), but the much larger, highly significant difference was determined at the age of 60 days and at the outdoor temperature of –8 °C (66.3 nmol/l vs. 52.9 nmol/l). Similarly like in the above–mentioned parameter of the thyroid gland, triiodothyronine, a significant difference was observed between the second and fourth sampling in calves kept in hutches. Natraemia in both groups markedly decreased in the second observation. At the age of 60 days at the ambient temperature of –8 °C, a significant difference of 2.3 nmol/l between the trial and control groups was recorded (Tab. IV). The potassium content in general was increasing in the course of rearing in both groups (Tab. IV); this elevation was gradual and almost regular in the calves from the insulated building, but in the trial group a marked decrease occurred at the age of 33 days, followed by a marked increase in subsequent samplings.

The sodium to potassium ratio (Tab. V) was wider in the calves from hutches in the first two observations at the age of 20 and 33 days. The largest, statistically significant difference was recorded in the second sampling of blood at the temperature of -2°C (31.0 and 27.4).

calves; low temperatures; nonesterified fatty acids; glucose; thyroxine

Adresa autorov:

Ing. Jan Brouček, CSc., ing. Ladislav Novák, CSc., ing. Kornel Kovalčík, DrSc., MVDr. Dušan Gajdošík, Výskumný ústav živočíšnej výroby, Hlohovská 2, 949 92 Nitra

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.

VADEMECUM VETERINÁRNEHO LEKÁRA

L. Slanina, J. Sokol

Bratislava, *Príroda* 1991. 1182 s.

Ve vydavatelství *Príroda* v Bratislavě vyšla koncem roku 1991 velmi záslužná a potřebná kniha: *Vademecum veterinárního lékaře*. Celkem 92 vybraných odborníků — specialistů pod vedením prof. MVDr. L. Slaniny, DrSc. a doc. MVDr. J. Sokola, CSc., na 1182 stránkách připravili publikaci, bez níž se neobejde nikdo ve veterinární službě, kdo chce vykonávat svou práci na vysoké profesionální úrovni.

„Vade mecum“ v doslovném překladu znamená „kráčeť se mnou“, a to je vlastní náplní a posláním této právě vydané publikace. Kniha soustřeďuje veškerou odbornou problematiku celého rozsahu veterinární medicíny a slouží jako zdroj pohotových informací a návodů, jež umožňují především terénnímu veterinárnímu lékaři, aby se mohl dobře a správně orientovat v preventivní i diagnosticko-terapeutické veterinární medicínské činnosti. Dalším posláním knihy je účinně napomáhat veterinárnímu lékaři i v jeho organizátorské, kontrolní i správní činnosti, a to jak při plnění veterinárních úkolů u soukromých chovatelů, zemědělských družstev i jiných forem zemědělských závodů. Pojednává o ochraně zdraví jednotlivých druhů hospodářských zvířat i celých velkých populací a slouží tak i k produkci zdravotně nezávadných a biologicky vysoce hodnotných potravin jak pro domácí trh, tak pro export.

Vademecum se dělí na čtyři části. V první, všeobecné části, se uvádějí poznatky z veterinární legislativy, technické normalizace, zásady projektování staveb pro hospodářská zvířata, zoohygienické normy, využití počítačů ve veterinární medicíně, základy výživy hospodářských zvířat, vybrané kapitoly z etologie a radiobiologie, autoimunity, veterinární farmakologie a hygieny potravin.

Druhá část soustřeďuje choroby vybraných druhů zvířat, a to drůbeže, ryb, kozeštinových zvířat, lovné zvěře, včel, laboratorních zvířat a zvířat v zoologických zahradách včetně exotického ptactva.

Třetí část obsahuje hesla a syndromy onemocnění hlavních druhů hospodářských zvířat, uspořádané v abecedním pořadí.

Konečně ve čtvrté části, již tvoří hygienický doplněk, se vhodně kompletizují v předchozí kapitole uvedené nosologické jednotky.

Kniha má formát A5 a je psána petitem. Její vydání se dostává do rukou čtenáře po dlouhé době od vydání dvou předchozích (1. vydání — MVDr. P. Laurenčík, 2. vydání — prof. MVDr. K. Friedl), jež byla velmi rychle rozebrána.

U právě recenzovaného 3. vydání je třeba vysoce hodnotit, že se díky slovenským autorům dostává na náš knižní trh kniha dosud chybějící. Vedoucím autorského kolektivu prof. Slaninovi a doc. Sokolovi je třeba poděkovat za mravenčí práci, kterou museli vynaložit při sestavení, rozčlenění, zpracování a zadání celé osnovy a pak i za konečné celkové zpracování a redakční uspořádání této tak potřebné publikace pro naše zemědělské odborníky, a především pak pro veterinární lékaře, v období privatizace veterinární služby.

Prof. MVDr. Dr. h. c. Zdeněk S o v a, DrSc.

IMUNOSTIMULAČNÉ ÚČINKY NIEKTORÝCH LÁTOK PRI EXPERIMENTÁLNEJ ASKARIDÓZE PRASÍAT

M. Benková, Z. Borošková, J. Šoltýs

BENKOVÁ, M. — BOROŠKOVÁ, Z. — ŠOLTÝS, J. (Helmintologický ústav SAV, Košice): *Imunostimulačné účinky niektorých látok pri experimentálnej askaridóze prasiat*. Veter. Med. (Praha), 36, 1991 (12): 717—724.

Autori preskúmali vplyv štyroch imunomodulačných látok biologického pôvodu (purifikovaný glukán, glukán s prasačím imunoglobulínom a zinkom, transferový faktor a vitamín A) na T a B lymfocyty a ich ochranný efekt pri experimentálnej askaridóze prasiat. Skúmané látky stimulovali obidve bunkové populácie v rôznej intenzite a ich ochranný efekt, hodnotený redukciou počtu migrujúcich lariev askaríd v pľúcach, bol od 17 do 65 %. Z nich najefektívnejší bol transferový faktor a glukán s prasačím imunoglobulínom a zinkom. Obidve látky významne aktivovali T a B bunky a redukovali až o 62—65 % počet migrujúcich lariev askaríd v pľúcach hostiteľov. Výsledky sú významné z hľadiska nešpecifického stimulovania imunity pri askaridóze a niektorých iných helmintózach.

prasatá; *Ascaris suum*, T a B lymfocyty; imunomodulačné látky

Výskum látok, ktoré nešpecificky upravujú alebo posilňujú imunitné reakcie zvierat nadobúda vo veterinárnej medicíne mimoriadny význam, a to v súvislosti s narastaním imunosupresívne pôsobiacich činiteľov v živočíšnej veľkovýrobe. Hľadajú sa nové, efektívne prostriedky a spôsoby regulačných zásahov do imunitných dejov s cieľom ich využitia v klinickej praxi.

Aj v helmintológii sa v posledných rokoch venuje výskumu nešpecifickej imunomodulácie veľká pozornosť. Pri modelových helmintózach sa preskúmala imunostimulačný účinok celého radu prípravkov biologického a chemického pôvodu, ich účinok na špecifické i amplifikačné zložky imunitného systému a vplyv na znižovanie intenzity invázie (Grove a Civil, 1978; Mitchell a Armour, 1981; Borošková a i., 1988 a ďalší). Sporadicky sa objavujú i experimentálne práce o pozitívnom efekte imunostimulačných látok pri terapii helmintóz (Gadžieva, 1987).

Cieľom práce bolo porovnať imunostimulačný účinok rôznych látok biologického pôvodu (dva prípravky na báze glukánu, transferový faktor a vitamín A) pri experimentálnej askaridóze prasiat. Zároveň sme sledovali ochranný efekt každej látky, hodnotený redukciou počtu migrujúcich lariev askaríd v pľúcach zvierat.

MATERIÁL A METÓDY

ZVIERATÁ A USPORIADANIE POKUSOV

V štyroch pokusoch sme použili 46 prasiat plemena slovenská biela ušľachtilá ošípaná vo veku štyroch týždňov a hmotnosti 12–14 kg.

Dynamiku T a B buniek sme sledovali na 30 prasatách. Z nich pokusné skupiny (I.–IV.), pre každý prípravok zvlášť, tvorilo 6 prasiat. Kontrolná skupina pre všetky látky pozostávala tak isto zo 6 prasiat.

Pokusné skupiny a kontrolnú skupinu prasiat sme experimentálne invadovali perorálne dávkou 20 000 vajčiek *A. suum* na jedno pokusné zviera.

Percentuálne hodnoty T a B lymfocytov sme sledovali u pokusných a koantrolnej skupiny v periférnej krvi na –1, 1, 2, 5, 7, 9, 12, 15, 19. a 22. deň po experimentálnom invadovaní.

Na zostávajúcich 16 prasatách sme vyhodnotili ochranný efekt každej látky, t. j. redukciu počtu migrujúcich lariev askaríd v pľúcach. Prasatá boli rozdelené na 4 pokusné skupiny (po 2 prasatá) a 4 kontrolné skupiny (po 2 prasatá), pre každú látku osobitne. Pokusné a kontrolné skupiny sme experimentálne invadovali dávkou 5 000 vajčiek na jedno zviera. Na ôsmy deň sme všetky prasatá usmrtili a larvy z pľúc sme získali Baermannovou metódou.

APLIKÁCIA IMUNOMODULAČNÝCH LÁTKOK

1. Purifikovaný glukán zo *Saccharomyces cerevisiae* (Bioveta, Nitra; 1% glukán v 0,25 ml) sme aplikovali intramuskulárne vždy po 0,25 ml · kg⁻¹ ž. h. na jedno zviera v dvoch dávkach takto: prvá dávka — 24 hodín pred invadovaním (–1. deň), druhá dávka na 3. deň po invadovaní (podľa návodu výrobcu).

2. Kombinovaný glukánový prípravok (Bioveta, Nitra; 1% glukán; 7,2 % prasačieho imunoglobulínu; 0,032 % zinku v 0,25 ml) sme podávali intramuskulárne vždy po 0,25 ml · kg⁻¹ ž. h. v dvoch dávkach, v rovnakých časových intervaloch ako pri purifikovanom glukáne.

3. Špecifický transferový faktor (TF), pripravený zo 4.10⁸ buniek izolovaných z 2,5 g lymfoidných orgánov prasiat experimentálne invadovaných *A. suum* (ÚSOL, Praha) sme aplikovali vždy po 2 ml na jedno zviera v rovnakých časových intervaloch ako predchádzajúce prípravky.

4. Vitamín A sa aplikoval perorálne vždy po 15 000 m. j. na jedno zviera po dobu 5 dní. Prasatá sme experimentálne invadovali 24 hodín po poslednej aplikácii vitamínu, a to rovnakou dávkou vajčiek *A. suum* ako pri predchádzajúcich skupinách.

Lymfocyty z krvi sme izolovali podľa Procházkovej [1979]. T a B lymfocyty sme detekovali rozetovými metódami (E a EAC) podľa autorov Stadecker a i. [1973] a Komárek [1979].

Statistickú významnosť priemerných hodnôt oboch druhov imunokompetentných buniek sme hodnotili testom rozdielu relatívnych hodnôt podľa Reisenauera [1970].

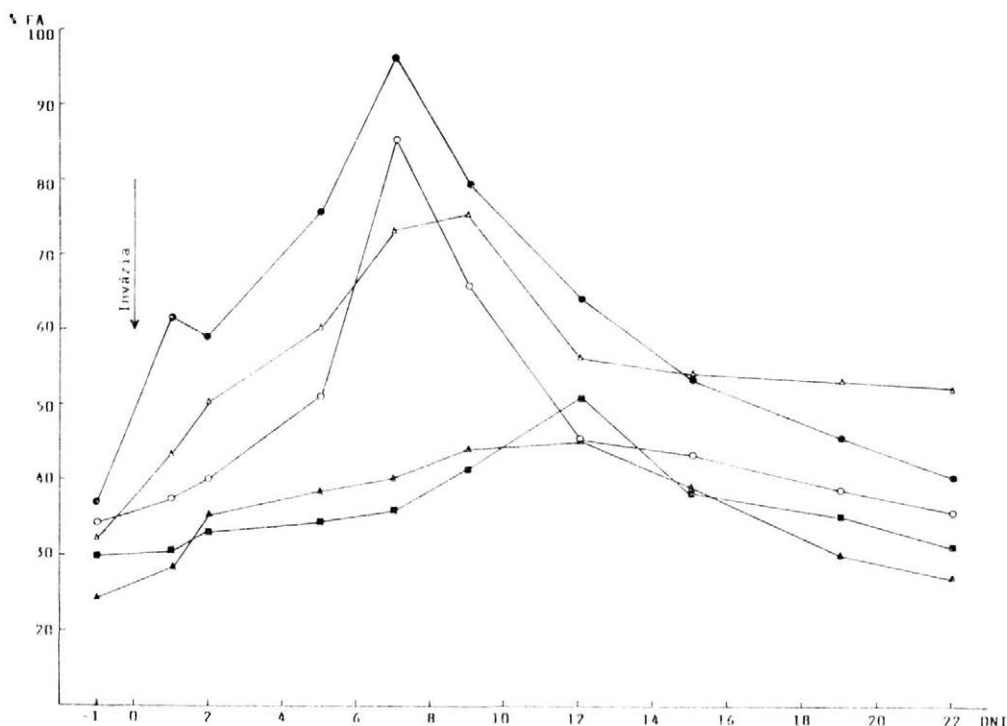
VÝSLEDKY

T BUNKY

Zastúpenie T bunkovej populácie v periférnej krvi prasiat po aplikovaní jednotlivých látok, vyjadrené v percentách počas experimentu, uvádzame v obr. 1.

Purifikovaný glukán

K prvému (miernému) zvýšeniu hodnôt T buniek došlo už na 1. deň po invadovaní (37,5 %), oproti –1. dňu (34,2 %). Hodnoty týchto buniek sa ďalej zvyšovali a dosiahli maximum na 7. deň po invadovaní (85,2 %). Po tomto dni sme zaznamenali pokles hodnôt týchto buniek, ktorý pokračoval až do skončenia pokusu, t. j. do 22. dňa po invadovaní, kedy sledované bunky dosiahli takmer východzie hodnoty (36,0 %).



1. Experimentálna askaridóza ošpaných. Zastúpenie T lymfocytov v periférnej krvi prasiat po aplikovaní rôznych imunomodulačných látok — Experimental ascariasis of pigs. Proportions of T lymphocytes in the peripheral blood of pigs after administration of different immunomodulative substances

Aplikácia látok: purifikovaný glukán, glukán s prasačím imunoglobulínom a zinkom, transferový faktor — I. dávka: 24 h pred invadovaním, II. dávka: na 3. deň po invadovaní. Vitamín A: v piatich dávkach po dobu 5 dní pred invadovaním — Administration of substances: purified glucan, glucan with porcine immunoglobulin and zinc, transfer factor — dose I: 24 h before invasion, dose II: day 3 after invasion. Vitamin A: at five doses within five days before invasion

Vysvětlivky pro obr. 1 a 2 — Explanatory notes to Figs. 1 and 2:

- — purifikovaný glukán — purified glucan
- — glukán s prasačím imunoglobulínom a zinkom — glucan with porcine immunoglobulin and zinc
- △ — transferový faktor — transfer factor
- ▲ — vitamín A — vitamin A
- — kontrolná skupina — control group

Glukán s prasačím imunoglobulínom a zinkom

Prvé zvýšenia hodnôt T lymfocytov sme zaznamenali už 1. deň po aplikovaní (61,6 %), zatiaľ čo východzia hodnota (–1. deň) bola len 37,2 %. Nárast hodnôt týchto buniek pokračoval až do 7. dňa, kedy dosiahol

maximum (96,6 %). V ďalších dňoch sa zastúpenie T buniek postupne znižovalo a na 22. deň pokusu dosiahlo takmer východzie hodnoty (40,8 %).

Transferový faktor

Prvý nárast T buniek sme zistili už na 1. deň po invadovaní (43,0 %), oproti —1. dňu (32,0 %). Výraznejší vzostup tejto populácie sme zistili na 2. deň po invadovaní, ktorý dosiahol maximum na 9. deň (75,0 %). Po tomto dni došlo k fáze poklesu hodnôt týchto imunocelulárnych elementov, ktorá pokračovala až do ukončenia pokusu, ale ich percentuálne zastúpenie značne prekročilo východzie hodnoty (52,0 %).

Vitamín A

Pri tejto látke (podobne ako pri predošlých) došlo k prvému zvýšeniu hodnôt na 1. deň po invadovaní (28,0 %), oproti —1. dňu (24,0 %). V ďalších sledovaných dňoch fáza vzostupu T buniek pokračovala až do 12. dňa, kedy sme zistili ich maximálne hodnoty (45,0 %). Pri nasledujúcich vyšetreniach hodnoty buniek poklesli. Posledný, t. j. 22. deň sledovania, bol počet T buniek najnižší (27,0 %).

B BUNKY

Percentuálne zastúpenie B buniek po aplikácii jednotlivých imunomodulačných látok v periférnej krvi prasiat je znázornené na obr. 2.

Purifikovaný glukán

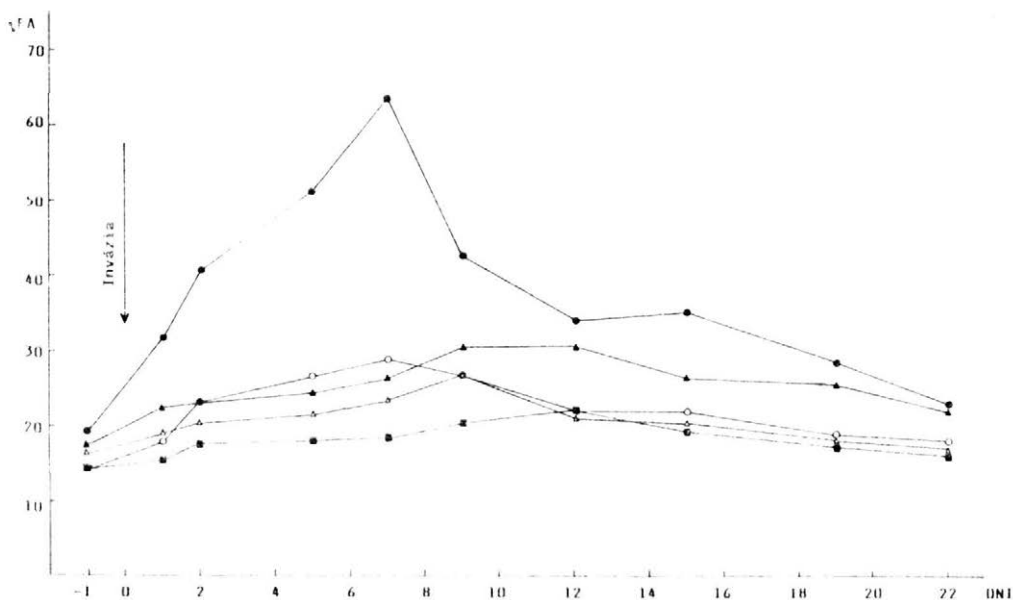
K nárastu hodnôt B bunkovej populácie lymfocytov došlo na 1. deň po invadovaní (18,2 %), oproti 14,7 % v —1. deň. Hodnoty týchto lymfocytov sa ďalej zvyšovali a dosiahli maximum na 7. deň po invadovaní (28,7 %). Po tomto maxime nastúpila fáza poklesu hodnôt B buniek, ktorá pokračovala až do skončenia pokusu, kedy ich percentuálne zastúpenie dosiahlo východzie hodnoty (18,2 %).

Glukán s prasačím imunoglobulínom a zinkom

Prvé zvýšenie hodnôt B lymfocytov sme zistili na 1. deň po invadovaní (31,6 %), oproti 19,6 % v —1. deň. Po dosiahnutí maximálneho percentuálneho zastúpenia týchto buniek na 7. deň (63,6 %), ich hodnoty v ďalších dňoch výraznejšie poklesli k poslednému, t. j. 22. dňu odberu. Na konci experimentu dosiahlo zastúpenie B lymfocytov hodnoty blízke východzím (23,1 %).

Transferový faktor

Mierny nárast hodnôt B lymfocytov sme zistili už na 1. deň po invadovaní (17,0 %), oproti 16,0 % v —1. deň. K výraznejšiemu vzostupu ich hodnôt došlo na 2. a 9. deň, kedy ich hodnoty dosiahli maximum na 9. deň po invadovaní (27,0 %). Počínajúc týmto dňom sme zaznamenali pokles ich percentuálneho zastúpenia až do konca pokusu, kedy hodnoty týchto buniek boli na úrovni východzích hodnôt (17,0 %).



2. Experimentálna askaridóza ošípaných. Zastúpenie B lymfocytov v periférnej krvi prasiat po aplikovaní rôznych imunomodulačných látok — Experimental ascariasis of pigs. Proportions of B lymphocytes in the peripheral blood of pigs after administration of different immunomodulative substances

Vitamín A

Nárast percentuálneho zastúpenia sledovaných buniek sme zaznamenali opäť na 1. deň po invadovaní (18,2 %), oproti 14,7 % (–1. deň). V ďalšie dni pokračovala fáza vzostupu B lymfocytov, s maximom na 7. deň po invadovaní (28,2 %). V nasledujúce dni sa hodnoty týchto buniek znižovali až do skončenia pokusu (22. deň: 18,2 %), kedy dosiahli východzie hodnoty.

V porovnaní s kontrolnou skupinou prasiat boli hodnoty obidvoch bunkových populácií (T a B) pri purifikovanom glukáne, glukáne s prasačím imunoglobulínom a zinkom a TF, signifikantne vyššie ($P < 0,05$ až $0,01$). Rozdiely medzi pokusnou skupinou prasiat a kontrolnou pri vitamíne A boli štatisticky významné ($P < 0,01$) len pri B lymfocytoch.

Ochranný efekt skúmaných látok bol pri purifikovanom glukáne 17,0 percent, glukáne s prasačím imunoglobulínom a zinkom 65,0 %, TF 62,0 percent a vitamíne A 50,0 %.

DISKUSIA

V rámci predklinického výskumu pri experimentálnej askaridóze prasiat sa sledoval imunomodulačný účinok rôznych látok biologického pôvodu (purifikovaný glukán, glukán s prasačím imunoglobulínom a zin-

kom, TF, vitamín A) na T a B bunkovú populáciu. Vyhodnotil sa tiež ochranný efekt skúmaných látok, t. j. vplyv na redukciu počtu lariev askaríd v pľúcach špecifických hostiteľov — prasiat.

Z výsledkov prezentovaných v tejto práci vyplýva, že preskúmané imunomodulačné látky aktivujú v prevažnej miere najdôležitejšie bunky imunitného systému — T a B lymfocyty v rôznej intenzite. Nešpecifická stimulácia týchto buniek v krvi hostiteľov skúmanými látkami posilnila obranné mechanizmy, čo sa v konečnom dôsledku prejavilo i znížením počtu migrujúcich lariev v hostiteľoch od 17 do 65 %. Percentuálne zastúpenie T a B lymfocytov pri purifikovanom glukáne a vitamíne A neboli v korelácii s ich dosiahnutým ochranným efektom. Dynamika obidvoch imunokompetentných buniek pri jednotlivých látkach bola v súlade s askaroidným typom endogénnej migrácie lariev.

Zo štyroch skúmaných imunomodulačných látok sa zistilo, že najefektívnejší z nich je transferový faktor a prípravok na báze glukánu s homologným imunoglobulínom a zinkom. Obidve látky významne stimulovali T a B bunkovú populáciu a mali najvyššie ochranné efekty. Imunostimulačná efektívnosť málo účinného purifikovaného glukánu sa zvýšila jeho kombinovaním so zinkom a prasačím imunoglobulínom, u ktorého sa predpokladá, že nešpecifická stimulácia obranných mechanizmov je významnejšia, ako jeho špecifický účinok (Žuffa a i., 1984).

V porovnaní s našimi predchádzajúcimi pokusmi (Benková a i., 1984; Borošková a i., 1988, 1989), v ktorých sme sledovali dynamiku T a B buniek v priebehu migračnej fázy experimentálnej askaridózy nešpecifických hostiteľov — morčiat (po aplikovaní tých istých imunostimulačných látok), sú hodnoty sledovaných buniek, ako aj ich ochranné efekty pri špecifických hostiteľoch (prasatách) vo väčšine prípadov preukazne vyššie.

Významný je imunostimulačný účinok väčšiny skúmaných látok (purifikovaný glukán, glukán s prasačím imunoglobulínom a zinkom, TF) na obidve bunkové populácie už v prvých dňoch po invadovaní, čo v prípade askaridózy ošípaných, ale aj pri iných helmintózach, predstavuje štádium s najsilnejším patogénnym vplyvom na hostiteľa.

Okrem vplyvu na redukciu počtu parazitárnych červov v hostiteľoch pri modelových helmintózach bola efektívnosť nami sledovaných imunomodulátorov preskúmaná aj z iných hľadísk.

Pri modelových helmintózach bol už dávnejšie dokázaný imunostimulačný vplyv vitamínu A na proteosyntézu a alergické prejavy, hladinu cirkulujúcich protilátok, účinok na rezistenciu a intenzitu pri hypovitaminóze hostiteľov (Leutskaja, 1963; Teplov, 1968; Lešťan a Dubinský, 1975; Dubinský, 1981).

Pri experimentálnej strongylatóze prežúvavcov Ross a Halliday (1979), McKenzie a i. (1982), Hunter a i. (1983) potvrdili protektívny účinok transferového faktora po jeho profylaktickej aplikácii a opísali alergické zmeny v sleze hostiteľov.

Účinok glukánu z pekárenských kvasiniek nebol doteraz v helmintológii širšie preskúmaný. Zistilo sa, že glukán stimuluje retikuloendotelálny systém pri experimentálnej schistosomóze (Tuwaijri, 1988) a v kombinácii s IgG a so zinkom moduluje funkciu krvných fagocytov pri experimentálnej askaridóze prasiat (Benková a i., 1989).

Poznatky o nešpecifickej stimulácii imunity imunomodulačnými látkami vo veterinárnej helmintológii zatiaľ neprekročili rámec experimentovania, hoci ich perspektívne použitie sa už dnes predpokladá vo viacerých oblastiach. Osobitná úloha imunomodulačných látok sa očakáva pri prevencii a terapii imunologickej nedostatočnosti zapríčinennej helmintmi. Perspektívnou oblasťou je aj ich použitie pri zvyšovaní účinnosti špecifických protihelmintózných vakcín, pri znižovaní terapeutických dávok antihelmintík a ich profylaktická aplikácia mláďatám, ktoré sú zvlášť vnímavé k inváziám chorobám.

I keď overenie vplyvu nami sledovaných imunomodulačných látok na A a B bunky a stanovenie ich ochranného efektu nie sú jediné kritéria ich efektívnosti, výsledky ich výskumu na našom pracovisku pomohli vyriešiť základné otázky spojené s ich predklinickým hodnotením. Dosiahnuté poznatky vytvárajú predpoklady pre uplatnenie sa imunostimulačných látok nielen pri askaridóze ošipáných, ale aj pri iných helmintózach významne znižujúcich produktivitu chovu hospodárskych zvierat.

Podakovanie

Za prípravu a poskytnutie transferového faktora a glukánových prípravkov ďakuje-me Dr. J. Pekárekovi z ÚSOL Praha a Dr. J. Dubajovi zo š. p. Bioveta Nitra,

Literatúra

- BENKOVÁ, M. — BOROŠKOVÁ, Z. — BEREŽKO, V. K.: Dynamika a distribúcia T a B dependentných lymfocytov v lymfoidných orgánoch morčiat pri experimentálnej askaridóze. *Veter. Med. [Praha]*, 29, 1984, s. 39—46.
- BENKOVÁ, M. — BOROŠKOVÁ, Z. — DUBAJ, J. — ŠOLTÝS, J.: Modulácie funkcie fagocytov prasiat pri experimentálnej askaridóze glukánovými prípravkami. In: XVII. ved. Konf. Aktívne zdravie — základ produkcie a reprodukcie zvierat, 6.—7. 9. 1989, Košice.
- BOROŠKOVÁ, Z. — BENKOVÁ, M. — ČECH, K. — PEKÁREK, J.: Effect of non-specific and specific transfer factor on T and B lymphocytes in experimental ascaridosis. In: Programme and Abstracts of the Vth European Multicolloquium of Parasitology. 4.—9. 9. 1988, Budapest, s. 165.
- BOROŠKOVÁ, Z. — BENKOVÁ, M. — DUBAJ, J.: Porovnanie ochranného efektu dvoch skupín vývojových imunomodulačných prípravkov pri experimentálnej askaridóze morčiat. *Zprávy Českoslov. Společ. Parazit.*, 29, 1989, s. 21.
- DUBINSKÝ, P.: Životné prejavy *Ascaridia galli* v ontogenéze. [Doktorská dizertácia.] Košice 1981 — Helmintologický ústav SAV.
- GADŽIEVA, I. A.: Povyšenie imunovo statusa pri želúdočno-kišičných strongilatozách evoc. *Dokl. VASCHNIL*, 3, 1987, s. 34—36.
- GROVE, D. J. — CIVIL, R. H.: *Trichinella spiralis*: effects on the host-parasite relationship in mice of BCG [attenuated *Mycobacterium bovis*]. *Expl. Parasit.*, 44, 1978, s. 181—189.
- HUNTER, A. R. — MacKENZIE, G. — ROSS, J. G.: A comparison of the effects of dialysed and non-dialysed transfer factor preparations on *Haemonchus contortus* infections in young lambs. *Veter. Res. Commun.*, 6, 1983, s. 227—234.
- KOMÁREK, J.: EAC rozetový test. *Immunol. Zprav.*, 2, 1979, s. 29—31.
- IEŠŤAN, P. — DUBINSKÝ, P.: Fyziologické zmeny v postinváznej fáze ontogenézy *Ascaridia galli*. [Záverečná správa.] Košice, Helmintologický ústav SAV 1975.
- LEUTSKAJA, Z. K.: Vlijanije vitamínu A na process obrazovaniia antitel pri immunizácii cypfat antigenom iz nematod *Ascaridia galli*. *Dokl. AN ZSSR*, 153, 1963, s. 243—245.
- MacKENZIE, G. — HUNTER, A. R. — ROSS, I. G.: The effect of treatment with transfer factor, parasitic antigen and precipitated immunoglobulin on the parasitological responses in *Haemonchus contortus* infection in lambs under six months of age. *J. Helminth.*, 56, 1982, s. 305—313.
- MITCHELL, G. B. B. — ARMOUR, J.: Stimulation of resistance to *Fasciola hepatica* infection in sheep by a regime involving the use of the immunomodulatory compound L tetramisole [levamisole]. *Res. veter. Sci.*, 30, 1981, s. 343—348.

PROCHÁZKOVÁ, J.: Separace lymfocytů verografinem. *Imunol. Zprav.*, 2, 1979, s. 17—19.

REISENAUER, R. *Metody matematické statistiky a jejich aplikace*. Praha, Polytechnická knižnice, 1970,

ROSS, J. G. — HALLIDAY, W. G.: Investigations of transfer factor activity in immunity to *Ostertagia circumcincta* and *Trichostrongylus colubriformis* infection in sheep. *J. Parasit.*, 4, 1979, s. 281—284.

STADECKER, M. J. — BISHOP, G. — WORTIS, H. H.: Rosette formation by guinea pig thymocytes and thymus derived lymphocytes with rabbit red blood cells. *J. Immunol.* 3, 1973, s. 1834—1837.

TEPLOV, O. V.: Roľ vitamínu A v profilaktike askaridoza. *Materialy objedinenogo plenuma vet. sekcii VASCHNIL, Moskva*, 1968, s. 211—212.

TUWAIJRI, A. S.: Influence of glucan as an immunostimulant on murine intestinal schistosomiasis. *Saudi Median Journal*, 9, 1988, s. 260—266.

ŽUFFA, A. — ŽUFFA, T. — ZAJAC, J. — MAŇOVSKÝ, J. — MENŠÍK, J. — SLANINA, L.: Vývoj viacvalentných vakcín proti vírusovým infekciám hovädzieho dobytku. [Záverečná správa.] Nitra, Bioveta 1984.

Došlo dňa 25. 1. 1991

BENKOVÁ, M. — BOROŠKOVÁ, Z. — ŠOLTÝS, J. (Helminthological Institute of the Slovak Academy of Sciences, Košice): *Immunostimulative effects of some substances in pigs with experimental ascariasis*. *Veter. Med. (Praha)*, 36, 1991 (12): 717—724.

The effects were studied of four immunomodulative substances of biological origin (purified glucan, glucan with porcine immunoglobulin and zinc, transfer factor and vitamin A) on T and B lymphocytes, along with their protective effects in pigs with experimental ascariasis. These substances activated T and B lymphocytes with different intensity. The nonspecific stimulation of these cells in the blood of pigs with the immunomodulative substances intensified the protective mechanisms; this resulted in a decreased number of migrating ascaris larvae in the lungs of pigs by 17 % to 65 %. Of the four immunomodulative substances studied, transfer factor and glucan-based substances with porcine immunoglobuline and zinc proved to be the most effective. Both the substances exerted a significant stimulative effect on T- and B-cell populations even in the first days after infection, reaching the maximum on days 7—9 p. i. (Figs. 1 and 2). The protective effect, assessed by the reduction of migrating ascaris larvae in the lungs of pigs, was 62 % and 65 % using transfer factor and glucan preparation with homologous immunoglobulin and zinc, respectively. The percentage of occurrence of T and B lymphocytes, obtained by the use of purified glucan and vitamin A, was not in correlation with their protective effect (purified glucan 17 %, vitamin A 50 %). The immunomodulative effects of little effective purified glucan increased when combined with porcine immunoglobulin and zinc. The results are significant from the aspect of the nonspecific stimulation of immunity in ascariasis and in some other helminthoses.

pigs; *Ascaris suum*; T and B lymphocytes; immunomodulative substances

Adresa autorov:

MVDr. Magda Benková, CSc., MVDr. Zora Borošková, CSc., MVDr. Jindřich Šoltýs, Helminologický ústav SAV, ul. Dukelských hrdinov 3, 040 00 Košice

BIOCHEMICKÉ A HISTOLOGICKÉ ZMENY V HYPOTALAME U HORMONÁLNE STIMULOVANÝCH OVIEC

B. Pástorová, A. Staníková, V. Rajtová

PÁSTOROVÁ, B. — STANÍKOVÁ, A. — RAJTOVÁ, V. (Vysoká škola veterinárská, Košice): *Biochemické a histologické zmeny v hypotalame u hormonálne stimulovaných oviec*. Veter. Med. [Praha], 36, 1991 [12]: 725—736.

Študovali sme účinok hormonálneho preparátu sérového gonadotropínu (SG) na zmeny koncentrácie katecholamínov v hypotalamických oblastiach priamo sa podieľajúcich na regulácii pohlavných funkcií a v hypofýze vo vzťahu k neurosekrécii, PAS—pozitívnym mukopolysacharidom a k histologickým zmenám endydymového povrchu v III. mozgovej komore oviec plemena merino a valaška v estrickom období. Estrus oviec sme synchronizovali poševnými tampónami Agelín (Spofa). Ovce ($n = 30$) sme stimulovali podaním 2000 IU Sérového gonadotropínu (Bioveta, Ivanovice na Hané). Mozgy oviec pre stanovenie koncentrácie katecholamínov rádioenzymatickou metódou sme rozdelili segmentovou analýzou podľa stereotaxickej konfigurácie. Odoberali sme vzorky z oblasti *eminetia mediana*, *area preoptica* a *corpus mamillare* a z hypofýzy. Pre histologické štúdium sme vzorky mozgov spracovali bežnými histologickými metódami. Množstvo neurosekrečného materiálu sme hodnotili svetelnou mikroskopiou (Nakahara, 1963). Vzorky pre sledovanie endydymovej výstielky dolnej časti III. mozgovej komory boli študované v riadkovacom elektrónovom mikroskope. Z dosiahnutých výsledkov vyplýva, že v preoptickej oblasti hypotalamu dochádza po podaní SG k štatisticky významnému zníženiu ($P < 0,05$) koncentrácie epinefrínu. Najvýznamnejší pokles ($P < 0,001$) hladín norepinefrínu, dopamínu a epinefrínu sme zaznamenali v oblasti *eminetia medialis* u oviec plemena valaška. V *corpus mamillare* sa štatisticky významne ($P < 0,01$) znížili koncentrácie norepinefrínu. Neurosekrécia a aktivita reakcie PAS na dôkaz mukopolysacharidov sú po hormonálnej stimulácii zvýšené. Pozorované zmeny endydymového povrchu v oblasti niektorých jadier hypotalamu svedčia o jeho zvýšenej sekrécii. Stimulačný účinok hormonálneho preparátu SG je na neurosekréciu a PAS—pozitívne mukopolysacharidy výraznejší u oviec plemena slovenské merino. Vzhľadom na to, že norepinefrín je považovaný za inhibítor neurosekrécie, je z množenie neurosekrétu v jadrach hypotalamu po stimulácii SG v korelácii s poklesom hypotalamického norepinefrínu.

ovca; endydým; katecholamíny; norepinefrín; dopamín; epinefrín; rádioenzymatická metóda; neurosekrécia; PAS—pozitívne mukopolysacharidy

Jedným z významných intenzifikačných faktorov v chove oviec je riadená reprodukcia, najmä v popredí záujmu je aktuálna otázka superovulácie (Arendarčík a i., 1987). Napriek veľkému množstvu

vedeckých poznatkov [Advis a i., 1980; Bahr a Ben Jonathan, 1981], vzťah jednotlivých neuromediátorov k produkcii gonadotropných hormónov nie je dostatočne objasnený. Katecholamíny hypotalamu zasahujú do sekrécie gonadotropných hormónov hypofýzy tak, že sa podieľajú na regulácii sekrécie hypotalamických releasing hormónov do hypofyzárneho portálneho krvného obehu [Crowley a i., 1978]. Norepinefrín je mediátor na nervových zakončeníach ventrálnej časti hypotalamu a stimuluje sekréciu FSH, LH z hypofýzy. Dopamín je považovaný za prolaktostatín [Dluzen a Ramirez, 1989] a do hypofýzy sa dostáva portálnym systémom, kde priamo inhibuje hypofyzárne bunky sekretujúce prolaktín. Súčasne dopamín stimuluje alebo inhibuje sekréciu LH v závislosti od koncentrácie ovariálnych steroidov, ktoré senzibilizujú receptory neurotransmiterov, čím ovplyvňujú syntézu regulačných hormónov [Akema a Kimura, 1989]. Sekrécia LH a FSH je pod kontrolou alfa-adrenergických receptorov hypotalamu, pričom koncentrácia 17 beta-estradiolu v krvi moduluje alfa-adrenergický účinok na sekréciu gonadotropných hormónov [Meites a i., 1977]. Naopak zmeny v hladinách gonadotropných hormónov v krvnej plazme spätne pôsobia na hladiny a funkciu katecholamínov v hypotalame [Kuljis a Advis, 1989]. Katecholamíny hypotalamu sa podieľajú aj na regulácii sekrécie hormónov neurohypofýzy—oxytocínu a vazopresínu. V súčasnosti sa predpokladá, že norepinefrín pôsobí ako inhibítor neurosekrécie [Grant a Stumpf, 1975].

Štúdium neurosekrécie je veľmi dôležité, lebo poukazuje na stav činnosti neurónov za fyziologických, ale najmä za experimentálnych podmienok, kedy sa jeho množstvo mení [Haider a Sathynesan, 1974; Jasinski a i., 1974; Van Den Pol, 1982; Arendarčík a i., 1983; Staníková a i., 1988]. Štúdium endymu III. mozgovej komory prispieva k poznaniu reprodukcie hospodárskych zvierat tým, že prehĺbuje poznatky o morfológii a funkcii centier, ktoré ju riadia. Aj keď endým nepatrí k pohlavným žľazám a nenachádzajú sa v ňom priamo centrá pre pohlavnú činnosť, jeho vysoko špecializované endymové bunky—tanycyty majú dôležitú úlohu pri prenose, snáď aj pri transformácii vysokoúčinných látok z nadradených centier hypotalamu, alebo opačne.

V našej práci sme sa zamerali na štúdium koncentrácií katecholamínov v regulačných hypotalamických oblastiach reprodukčných funkcií oviec vo vzťahu k neurosekrécii a histologickým zmenám endymu III. mozgovej komory.

MATERIÁL A METÓDY

Pozorovania sme vykonali na 30 ovciach plemena slovenské merino a valaška, vo veku 3—4 roky, s priemernou živou hmotnosťou 40 kg v estrickom období. Všetky ovce, aj kontrolné, boli synchronizované 20 mg chlórsuperlutínu v poševných tampónoch Agelín Spofa. Ovce boli po vybratí agelínových hubiek ihneď stimulované 2000 IU Sérového gonadotropínu (Bioveta, Ivanovice na Hané). Zvieratá sme zabíjali 99—149 hodín po vybratí hubiek.

Bezprostredne po vykúvení a vybratí z lebečnej dutiny sme mozgy rozdelili segmentovou analýzou a podľa stereotaxickej konfigurácie hypotalamu oviec [Weleno a i., 1968] odobrali vzorky z oblastí *eminentia mediana* a *area preoptica* aj *corpus mamilare*. Tkanivo sme po odobratí ihneď ponorili do kvapalného dusíka, v ktorom sme ho udržiavali v zmrazenom stave do ďalšieho spracovania. Koncentrácia katecho-

lamínov bola stanovená u 12 oviec plemena valaška, z toho bolo 6 oviec kontrolných a 6 pokusných.

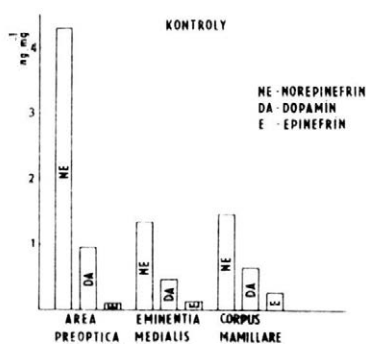
Vzorky sme homogenizovali vo vychladenej HClO_4 ($c = 0,4 \text{ mol} \cdot \text{l}^{-1}$), s prídanim redukovaného glutationu ($c = 0,05 \text{ mol} \cdot \text{l}^{-1}$) a centrifugovali po dobu 15 min pri g 10 000 za min.

Katecholamíny v tkanivových supernatantoch sme stanovili rádioenzymatickou metódou za pomoci testu Catechola (ÚVVVR, Praha). Aktivitu derivátov katecholamínov sme stanovovali ^3H značeným donorom metylových skupín [S — adenosyl-L-metyl] — ^3H metionin. Produkty reakcie o-metylderiváty katecholamínov sme rozdelili tenkovrstvovou chromatografiou na chromatografických doskách SILUFOL UV 254. Po zmeraní aktivity vzoriek na scintilačnom spektrometri PACKARD TRI CARB v ^3H kanáli sme vypočítali koncentráciu epinefrínu, dopamínu a norepinefrínu za využitia princípu vnútorného štandardu. Výsledky uvádzame v ng katecholamínov na 1 mg bielkovín tkanivových homogenátov. Bielkoviny sme stanovili v tkanivových homogenátoch metódou podľa Lowryho a i. [1951]. Výsledky udávame v aritmetických priemeroch $\pm$ S.E.M. Histologické a elektromikroskopické vyšetrenie bolo prevedené u 10 oviec plemena merino, z toho 4 kontrolných a 6 pokusných. U plemena valaška boli uvedené vyšetrenia robené na 4 kontrolných a 6 pokusných ovcích. Bezprostredne po vykŕvení sme hlavu zvieratám odrezali a mozgy sme cez *artéria carotis communis* perfundovali 2% pufovaným paraformaldehydrom. Po vybratí z lebečnej dutiny sme ich dofixovali v pufovanom pikroformole po dobu 72 hodín. Parafinové rezy sme farbili krotón—aldehyd—fuchsinom na neurosekrét a PAS—reakciou na mukopolysacharidy. Mozgy pre štúdium v riadkovacom elektrónovom mikroskope sme spracovali nasledovne: Bezprostredne po vykŕvení krvné riečište hlavy sme prepláchli fosfátovým puфом [$c = 0,2 \text{ mol} \cdot \text{l}^{-1}$], potom Karnovského roztokom a odoberaté vzorky sme dofixovali 3% roztokom glutaraldehydu v kakodylátovom pufri (pH roztokov 7,4; teplota 4°C). Potom nasledovalo spracovanie vzoriek [Murakami a i., 1977], dehydratácia etylalkoholom, sušenie metódou kritického bodu, pozlátenie vo vákuu a prehliadanie v riadkovacom elektrónovom mikroskope Stereoscan Cambridge 2A.

VÝSLEDKY

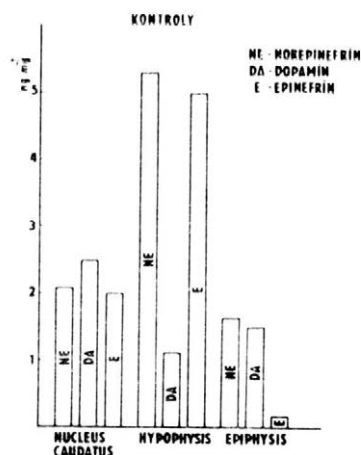
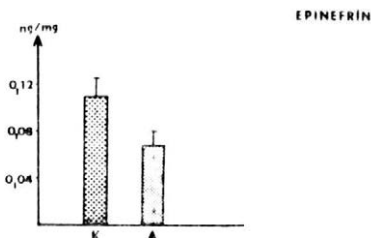
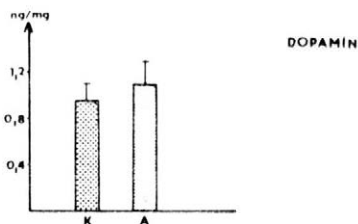
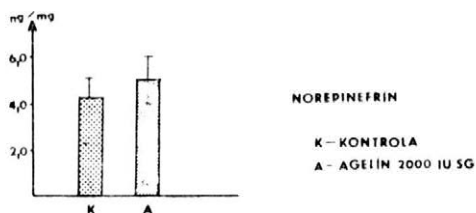
Koncentrácia katecholamínov je u kontrolnej intaktnej skupiny oviec v študovaných oblastiach hypotalamu rozdielna. Najvyššie zastúpenie norepinefrínu (obr. 1) sme stanovili v preoptickej oblasti hypotalamu ($4,2 \pm 0,350 \text{ ng} \cdot \text{mg}^{-1}$). V oblasti *corpus mamillare* a v *eminetia mediana* sú hladiny norepinefrínu vyrovnané (obr. 1). Dopamín sa nachádza v hypotalame kontrolnej skupiny oviec (obr. 2) v nižších koncentráciách než norepinefrín (od $0,490$ — $0,900 \text{ ng} \cdot \text{mg}^{-1}$). Hladiny hypotalamického epinefrínu (obr. 1) sú veľmi nízke ($0,051$ — $0,270 \text{ ng} \cdot \text{mg}^{-1}$).

Po podaní 2000 IU SG v porovnaní s kontrolnou intaktnou skupinou sme zaznamenali zmeny koncentrácie katecholamínov v študovaných oblastiach CNS podieľajúcich sa na regulácii reprodukčných funkcií oviec. V preoptickej oblasti hypotalamu oviec (obr. 3) sme pozorovali signifikantné zníženie ($P < 0,05$) hladín epinefrínu (o 36,4 %). Dopamín a norepinefrín nevykazujú v preoptickej oblasti hypotalamu (obr. 3) v porovnaní s kontrolnou skupinou štatisticky významné zmeny. Signifikantné zníženie hladín norepinefrínu ($P < 0,001$) sme pozorovali po podaní Sérového gonadotropínu (o 52,8 %) v oblasti *corpus mamillare* (obr. 4). Koncentrácie dopamínu a epinefrínu sa v *corpus mamillare* v porovnaní s kontrolnou skupinou signifikantne nemenili (obr. 4). Podanie 2000 IU SG najvýraznejšie mení hladiny katecholamínov v oblasti *eminetia mediana* (obr. 5), kde sme zaznamenali štatisticky významný pokles koncentrácií norepinefrínu ($P < 0,001$). Hladiny dopamínu sa znížili v *eminetia mediana* o 40,9 % v porovnaní s kontrolnou skupinou oviec a tento pokles je štatisticky významný ($P < 0,05$).



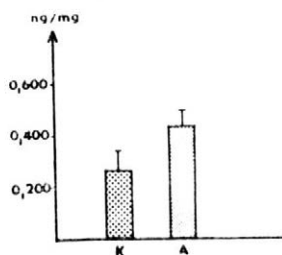
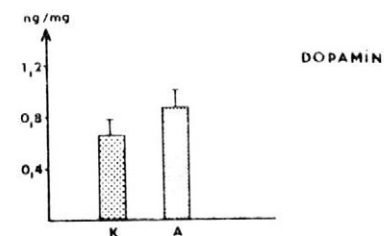
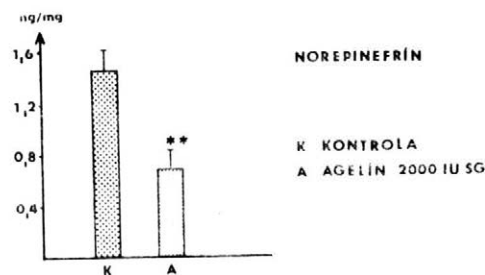
2. Distribúcia katecholamínov v oblasti *nucleus caudatus* hypofýzy a v epifýze kontrolných oviec. Výsledky sú vyjadrené v aritmetických priemeroch $\pm$ S.E.M. — Catecholamine distribution in the *nucleus caudatus*, hypophysis and epiphysis of control ewes. The results are given as arithmetical means $\pm$ S.E.M.

AREA PREOPTICA



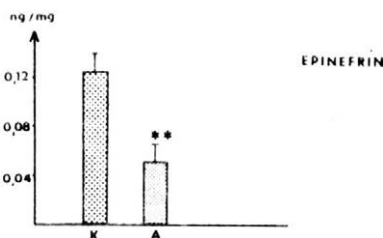
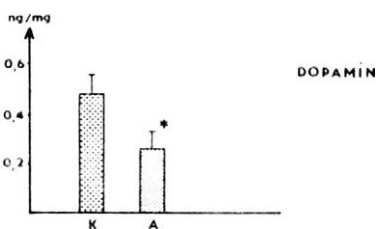
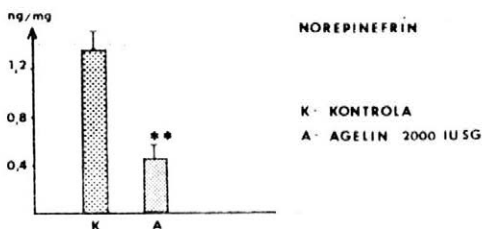
3. Vplyv hormonálnej stimulácie na hladiny katecholamínov (norepinefrínu, dopamínu a epinefrínu) v preoptickej oblasti hypotalamu oviec plemena valaška. Výsledky sú vyjadrené v $\text{ng} \cdot \text{mg}^{-1}$, v aritmetických priemeroch $\pm$ S.E.M. — The effects of hormonal stimulation on the concentration of catecholamines (norepinephrin, dopamine and epinephrin) in the *area preoptica* in the hypothalamus of ewes of the Wallachian breed. The results are given in ng per mg, as arithmetical means $\pm$ S.E.M.

CORPUS MAMILLARE



4. Vplyv hormonálnej stimulácie na koncentrácie katecholamínov v oblasti *corpus mamillare* hypotalamu oviec. ++ $P < 0,01$ — The effects of hormonal stimulation on catecholamine concentrations in the *corpus mamillare* of sheep hypothalamus. ++ $P < 0,01$

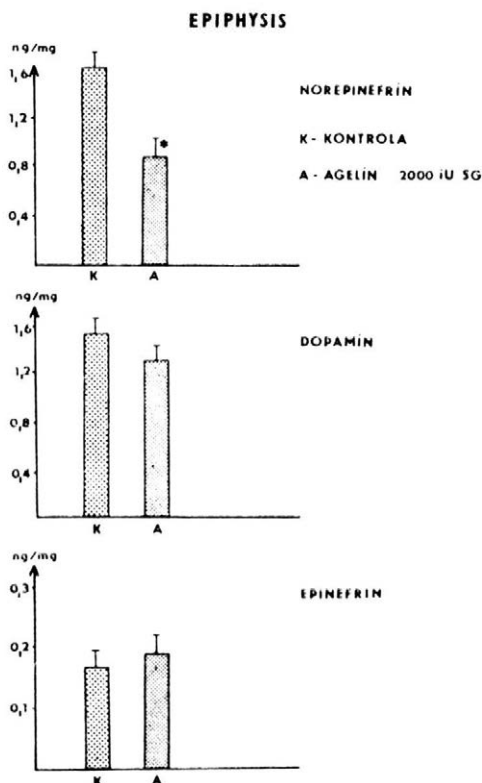
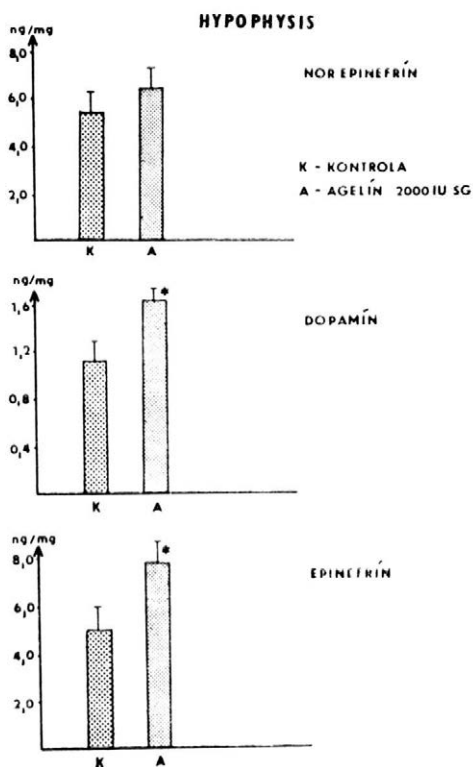
EMINENTIA MEDIALIS



5. Hladiny katecholamínov v oblasti *eminentia mediana* oviec po hormonálnom ovplyvnení, 2000 IU SG. Výsledky sú vyjadrené v aritmetických priemeroch $\pm$ S.E.M. + $P < 0,05$; ++ $P < 0,001$ — Catecholamine concentrations in the *eminentia mediana* of ewes after hormonal stimulation at a dose of 2000 IU SG. The results are given as arithmetical means $\pm$ S.E.M. + $P < 0,05$, ++ $P < 0,001$

V hypofýze oviec (obr. 6) hormonálne stimulované sérovým gonadotropínom sme zaznamenali signifikantný vzostup koncentrácie dopamínu a epinefrínu ($P < 0,05$). V epifýze (obr. 7) po hormonálnej stimulácii SG jsme pozorovali pokles hladín norepinefrínu ($P < 0,01$) a nezmenené hladiny epinefrínu a dopamínu.

V rostrálnom hypotalame (*nucleus paraventricularis*) dochádza k zvýšenej aktivite neurosekrečných buniek, čo sa prejavilo miernym znmo-



6. Vplyv hormonálnej stimulácie na hladiny katecholamínov v hypofýze oviec. Výsledky sú vyjadrené v $\text{ng} \cdot \text{mg}^{-1}$, v aritmetických priemeroch $\pm$ S.E.M. + $P < 0,005$ — The effects of hormonal stimulation on catecholamine concentration in the hypophysis of ewes. The results are given in ng per mg, as arithmetical means $\pm$ S.E.M. + $P < 0,005$

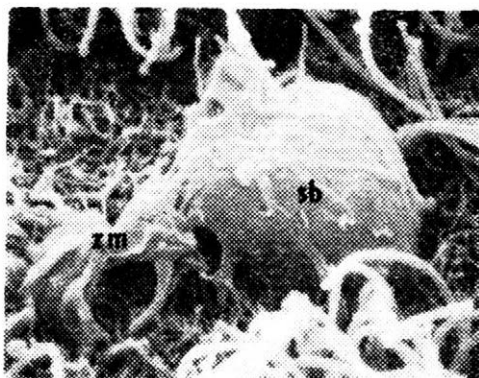
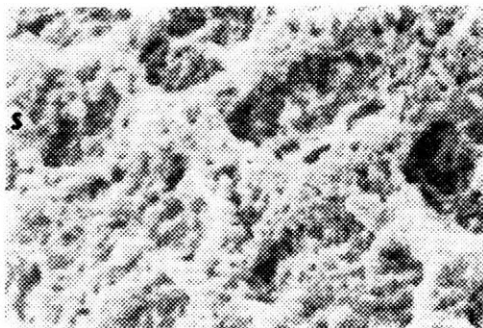
7. Hladiny norepinefrínu, epinefrínu a dopamínu v epifýze hormonálne stimulovaných oviec. Výsledky sú vyjadrené v $\text{ng} \cdot \text{mg}^{-1}$, v aritmetických priemeroch $\pm$ S.E.M. + $P < 0,05$ — Norepinephrin, epinephrin and dopamine concentrations in the epiphysis of hormonally stimulated ewes. The results are given in ng per mg, as arithmetical means $\pm$ S.E.M. + $P < 0,05$

žením neurosekréty u oboch plemien. V mediálnom hypotalame (*nucleus arcuatus*) sú neurosekrečné štruktúry po hormonálnom ovplyvnení u oviec plemena merino výraznejšie stimulované k tvorbe neurosekréty ako ovce plemena valaška.

V kaudálnom hypotalame (*nucleus tuberomammillaris*) je neurosekrécia bez výraznejších zmien v porovnaní s kontrolnými zvieratami u oboch plemien.

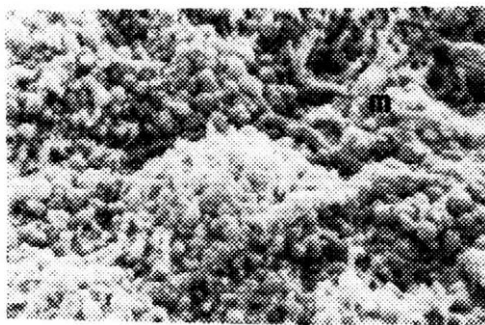
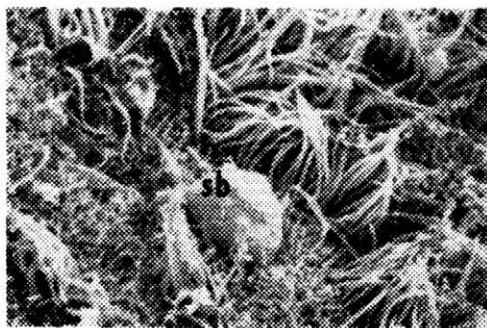
Aktivita reakcie PAS na dôkaz mukopolysacharidov je u oviec plemena merino vo všetkých sledovaných jadrách mierne zvýšená. U oviec plemena valaška je v rostrálnom a kaudálnom hypotalame bez výrazných zmien a mierne je aktivita zvýšená v mediálnom hypotalame.

8. Husté mikrokľky z dolnej časti infundibula u bahnice v proestre tvoria polyedrický vzor; s — malé sférické protrúzie miniblebs; zv. 6 600krát — Dense microvilli in the lower part of infundibulum in a ewe in pro-oestrus form a polyhedral pattern; s — miniblebs; enl. 6600 times

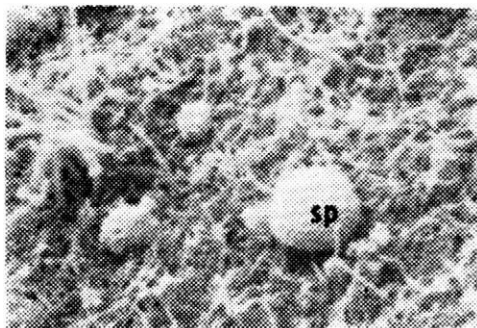


9. Superependýmová bunka v dolnej časti infundibula kontrolnej bahnice v estre pri väčšom zväčšení; sb — supraependýmová bunka, zm — zvlnená membrána, zv. 4 400krát — A supraependymal cell in the lower part of infundibulum of control lambing ewe in oestrus at greater enlargement; sb — supraependymal cell, zm — undulated membrane, enl. 4400 times

10. Supraependýmová bunka z dolnej časti infundibula u bahníc počas estru; sb — supraependýmová bunka, vm — vláknité mikrokľky; zv. 1980krát — A supraependymal cell from the lower part of infundibulum in lambing ewes during oestrus; sb — supraependymal cell, vm — fibrous microvilli; enl. 1980 times



11. Oblasť *recessus mamillare* u pokusnej bahnice; m — hrubé mikrokľky; zv. 5 175krát — The *recessus mamillare* in a test lambing ewe; m — coarse microvilli; enl. 5175 times



12. Oblasť pred *recessus infundibularis* u bahnice po hormonálnej stimulácii; sp — sférické protrúzie; zv. 6100krát — The region anterior to the *recessus infundibularis* in a lambing ewe after hormonal stimulation; sp — miniblebs; enl. 6100 times

V dolnej časti infundibula III. mozgovej komory, hlavne oblasť *eminentia mediana*, u bahníc počas anestru sa vyskytujú hrubé mikrokľky a nízke pologuľovité protrúzie (blebs). V proestre dolnú časť infundibula pokrývajú jemné husté mikrokľky a vytvárajú nepravidelný polyedrický vzor. Ojedinele sa vyskytujú aj malé sférické protrúzie — miniblebs (obr. 8). U bahníc počas estru v dolnej časti infundibula sú prítomné supraependymové bunky, výbežky, ktorých sú buď skryté v endymé, alebo tvoria na povrchu charakteristicky zvlnené membrány (obr. 9 a 10).

Apikálne membrány endymových tanycytov po podaní sérového gonadotropínu pokrývali hrubé mikrokľky (obr. 11 a 12). Supraependymové bunky sme u hormonálne stimulovaných oviec nenašli.

DISKUSIA

Hypotalamické katecholamíny sa podieľajú na regulácii sekrécie gonadotropných hormónov počas estrálnych cyklov zvierat. Poznatkov o funkcii, koncentráciách a metabolizme katecholamínov v hypotalame hospodárskych zvierat po podaní exogénnych hormónov je v dostupnej literatúre menej (Smolich a i., 1979; Pástorová a i., 1988, 1989 a sporadicky sa vyskytujú údaje získané na laboratórnych zvieratách (McCornack a Mayer, 1963; Löfström a i., 1977).

Pomer a zastúpenie katecholamínov v nami skúmaných oblastiach mozgu kontrolnej intaktnej skupiny oviec študovaných rádioenzymatickou metódou zodpovedá údajom iných autorov získaných na laboratórnych zvieratách (Čulman a i., 1981).

Extrahypofyzárny hormón sérový gonadotropín, ktorý vykazuje FSH a LH aktivitu, má dlhý poločas biologického rozpadu v organizme a jeho podanie je spojené s výrazným dlhodobým zvýšením estrogénov v krvnej plazme. Vysoké koncentrácie estrogénov pôsobia na adrenergické receptory hypotalamu a ako uvádzajú Davies a i. (1975), dochádza pri týchto stavoch k poklesu zastúpenia hypotalamického norepinefrínu. V súlade s uvedenými údajmi sme v našom pokuse pozorovali štatisticky významný pokles ($P < 0,001$) koncentrácie norepinefrínu v oblasti *eminentia mediana* a *corpus mamillare* po aplikácii hormonálneho preparátu sérového gonadotropínu. Do rostrálneho hypotalamu patrí preoptická oblasť, ktorá je súčasťou vyššieho regulačného mechanizmu ria-

denia gonadotropných funkcií adenohipofýzy (Leranth a i., 1988). V tejto oblasti sa nachádzajú adrenergické nervové terminály podieľajúce sa na sekrécii gonadotropínov. Podľa súčasných vedeckých poznatkov (Leranth a i., 1988) sa predpokladá, že zvýšenie turnoveru norepinefrínu v mediálnej preoptickej oblasti počas proestru spôsobuje adrenergnú blokádu, ktorá predchádza výraznému vrcholu LH. Katecholamíny v preoptickej oblasti pôsobia na uvoľňovanie LH—RH tónickou inhibíciou cez GABA—ergické interneuróny, ktoré potencujú uvoľňovanie LH—RH.

Löfström a i. (1977), Smolich a i. (1979) zistili, že exogénne hormóny PMSG a HCG pôsobia na adrenergné receptory hypotalamu potkanov, najvýraznejšie na neuróny v rostrálnej oblasti hypotalamu. V našom pokuse sme pozorovali signifikantné zníženie koncentrácie epinefrínu ($P < 0,05$) v preoptickej oblasti hypotalamu oviec. Saavedra (1981) uvádza, že neuróny obsahujúce epinefrín v preoptickej oblasti hypotalamu sa podieľajú i na regulácii integrácie periférnej adrenergnej odozvy.

Výraznú funkciu v hypotalame má dopamín, nachádzajúci sa v tubero-infundibulárnych dopaminergických neurónoch hypotalamu, ktoré vykazujú cyklické zmeny aktivity v priebehu estrálnych cyklov. Tieto neuróny sa podieľajú na koordinácii hypotalamickej kontroly sekrécie troch gonadotropných hormónov: prolaktínu, FSH a LH. Dopamín je uvoľňovaný z neurónov *eminentia mediana* do portálnych ciev a je dôležitým faktorom v regulácii sekrécie prolaktínu v hypofýze. Z našich výsledkov vyplýva, že najvýraznejšie zmeny dopamínu sme pozorovali po podaní 2000 IU SG najmä v oblasti *eminentia mediana*, kde sme zaznamenali signifikantné zníženie hladín dopamínu (o 46,94 %).

Pri porovnaní výsledkov z tohto pokusu s našimi predchádzajúcimi (Pástorová a i., 1988, 1989) je možné konštatovať, že i napriek tomu, že exogénny hormón sérový gonadotropín spôsobuje štatisticky významné zníženie hypotalamických katecholamínov u oviec plemena valaška, ešte výraznejší vplyv má na zmeny katecholamínov oviec plemena slovenské merino.

V hypofýze dochádza po hormonálnom ovplyvnení k signifikantnému vzostupu dopamínu a epinefrínu ($P < 0,05$). O funkciu hypofyzárnych katecholamínov sú známe vedecké poznatky iba niekoľko rokov (Holzbauer a i., 1981). Významnú úlohu v hypofýze má najmä dopamín prítomný v neurálnej a intermediálnej časti hypofýzy, ktorý má význam najmä v priebehu laktácie a pri sekrécii oxytocínu a vazopresínu.

Mechanizmus účinku vplyvu exogénnych hormonálnych prípravkov na koncentrácie katecholamínov v hypotalame a hypofýze je bez štúdia ich obratu ťažko definovať. Je pravdepodobné, že dochádza k spätnoväzobnému pôsobeniu estrogénov na adrenergné receptory hypotalamu a tým k zmenenému uvoľňovaniu katecholamínov v adrenergných neurónoch. Obrat a aktuálne hladiny katecholamínov závisia od mnohých faktorov, akými sú syntéza a degradácia, uskladnenie a extracelulárne vychytávanie, od transneurálneho toku a interakcie s autoreceptormi. Porušenie niektorého z uvedených faktorov vedie k zmene koncentrácií a funkcie katecholamínov v nervovom tkanive.

Štúdium neurosekrécie je veľmi dôležité, lebo poukazuje na stav činnosti neurónov za fyziologických, ale najmä za experimentálnych podmienok, kedy sa jeho množstvo mení. Je dosť podrobne rozpracovaný

u laboratórnych zvierat (Jasinski a i., 1974; Haider a i., 1974). Z hospodárskych zvierat u jalovic pozorovali Maraček a Arendarčík (1978) zvýšenú aktivitu neurosekrečných štruktúr po podaní melengestrolaceátu a u oviec po hormonálnej stimulácii (Staníková a i., 1988).

Pri štúdiu ependýmu v rastrovacom elektrónovom mikroskope sa ukázalo, že ependým je heterogénnou štruktúrou, a to ako na svojom lúmenálnom povrchu, tak aj vo svojej morfolologickej stavbe (Leonhardt, 1980). Nakoľko CNS nemá vytvorený lymfatický systém, predpokladá sa, že cerebrospinálny mok odvádza aj produkty metabolizmu. Z tohoto dôvodu sa niektorí autori domnievajú, že sférické protrúzie by sa mali považovať za produkt sekrečnej činnosti ependýmu (Booz, 1975; Rajtová a i., 1983). Wood (1983) uvádza, že činnosť kinocílií napomáha prúdeniu cerebrospinálnej tekutiny. Apikálny povrch ependýmových buniek sa považuje za akúsi bariéru pri dotyku cerebrospinálnej tekutiny s ependýmovou výstelkou.

Keď porovnáme naše dosiahnuté výsledky s výsledkami iných autorov, môžeme sa domnievať, že na infundibulárnom ependýme došlo k aktivovaniu jeho činnosti, čo sa prejavilo zvýšenou ependýmosekreciou (miniblebs). Z dosiahnutých výsledkov v našom experimente vyplýva, že hormonálna stimulácia sérovým gonadotropínom pôsobí na hypotalamické jadrá, ktoré stimuluje k zvýšenej tvorbe neurosekrétu a súčasne pôsobí i na pokles koncentrácie hypotalamických katecholamínov, najmä norepinefrínu. Tieto výsledky sú vo vzájomnej zhode, vzhľadom na to, že je známe, že hypotalamický norepinefrín je považovaný za inhibítora neurosekrecie hypotalamických jadier.

Literatúra

- ADVIS, J. P. — McCANN, S. M. — NEGRO—WILLAR, A.: Evidence that catecholaminergic and peptidergic luteinizing hormone neurons suprachiasmatic medialbasal hypothalamus and median eminence are involved in estrogen negative feedback. *Endocrinology*, 107, 1980, s. 892—901.
- AKEMA, T. — KIMURA, F.: Inhibition by catecholaminergic blockers of the neurotensin — induced enhancement of luteinizing hormone secretion in the ovariectomized estrogen — primed rats. *Neuroendocrinology*, 50, 1989, s. 688—692.
- ARENDARČÍK, J. — MOLNÁROVÁ, M. — STANÍKOVÁ, A.: Vplyv hormonálnej stimulácie na folikulárne populácie ovárií bahníc v estrickom a anestrickom období. *Veter. Med. (Praha)*, 32, 1987, s. 611—615.
- ARENDARČÍK, J. — STANÍKOVÁ, A. — RAJTOVÁ, V. — MOLNÁROVÁ, M.: Zmeny v hypotalame u kontinuálne ožiarených bahníc. *Veter. Med. (Praha)*, 28, 1983, s. 519—527.
- BAHR, J. M. — BEN JONATHAN, N. N.: Preovulatory depletion of ovarian catecholamines in the rat. *Endocrinology*, 108, 1981, s. 1815—1819.
- BOOZ, K. H.: Secretory phenomena at the ependyma IIIrd ventricle of the embryonic rat. *Anat. Embryol.*, 1975, s. 143—159.
- CROWLEY, W. R. — DOHUL, T. L. — JACOBOWITZ, D. A.: Changes in catecholamine content in discrete nuclei during the estrous cycle of the rat. *Brain Res.*, 147, 1978, s. 315—326.
- ČULMAN, J. — KVETŇANSKÝ, R. — KISS, A. — MEZEY, E. — MURGAŠ, K.: Interaction of serotonin and catecholamine in individual brain nuclei in adrenocortical activity regulation during stress. In: USDIN, E. — KVETŇANSKÝ, R. — KOPIN, J. (eds): *Catecholamine and stress*. Elsevier North Holland, 1981.
- DAVIES, J. J. — NAFTOLINI, F. K. — RYAN, J. — FISCHMANN, A. — SINN, J.: The affinity of catechol estrogens for estrogen receptor in the pituitary and anterior hypothalamus of the rat. *Endocrinology*, 997, 1975, s. 554—558.
- DLUZEN, D. F. — RAMIREZ, V. D.: Progesterone effects upon dopamine release from the corpus striatum of female rats. II. Evidence for a membrane site of action and the role of albumin. *Brain Res.*, 476, 1989, s. 338—344.

- GRANT, L. D. — STUMPF, W. E.: Hormone uptake sites in relation to CNS biogenic amines. In: STUMPF, W. E. — GRANT, L. D. (eds): *Anatomical. Neuroendocrinology*, Chapel Hill, NC, Karger, Basel, 1975, s. 445—463.
- HAIDER, S. — SATHYANESAN, A. G.: Hypothalamo-hypophyseal neurosecretory and portal system of the Indian wall lizard. *Acta anat.*, 88, 1974, s. 502—519.
- HOLZBAUER, M. — SHARMAN, D. F. — STEPHENS, D. B.: Pituitary catecholamines. In: USDIN, E. — KVETNANSKÝ, R. — KOPIN, J. (eds): *Catecholamine and stress. Recent Advances*. Elsevier North Holland, New York, Amsterdam, Oxford, 1981, s. 137—143.
- JASINSKI, A. — SOKOŁOWSKA, M. — WINIARSKA-RODZYŃSKA, I.: An *in situ* study of the hypothalamic neurosecretory system in some teleostean fishes. *Z. mikrosk.—anat. Forsch.*, Leipzig, 88, 1974, s. 417—427.
- KULJIS, R. O. — ADVIS, J. P.: Immunocytochemical and physiological evidence of a synapse between dopamine and luteinizing hormone releasing hormone containing neurons in ewe median eminence. *Endocrinology*, 124, 1989, s. 1579—1581.
- LEONHARDT, H.: Ependyma und circumventriculäre organe. In: OKSCHE, A. — VOLLHART, L. (eds): *Handbuch der mikroskopischen Anatomie des Menschen. Nervensystem*, 10. Teil: *Neurologia I*. Berlin-Heidelberg, New York, Springer Verlag 1980, s. 177—266.
- LERANTH, C. — MACLUSKY, N. J. — SHANABROUGH, M. — NAFTOLINI, F. K.: Catecholamine innervation of luteinizing hormone—releasing hormone and glutamic acid decarboxylase immunopositive neurons in the rat medial preoptic area. *Neuroendocrinology*, 48, 1988, s. 591—602.
- FÖFSTRÖM, J. E. R. — ENEROTH, J. — GUSTAFSON, J. A. — SKETT, P.: Effects of estradiol benzoate on catecholamines levels and turnover in discrete areas of median eminence and limbic forebrain and luteinizing hormone, follicle stimulating hormone and prolactin concentration in the ovariectomized female rat. *Endocrinology*, 101, 1977, s. 1159—1167.
- LOWRY, O. — ROSENBRUGH, N. — FARR, A. — RANDALL, R.: Protein measurement with the folin phenol reagent. *J. biol. Chem.*, 194, 1951, s. 265—275.
- MARAČEK, I. — ARENDARČIK, J.: Neurosekret a PAS pozitivné mukopolysacharidy v neurónoch hypotalamu jalovic po aplikácii melengestrolu acetátu. *Veter. Med. (Praha)*, 23, 1978, s. 239—250.
- MCCORNACK, C. E. — MAYER, R. K.: Ovulation induced by progesterone in immature rats pretreated with pregnant mare serum gonadotrophin. *Gen. Comp. Endocrinology*, 3, 1963, s. 300—307.
- NAKAHARA, T.: Neurosecretion and anterior pituitary cells VII. Correlation between neurosecretion and cytological changes in the anterior hypophysis following the act of coitus in rabbits. *Jap. J. zootechn. Sci.*, 31, 1963, s. 409—418.
- PÁSTOROVÁ, B. — ARENDARČIK, J. — MOLNÁROVÁ, M.: Vplyv hormonálnej stimulácie Folistimánom (FSH) a proťahovanej expozície gama—žiarenia na hladiny catecholamínov v hypotalame a hypofýze oviec. *Veter. Med. (Praha)*, 33, 1988, s. 281—292.
- PÁSTOROVÁ, B. — ARENDARČIK, J.: Vplyv proťahovanej expozície gama—žiarenia a hormonálnej stimulácie Sérovým gonadotropínom na hladiny catecholamínov v hypotalame, epifýze a nadobličkách oviec. *Veter. Med. (Praha)*, 34, 1989, s. 171—180.
- RAJTOVÁ, V. — STANÍKOVÁ, A. — ARENDARČIK, J. — LUŠTÍK, J. — BRIANČIN, J.: Suprachiasmatická a infundibulárna časť III. mozgovej komory u kontinuálne ožiarených oviec. *Veter. Med. (Praha)*, 28, 1983, s. 419—427.
- SAAVEDRA, J. M.: Estradiol increase dopamine turnover in intermediate and posterior pituitary lobes of ovariectomized rats. *Cell. Mol. Neurobiol.*, 4, 1984, s. 397—402.
- SMOLICH, T. — SCHAUER, D. — WEBER, G. — BUSCH, W.: Morfokinetische Wirkung von PMSG und Sexualsteroiden auf Glieder der Zerebrohypophyse—gonadalen Asche anösterische Schafe. *Arch. exp. Veter. Med.*, 33, 1979, s. 141—149.
- STANÍKOVÁ, A. — ARENDARČIK, J. — MOLNÁROVÁ, M. — HALAGAN, J.: Kvantitatívne a kvalitatívne zmeny v hypotalame a v ependýme III. mozgovej komory oviec po ožiarení a hormonálnej stimulácii. *Veter. Med. (Praha)*, 33, 1988, s. 21—30.
- Van den POL, A. N.: The magnocellular and parvocellular paraventricular nucleus of rat. Intrinsic organization. *J. comp. Neurol.*, 206, 1982, s. 317—345.
- WELENTO, J. — SZTEYN, S. — MILART, Z.: Observations on the stereotaxic configuration of the hypothalamus nuclei in the sheep. *Anthropol. Anz.*, 124, 1968, s. 1—27.
- WOOD, J. H.: Physiology, pharmacology and dynamics of cerebrospinal fluid. In: WOOD, J. H. (ed.). *Neurobiology of cerebrospinal fluid*. New York, London, Plenum Press 1983, s. 1—16.

Došlo dňa 18. 1. 1991

PASTOROVÁ, B. — STANÍKOVÁ, A. — RAJTOVÁ, V. (University of Veterinary Medicine, Košice): *Biochemical and histological changes in the hypothalamus of hormonally stimulated ewes*. Veter. Med. [Praha], 36, 1991 (12): 725–736.

The effects were investigated of a hormonal preparation of serum gonadotrophin (SG) on neurosecretion, PAS—positive mucopolysaccharides and on histological changes in the third cerebral ventricle; at the same time variations were determined of catecholamine concentrations of ependyma surface in the hypothalamic regions that control directly reproductive functions in ewes of the Merino and Wallachian breeds in the oestrus period. Ewe oestrus was synchronized by insertion of Ageline (Spofa) sponges into the vagina. A dose of 2000 IU of serum gonadotrophin (Bioveta, Ivanovice in Haná) was administered to stimulate the ewes ($n = 30$). Twelve ewes of the Wallachian breed, six control and six test ones, were used for radioenzymatic detection of catecholamines [Catechola test, Prague]. The brains were segmented immediately after bleeding and samples were taken from the *eminencia medialis*, *area preoptica* and *corpus mamillare* pursuant to the stereotactic configuration of the sheep hypothalamus [Welento et al., 1968]. The brains of ten ewes of the Merino breed, four control and six test ones, and of eight ewes of the Wallachian breed (four control and four test ones) were used for histological treatment. For the purposes of a histological study, the brains were treated with current histological methods. The amount of neurosecretory material was assessed by light microscopy [Nakahara, 1963]. Samples for the study of ependyma of the lower part of the third cerebral ventricle were examined in a scanning electron microscope. The obtained results demonstrate a statistically significant decrease by 36.4 % ($P < 0.05$) in epinephrin concentrations in the *area preoptica* of hypothalamus after SG administration (Fig. 3), in comparison with the control group. A decrease in norepinephrin concentration in the *corpus mamillare* (Fig. 4) was statistically significant ($P < 0.001$). The dose of 2000 IU SG influenced most markedly catecholamine concentrations in the *eminencia medialis* (Fig. 5), where a statistically significant decrease in epinephrin and norepinephrin concentration was observed ($P < 0.01$). Dopamine concentrations also decreased significantly ($P < 0.05$) in the *eminencia medialis* (Fig. 5). Following the hormonal stimulation, a significant increase in dopamine and epinephrin concentrations was observed in the hypophysis of sheep (Fig. 6; $P < 0.05$) and in the epiphysis there was a significant decrease in epinephrin and dopamine concentration ($P < 0.01$). Neurosecretion and the activity of PAS reactions determined to demonstrate mucopolysaccharides, were elevated after hormonal stimulation. The observed variations in the ependyma surface around some nuclei point to elevated secretion. Dense microvilli and low blebs were found out in the lower part of infundibulum of the third cerebral ventricle; they occur mainly in the *eminencia mediana* in lambing ewes during anoestrus. In proestrus, dense fine microvilli cover the lower part of infundibulum and they form an irregular polyhedric pattern. Small miniblebs also occur sporadically (Fig. 7). During oestrus of lambing ewes there are suprapendymal cells in the lower part of infundibulum, the eminences of which are sunk in ependyma, or they form typically undulated membranes on the ependyma surface (Figs. 8 and 9). Apical membranes of ependyma tanocytes were covered with coarse microvilli and miniblebs after serum gonadotrophin administration (Fig. 11). The stimulative effects of hormonal preparation on neurosecretion and PAS positive mucopolysaccharides were more marked in the ewes of the Slovak Merino breed. As norepinephrin is considered as a neurosecretion inhibitor, neurosecretion multiplication in the hypothalamus nuclei after SG stimulation is in correlation with a decrease in hypothalamic norepinephrin.

sheep; ependyma; catecholamines; norepinephrin; dopamine; epinephrin; radioenzymatic method; neurosecretion; PAS—positive mucopolysaccharides

Adresa autorov:

RNDr. Bernádetta Pástorová, CSc., RNDr. Angela Staníková, CSc., doc. MVDr. Viera Rajtová, CSc., Vysoká škola veterinárska, Komenského 73, 041 81 Košice

VYHODNOTENIE VÝSLEDKOV ELISA PRI KVANTITATÍVOM STANOVENÍ PROTILÁTKO PROTI INFEKČNEJ BURZITÍDE HYDINY

J. Zajac, L. Novotná

ZAJAC, J. — NOVOTNÁ, L. (Bioveta, Nitra): *Vyhodnotenie výsledkov ELISA pri kvantitatívnom stanovení protilátok proti infekčnej burzitíde hydiny*. Veter. Med. [Praha], 36, 1991 (12): 737—743.

Vnímové kurčatá sme vakcinovali živou a revakcinovali inaktivovanou vakcínou proti infekčnej burzitíde. Pri sledovaní špecifických protilátok sme zaznamenali analogický priebeh titrov neutralizačných protilátok a ELISA. Vyšetrením súboru 138 vzoriek slepačieho séra sme preukázali vysokú koreláciu medzi titrami ELISA odčítanými vizuálne v rozsahu štvornásobných riedení séra a hodnotami absorbie odčítanými pri jednom riedení séra spektrofotometrom. Pomocou programu spektrofotometra sme zostavili stupnicu kvantifikácie protilátok podľa intenzity imunoenzymatickej reakcie. Aby bola metóda reprodukovateľná, robili sme hodnotenie v rozsahu ohraničenom priemernou absorbiou pozitívneho a negatívneho kontrolného séra. Ohraničený úsek bol rozdelený na desať rovnomerných častí, označených stupňami 0 až 9. Vyšetreným vzorkám bol priradený podľa stanovenej hodnoty absorbie zodpovedajúci stupeň pozitivity. Medzi uvedenými hodnotami ELISA a titrami neutralizačných protilátok bola významná korelácia. Precipitačná aktivita vzoriek bola limitovaná stupňom ELISA pozitivity a titrami neutralizačných protilátok.

infekčná burzitída hydiny; kvantifikácia protilátok; stupeň ELISA pozitivity; neutralizačné protilátky; precipitačné protilátky

V rámci vývoja imunoenzymatických metód v aviárnej virológii vypracovali Marquardt a i. (1980) mikromodifikáciu nepriameho testu ELISA na stanovenie protilátok proti infekčnej burzitíde. Pomocou novej metódy zaznamenali vzostup špecifických protilátok už na štvrtý deň po infekcii, maximálne hodnoty za sedem dní a dlhodobé pretrvávanie protilátok až jeden rok. V porovnaní s neutralizačným a agar-gélovým precipitačným testom hodnotili metódu ELISA ako úspornú, vysoko senzitívnu, špecifickú a dobre reprodukovateľnú. Analogické výsledky dosiahli Howie a Thorsen (1981), ktorí použili skúmavkovú modifikáciu metódy, peroxidázový konjugát vyrobený z králičieho séra proti slepačím imunoglobulínom, indikátorový systém 5-aminosalicylovej kyseliny a vyšetřovali špecifické protilátky v sérach sliepok a moriek po experimentálnej infekcii. Nicholas a i. (1985) hodnotili pomocou ELISA, neutralizačného testu a agar-gélovej precipitácie protilátkovú aktivitu v sé-

rach kurčiat po aplikácii inaktivovaných vakcín proti infekčnej burzitíde. Zaznamenali pritom tak koreláciu medzi hodnotami neutralizačného a agar-gélového precipitačného testu, ako aj medzi neutralizačným testom a ELISA. Imunoenzymatický test bol pritom podstatne citlivejší ako porovnávané metódy a vysoko reprodukovateľný. Na rozdiel od uvádzaných autorov, ktorí vyšetrovali protilátky pri odstupňovanom riedení séra, Solano a i. (1985) vypracovali systém kvantifikácie protilátok podľa intenzity farebnej reakcie pri vyšetrovaní sér v jednom riedení. Počítačové spracovanie výsledkov ELISA reakcie pri hodnotení úrovne humorálnej imunity proti významným vírusovým infekciám hydiny vypracovali Snyder a i. (1984) a v praxi použili Mallison a i. (1985). Jeho podstatou bola kvantifikácia protilátok podľa intenzity ELISA reakcie pri jednom riedení vyšetrovanej vzorky za pomoci titračnej priamky štandardného séra. Pre jednoduchú grafickú a tabelárnu interpretáciu výsledku bol stupeň positivity vyjadrený v rozsahu desiatich numerických hodnôt 0 až 9.

V predloženej práci opisujeme podstatu jednoduchej kvantifikácie protilátok podľa intenzity imunoenzymatickej reakcie na príklade infekčnej burzitídy hydiny a dosahované hodnoty porovnávame s výsledkami neutralizačného a agar-gélového precipitačného testu.

MATERIÁL A METÓDY

Imunoenzymatický test ELISA sme robili na mikrotitračných platničkách s plochým dnom jamiek. Na prípravu antigénu sme použili vírus infekčnej burzitídy hydiny, vakcinačný kmeň Z 2037, ktorý sme pomnožovali na kultúrach SPF kuracích embryonálnych buniek v Hanksovom roztoku s laktalbumínhydrolyzátom podľa Černíka a i. (1983). Koncentrovanie a purifikáciu vírusového materiálu sme robili ultracentrifugáciou v sacharózovom gradiente, modifikáciou metódy podľa Snydera a i. (1984).

V imunoenzymatickej reakcii sme použili peroxidázový konjugát, pripravený z ovčích afinitne čistených protilátok proti slepačiemu imunoglobulínu G [Ch IgG ENZYKON], výrobok Bioveta Nitra. Prípravu roztokov a optimalizovanie reakcie sme robili vopred odskúšanou technikou, ako je opísané v predchádzajúcej práci (Zajac a Žuffa, 1988).

Pri vyšetrovaní sme postupovali nasledovným spôsobom:

1. Antigén vo väzobnom roztoku sme naniesli do jamiek mikrotitračnej platničky po 0,1 ml a inkubovali cez noc pri chladničkovj teplote. Potom sme jamky vyprázdňili a premyli.

2. Kvantitatívne stanovenie protilátok sme robili dvojakým spôsobom:

— Titer ELISA sme vyšetrovali pri štvornásobnom riedení séra od 1:20 do 1:20480; do prvej jamky s obsahom 0,19 ml roztoku ELISA sme naniesli 0,01 ml séra, premiešali a prenásali ďalej po 0,05 ml v rade jamiek s obsahom 0,15 ml ELISA roztoku. Na každej platničke sme riedili rovnakým spôsobom kontrolné pozitívne a negatívne séra.

— Stupeň ELISA positivity sme vyšetrovali pri jednom riedení séra 1:20; vzorky vyšetrovaného séra sme nanášali po 0,01 ml vždy do dvoch jamiek s obsahom 0,19 ml ELISA roztoku. Rovnako sme nanášali na každú platničku kontrolné séra. Platničky sme prikryli viečkom a inkubovali hodinu pri teplote 37°C. Potom sme jamky vyprázdňili a trikrát premyli.

3. Do jamiek sme naniesli po 0,1 ml roztok konjugátu a inkubovali hodinu pri teplote 37°C. Potom sme jamky vyprázdňili a premyli.

4. Do jamiek sme naniesli substrátový roztok 5-aminosalicylovej kyseliny po 0,1 ml a za 30 až 60 minút sme odčítali reakciu:

— Vizuálne pri stanovení titrov ELISA podľa intenzity zafarbenia substrátového roztoku v jamkách pri štvornásobnom riedení séra. Intenzitu zafarbenia sme hodnotili:
+++ sýto fialovočervené zafarbenie,
++ fialovočervené zafarbenie,
+ zreteľne ružovočervené zafarbenie,
± nevýrazné ružové zafarbenie.

Výsledný titer sme stanovili pri riedení séra, kde bola intenzita zafarbenia hodnotená $\pm$. Pri reakcii hodnotenej $\pm$ bol výsledný titer o polovicu nižší.

— Spektrofotometrom sme pri 490 nm odčítali a vyhodnotili reakciu na zariadení Mini-reader II fy Dynatech, pomocou programu LIMIT. Pritom sme definovali spodnú hraničnú hodnotu „Lo limit“ ako priemer absorbancie pri negatívnych kontrolách a hornú hraničnú hodnotu „Hi limit“ ako priemer absorbancie pri pozitívnych kontrolách.

Titre neutralizačných protilátok proti vírusu infekčnej burzitídy hydiny sme vyšetrovali skrátenou modifikáciou neutralizačného testu podľa Černíka a i. [1983].

Agar-gelový precipitačný test pri stanovení protilátok proti infekčnej burzitíde sme robili podľa Salaja a i. [1988].

Vyšetrovaný materiál reprezentovali dva súbory vzoriek:

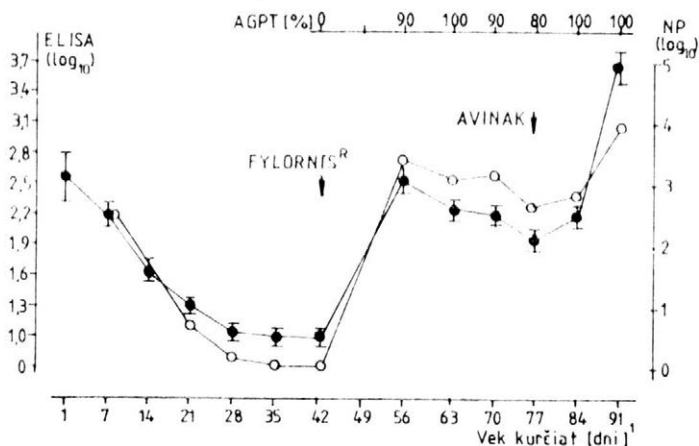
1. Séra kurčiat hybridu Shaver Starcross 288, ktoré sme od prvého dňa veku chovali v podmienkach izolácie. Vo veku 42 dní sme kurčatám podali *per os* po 0,5 ml živej vakcíny proti infekčnej burzitíde FYLORNIS^R fy Bioveta Nitra. Za ďalších päť týždňov sme kurčatá očkovali *intra muskulárne* dávkou po 0,5 ml inaktivovanej vakcíny AVINAK ND + GO proti pseudomuru a infekčnej burzitíde hydiny, fy Bioveta Nitra. Vo veku 1, 7, 14, 21, 28, 35, 42, 56, 63, 70, 77, 84 a 91 dní sme vždy od desiatich kurčiat odoberali punkciou srdca vzorku krvi na sérologické vyšetrenie.

2. Súbor 138 vzoriek slepačieho séra, získaných na území západného Slovenska v chovoch hydiny rozdielnych plemien a vekových kategórií.

Kontrolné séra. Ako kontrolné negatívne sérum pri ELISA stanovení sme použili zmesku sér SPF kurčiat. Pozitívne kontrolné sérum sme získali, ako uvedieme vo výsledkoch od kurčiat vakcínovaných a revakcínovaných proti infekčnej burzitíde.

VÝSLEDKY

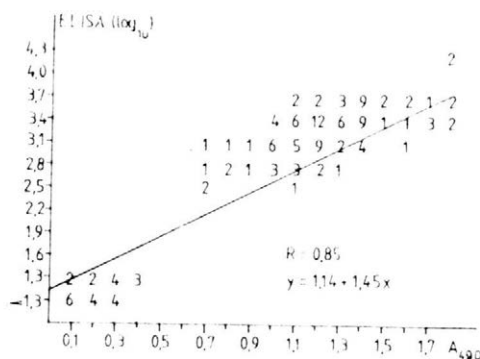
Za pomoci troch rozdielnych metód sme sledovali dynamiku materských a postvakcinačných protilátok proti vírusu infekčnej burzitídy v sérach kurčiat vakcínovaných živou a následne inaktivovanou vakcínou. Metódou ELISA sme pritom zisťovali titre špecifických protilátok pri štvornásobnom riedení vyšetrovaných vzoriek, vizuálnym hodnotením reakcie. U jednotlivých odberov uvádzame priemerné hodnoty titrov ELISA, neutralizačných protilátok a percento vzoriek s obsahom precipitačných protilátok na obr. 1. Podľa dosiahnutých výsledkov mala dynamika mater-



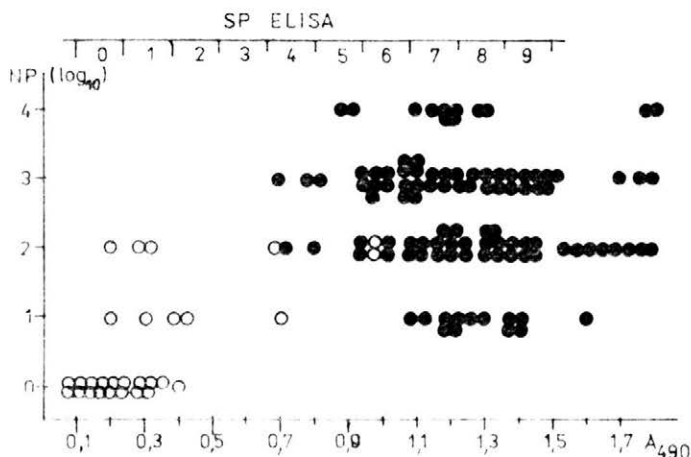
1. Dynamika titrov ELISA — ● neutralizačných protilátok (NP—○) a percento vzoriek pozitívnych pri vyšetrení agar-gelovým precipitačným testom (% AGPT) v sérach kurčiat vakcínovaných živou a inaktivovanou vakcínou proti infekčnej burzitíde — Dynamics of ELISA titres — ● and neutralizing antibodies (NP—○), and percentage of positive samples in the agar-gel precipitin test (% AGPT), in the serums of chicks vaccinated with live and inactivated vaccine against infectious bursal disease

ských protilátok, stanovená ELISA a neutralizačným testom, charakteristicky zostupný priebeh, výrazný najmä v intervale prvých 21 dní. V dobe aplikácie živej vakcíny, vo veku 42 dní, sme v sérach kurčiat protilátky nezistili. V intervale dvoch týždňov po vakcinácii nastal výrazný vzostup protilátok, pričom titre ELISA dosahovali priemernú hodnotu $2,5 \log_{10}$, titre neutralizačných protilátok $2,7 \log_{10}$ a precipitačné protilátky vykazovalo 90 % vzoriek. U ďalších odberov, vo veku 63, 70 a 77 dní boli hodnoty ELISA titrov 2,3, 2,2 a $2 \log_{10}$, titre neutralizačných protilátok boli 2,5, 2,6 a $2,2 \log_{10}$ a precipitačné protilátky malo 100 %, 90 % a 80 % vzoriek. Týždeň po revakcinácii sme dokázali slabý vzostup titrov ELISA na $2,2 \log_{10}$ a neutralizačných protilátok na $2,4 \log_{10}$. Najvyššie hodnoty titrov ELISA $3,6 \log_{10}$ a neutralizačných protilátok $2,9 \log_{10}$ sme zistili v sérach dva týždne po revakcinácii. Po imunizácii krdľa inaktivovanou vakcínou vykazovali všetky séra precipitačnú aktivitu. Séra s najvyšším obsahom protilátok sme zmiešali a použili ako pozitívne kontrolné sérum.

Rozdielnou technikou ELISA, neutralizačným a agar-gélovým precipitačným testom sme vyšetrili 138 vzoriek slepačieho séra. Porovnanie titrov ELISA stanovených vizuálnym odčítaním reakcie v rozsahu štvornásobných riedení séra s hodnotami absorbancie odčítanými spektrofotometrom pri riedení séra 1:20 uvádzame na obr. 2. Korelačný koeficient bol 0,85 a rovnica regresnej priamky $y = 1,14 + 1,45x$. Na obr. 3 je vyznačené, ako sme u vyšetrovaných vzoriek stanovili podľa výsledkov spektrofotometrického odčítania reakcie stupne ELISA pozitivity, v rozsahu ohraničenom priemernými hodnotami absorbancie, ktoré sme namerali pri kontrolnom pozitívnom a negatívnom sére. Medzi titrami neutralizačných protilátok a hodnotami ELISA bola korelácia $r = 0,61$. Z celkového počtu 138 sér bolo 109 pozitívnych v agar-gélovom precipitačnom teste. Negatívne boli vzorky, ktoré nepresahovali stupeň ELISA pozitivity 3, a séra bez neutralizačných protilátok. Všetky séra s minimálnym stupňom ELISA pozitivity 7 a séra s titrami neutralizačných protilátok $3 \log_{10}$ a vyššie vykazovali precipitačnú aktivitu.



2. Korelácia medzi titrami ELISA stanovenými vizuálne v rozsahu vzostupných riedení a hodnotami absorbancie odčítanými pri vyšetrení vzoriek v jednom riedení — Correlations between the ELISA titres determined visually within the increasing dilutions and the absorbance values determined in the samples with single dilution



3. Porovnanie výsledkov vyšetrenia súboru 138 vzoriek slepačieho séra. Rozsah stupňov ELISA pozitivity je ohraničený priemernými hodnotami absorbcancie pozitívneho a negatívneho séra. Vzorky s precipitačnou aktivitou sú vyznačené plnými krúžkami. Korelácia $r=0,61$ bola stanovená medzi hodnotami ELISA a titrami neutralizačných protilátok (NP) — A comparison of the results of examination of a set of 138 samples of fowl serum. The extent of ELISA positivity degrees is limited by the average absorbance values of positive and negative serum. Solid circles designate samples with precipitin activity. The correlation $r=0.61$ was determined between the ELISA values and titres of neutralizing antibodies (NP)

DISKUSIA

Hodnotenie výsledkov nepriameho testu ELISA sme robili pri kvantitatívnom stanovení protilátok proti infekčnej burzitíde hydiny, pričom sme ich porovnávali s výsledkami klasických vyšetrovacích postupov. Dynamika materských a postvakcinačných protilátok, ako sme ju zaznamenali metódou ELISA a neutralizačným testom, mala analogický priebeh. Výsledky zistené po očkovaní vnímavých kurčiat živou vakcínou zodpovedajú údajom, ktoré zaznamenali V i n d e v o g e l a i. (1975) pri porovnávaní neutralizačného a agar-gélového precipitačného testu. Pri použití ELISA dosiahli porovnateľné výsledky s našimi M a r q u a r d t a i. (1980) a N i c h o l a s a i. (1985). Technika testu titrácie protilátok, ako to uvedení autori opísali, vyžaduje vyšetrované vzorky riediť a je materiálovo nákladnejšia a málo efektívna. Naproti tomu kvantifikácia protilátok podľa intenzity imunoenzymatickej reakcie pri jednom riedení séra, ako to opísali S n y d e r a i. (1984), alebo S o l a n o a i. (1985) je úsporná a efektívne využíva technické zariadenie. V našej práci sme podali dôkaz o tom, že výsledky takéhoto vyšetrenia sú rovnako objektívne, nakoľko medzi hodnotami spektrofotometrického merania a titrami ELISA stanovenými vizuálne bola vysoká korelácia $r=0,85$. Za účelom jednoduchého vyhodnotenia reakcie sme podľa modelu, ktorý vypracoval S n y d e r a i. (1984), zostavili pomocou programu stupnicu kvantifikácie špecifických protilátok podľa údajov odčítaných spektrofotometrom.

V rozsahu ohraničenom priemernými hodnotami absorbancie pozitívneho a negatívneho kontrolného séra bolo vyznačených desať rovnomerných úsekov označených 0 až 9, ktoré predstavujú stupne ELISA pozitivity. Celý proces odčítania a vyhodnotenia sme robili na spektrofotometri fy Dynatech programom LIMIT. Za rovnakým účelom je možné využiť spektrofotometre fy Flow a Labsystém Oy, u ktorých to umožňuje analogický program RANGE. Za predpokladu, že na každej mikrotitračnej platničke sú okrem vyšetrovaných vzoriek štandardné kontrolné séra, výsledky hodnotenia sú objektívne a reprodukovateľné. Spektrum pozitivity pritom závisí na obsahu protilátok v štandardnom pozitívnom sére. V našej práci sme za daným účelom použili sérum kurčiat revakcinovaných inaktivovanou vakcínou s maximálnymi titrami protilátok. Medzi titrami neutralizačných protilátok a hodnotami ELISA, ktoré sme získali vyšetrením súboru 138 vzoriek slepačieho séra bola signifikantná korelácia $r = 0,61$, porovnateľná s hodnotou $r = 0,656$, ktorú uvádza Nicholas a i. (1985). Podľa výsledkov Solana a i. (1985) môže stupeň korelácie medzi hodnotami ELISA a neutralizačného testu významne kolísať. Autori vypočítali nízku hodnotu $r = 0,4$ pri vyšetrení sér získaných v rozdielnych časových intervaloch od kurčiat vakcinovaných opakovane živou a potom inaktivovanou vakcínou proti infekčnej burzitíde. Pri vyšetrení súboru sér získaných za rovnakých podmienok od kurčiat vakcinovaných jednokrát živou a inaktivovanou vakcínou bol korelačný koeficient $r = 0,74$. Najvyššiu koreláciu ($r = 0,82$) dosahovali hodnoty v sérach kurčiat, ktoré neboli vakcinované a obsahovali materské protilátky. Pri ďalšom porovnávaní výsledkov sme zistili, že precipitačná aktivita séra je limitovaná stupňom ELISA pozitivity ako aj titrami neutralizačných protilátok. Rozdiely medzi výsledkami ELISA a ďalších metód zaznamenali aj iní autori. Marquardt a i. (1980) ich vysvetľuje divergenciou v reakcii antigénu s protilátkou pri rozdielnych testoch a Snyder a i. (1983) a Wilcox a i. (1983) heterogenitou špecifických protilátok.

Dosiahnuté výsledky svedčia pre to, že technika ELISA v uvedenej modifikácii je metóda senzitívna a špecifická a použitý spôsob hodnotenia výsledkov umožní získať v krátkom čase prehľad o úrovni humorálnej imunity proti infekčnej burzitíde v krdľoch hydiny.

Literatúra

- ČERNÍK, K. — ČASNOCHA, E. — ZAJAC, J.: FYLORNIS^R — živá, tekutá a lyofilizovaná vakcína proti infekčnej burzitíde. [Záverečná správa.] Nitra, Bioveta 1983. 285 s.
- HOWIE, R. — THORSEN, J.: An enzyme-linked immunosorbent assay for infectious bursal disease virus. *Can. J. comp. Med.*, 45, 1981, s. 51—55.
- MALLISON, E. T. — SNYDER, D. B. — MARQUARDT, W. W.: Presumptive diagnosis of subclinical infections utilizing computer-assisted analysis of sequential ELISA against multiple antigens. *Poult. Sci.*, 64, 1985, s. 1661—1669.
- MARQUARDT, W. W. — JOHNSON, R. B. — ODENWALD, W. F. — SCHLOTTHOBER, B. A.: An indirect enzyme-linked immunosorbent assay for measurement antibodies in chickens infected with infectious bursal disease virus. *Avian Dis.*, 24, 1980, s. 375—385.
- NICHOLAS, R. A. J. — REED, N. E. — WOOD, G. W. — HERBERT, C. N. — MUSKETT, J. G. — THORNTON, D. H.: Detection of antibodies against infectious bursal disease virus: A comparison of three serological methods. *Res. veter. Sci.*, 38, 1985, s. 189—192.
- SALAJ, J. — ZAJAC, J. — ČASNOCHA, E. — ŠESTÁK, K.: Diagnostika niektorých vírusových ochorení hydiny ELISA testom. [Záverečná správa.] Nitra, Štátny veterinárny ústav 1988. 31 s.
- SNYDER, D. B. — MARQUARDT, W. W. — MALLISON, E. T. — SAVAGE, P. K. — ALLEN, D. D.: Rapid serological profiling by enzyme-linked immunosorbent assay. Simulta-

neous measurements of antibody titers to infectious bronchitis, infectious bursal disease and Newcastle disease viruses in single serum dilution. Avian Dis., 28, 1984, s. 12–24. SOLANO, W. — GIAMBRONE, J. J. — PANAGALA, V. S.: Comparison of a kinetic-based enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) and virus-neutralization test for infectious bursal disease virus. I. Quantitation of antibody in white leghorn hens. Avian Dis., 29, 1985, s. 662–671.

VINDEVOGEL, H. — MEULEMANS, G. — HALEN, P.: Maledie de Gumboro cinetique anticorps precipitants et neutralisant. Ann. Méd. vétér., 119, 1975, s. 221–225.

WILCOX, G. E. — NANDAPALAN, N. — FLOWER, R. L. P. — FRY-SMITH, D.: Comparison of a microneutralization test with ELISA and precipitating test for detection of antibodies to infectious bronchitis virus in chickens. Austral. veter. J., 60, 1983, s. 119 to 122.

ZAJAC, J. — ŽUFFA, A.: Vyhodnotenie imunoenzymatickej reakcie pri kvantifikovaní protilátok proti vírusu infekčnej bovinnej rinotracheitídy. Veter. Med. [Praha], 33, 1988, s. 643–650.

Došlo dňa 4. 2. 1991

ZAJAC, J. — NOVOTNÁ, L. (Bioveta, Nitra): *Evaluation of ELISA results at quantitative determination of antibodies to infectious bursal disease virus*. Veter. Med. [Praha], 36, 1991 [12]: 737–743.

Specific antibodies were investigated in serums of chicks vaccinated with live vaccine and revaccinated with inactivated vaccine against the infectious bursal disease virus, using three methods. An ELISA technique was used to determine antibody titres at a fourfold serum dilution; the reaction was evaluated visually. The results were compared with the titres of neutralizing antibodies and percentage of samples with precipitin activity (Fig. 1). The average values of neutralizing antibody titres and ELISA titres were found to have an analogical pattern; a decrease in maternal antibodies on the first days of chick life and an increase in the antibodies after vaccination, accompanied by an increase in precipitin activity, were typical in these tests. Using the different ELISA technique, 138 samples of fowl serum were examined (Fig. 2). The high correlation, $r=0.85$, was found between the ELISA titres determined by visual reading of the reaction within the fourfold serum dilutions and the absorbance values determined at single serum dilution. Applying a spectrophotometer programme, a scale of antibody quantification was made up pursuant to the intensity of immunoenzymatic reaction. For the purposes of method reproducibility, the evaluation was made within the average values of absorbance of positive serum on the one hand and of negative serum on the other. The span of these values was divided into ten equal parts, designated by degrees 0 to 9. Corresponding degrees of positivity were assigned to the examined samples in dependence on the determined value of absorbance (Fig. 3). The correlation $r=0.61$ was found between the ELISA values and the titres of neutralizing antibodies. The precipitin activity of the examined serum samples was limited by the degree of ELISA positivity or by the titre of neutralizing antibodies.

infectious bursal disease of fowl; antibody quantification; degree of ELISA positivity; neutralizing antibodies; precipitin antibodies

Adresa autorov:

MVDr. Ján Zajac, MVDr. Libuše Novotná, Bioveta, š. p., 949 91 Nitra

Upozorňujeme čtenáře, že v čísle 1/92 časopisu

VETERINÁRNÍ MEDICÍNA

mají být uveřejněny tyto příspěvky:

Antalíková L., Rozínek J.: Morfologicko-cytochemické studium jadérek Sertoliho buněk přežvýkavců

Jalč D., Baran M., Petkov A. I., Oblakov N. C., Enev E. I.: Efektivnost vplyvu monenzínu (USA, ČSFR, Bulharsko) na fermentáciu krmnej dávky v umelom bachore (Rusitec)

Hanuš O., Benda P., Genčurová V.: Milkofix pro účely infračervené analýzy základního složení mléka. I. Ověření bakteriostatických a baktericidních vlastností a interferenčního vlivu

Hanuš O., Genčurová V., Žváčková I.: Testování nového konzervačního přípravku vzorků mléka Milkofix pro účely infračervené analýzy základního složení mléka. II. Ověření konzervačního účinku ve vztahu k infračervené analýze

Massanyi I., Janisch R.: Ultrastruktúra membrán kančích spermií preparovaných mrazovým lomom

Švobodová V., Nevole M.: Diagnostika sarkocystózy ovčí metodami NFR a ELISA

Krokavec M., Šimo K., Martinko A., Krokavcová M.: Štúdium hodnôt ukazovateľov metabolického profilu vo veľkochovoch kôz v priebehu ročných období

Máchová M., Drobníková V., Titěra D., Vejdovská A., Křišťanová O., Henzl Š.: Preventivní použití tylosinu ve včelstvech ohrožených morem plodu a jeho rezidua v medu a cukerných zásobách

V. Míčková

MÍČKOVÁ, V. [Státní veterinární ústav, Ostrava]: *Listeria monocytogenes* v potravinách. Veter. Med. (Praha), 36, 1991 (12): 745—750.

Sledovali jsme frekvenci výskytu bakterií *Listeria monocytogenes* v různých druzích potravin po dobu jednoho roku. Ze 700 různých druhů vzorků (mléko syrové, mléko pasterované, povrch mas, drůbež, sýry, masné výrobky tepelně neopracované, výrobní zařízení masného průmyslu) bylo izolováno 51 kmenů *L. monocytogenes* (tj. 7,2 %). Nejvíce kmenů bylo izolováno z povrchu mas (13,5 %) a z výrobního zařízení masného průmyslu (12,72 %). U drůbeže byl zjištěn 10% výskyt z povrchu, nižší nálezy (5 %) byly zjištěny ze sýrů, tepelně neopracovaných masných výrobků (3,8 %) a ze syrového mléka (3,3 %). Z pasterovaného mléka nebyl zjištěn žádný kmen. Kromě chladové inkubace byla ověřena metodika dvojího pomnožení pro záchyt listerií z potravin a selektivní médium LPM agar, který se ukázal jako vhodný. Byla ověřena metoda CAMP-testu s exolátkou *Rhodococcus equi* jako vhodný test pro odlišení *L. monocytogenes* od ostatních listerií.

Listeria monocytogenes; potraviny; frekvence výskytu; metodika; selektivní média; CAMP-test

L. monocytogenes, původně mikrob vyvolávající onemocnění zvířat, se v hospodářsky vyspělých zemích stává již od roku 1985 původcem alimentárních onemocnění lidí. Možnosti vzniku závažných onemocnění v důsledku kontaminace potravin bakteriemi *L. monocytogenes* potvrzují hromadná onemocnění lidí v USA, Kanadě, Francii, Švýcarsku, Jugoslávii a dalších zemích (Wehr, 1987; Schönberg, 1988), a to po požití mléka, mléčných produktů, ale i zeleniny a masa. Z těchto důvodů také Světová zdravotnická organizace vydala zprávu, týkající se prevence a kontroly listeriózy (WHO, 1988) a společně s OIE (Office International des Epizooties) uspořádala v Maďarsku Mezinárodní sympozium o problémech listeriózy (1988), který se mimo všech možných aspektů listeriózy zabýval i výskytem listerií v potravinách, surovinách živočišného původu a v prostředí (Smola, 1989).

Hygienické laboratoře v Československu, zabývající se prevencí alimentárních onemocnění, se touto problematikou začaly zabývat až na základě výše zmíněných literárních údajů o hromadných onemocněních lidí s cílem zajistit diagnostickou připravenost pro výskyt případných

epidemií, ale také zabezpečit podmínky exportu různých druhů potravin, u kterých je nepřítomnost těchto mikrobů vyžadována.

Cílem naší práce bylo zjistit na základě vhodně zvolené metodiky frekvenci výskytu *L. monocytogenes* v různých druzích potravinářského materiálu v dostupné lokalitě našeho pracoviště, jakož i ověřit dostupná živná média.

MATERIÁL A METODY

Předmětem sledování (období únor 1988 až březen 1990) byly živočišné produkty, dostupné v nasávací oblasti našeho pracoviště, a to syrové mléko (177 vzorků), pasteurizované mléko v obchodním balení (30 vzorků), sýry (120 vzorků), stěry z povrchu vepřového a hovězího masa (185 vzorků), masné výrobky tepelně neopracované (78 vzorků), jatečně opracovaná drůbež — stěry (40 vzorků) a stěry z výrobního prostředí masného průmyslu (55 vzorků).

K cílenému vyšetření jsme používali dvou metod, které jsme volili vzhledem k charakteru vzorku (stěr, tekutý, tuhý vzorek):

U odebraných bakteriologických stěrů a u mléka jsme používali klasické metody chladové inkubace, a to ve VF bujónu IMUNA s přidavkem 0,2 % glukózy, inkubace po dobu 14 dnů při teplotě 4 °C s následným vyočkováním na agar s tryptosou, kyselinou nalidixovou a akriflavinem (inkubace při teplotě 37 °C po dobu 2 dnů a další den při teplotě laboratoře). Podezřelé kolonie, tj. drobné, v dopadajícím světle modře nazelenalé, jsme vyočkovávali na výseče krevního agaru a dále prováděli úkony běžné v mikrobiologické laboratoři.

Sýry, masné výrobky tepelně neopracované, jsme vyšetřovali podle metodiky amerických autorů (Lee a McClain, 1988), která spočívala v navážce vzorku (25 g) a ve dvojnásobném pomnožení ve výživných bujónech (Listeria Enrichment Broth I a II), které se liší od sebe obsahem akriflavinu. Vyočkování jsme prováděli na selektivní médium LPM agar s obsahem lithium chloridu, glycinu a antibiotika moxalactamu (Yoshida, 1980). Inkubaci jsme prováděli při teplotě 37 °C po dobu 48 hodin. Drobné, světlé kolonie s namodralým nádechem jsme přeočkovávali stejně jako u klasické metody na krevní agar, prováděli jsme mikroskopický preparát, katalázu, oxidázu, manit, dusitany a pohyblivost v Difco motility médiu (charakteristický deštníkový tvar). Pohyblivé, manit a dusitany negativní kolonie s pozitivní katalázovou reakcí jsme dále podrobili testaci na pozitivitu glukózy, rhamnózy, salicinu, MRT a negativitu xylózy (Elischerová, 1981).

Jako důležitou součást diferenciální diagnostiky jsme prováděli Camp-test, založený na potencování hemolytické aktivity vyšetřovaného kmene *Listeria* s exolátkou *Rhodococcus equi* ve stupni partiální purifikace (Skalka, 1982). Jako kontrolu jsme používali kmeny *L. monocytogenes* CCM 5576, *L. innocua* CNCTC 40/88 a *L. ivanovii* CNCTC 28/72. Vytvoření hemolýzy jsme posuzovali po krátké expozici v lednici. Jako médium pro posouzení hemolytické aktivity byl používán Columbia agar Base OXOID s propyranými erythrocyty IMUNA. Exolátku *Rhodococcus equi* jsme získali z katedry mikrobiologie Vysoké školy veterinární. Rozplněnou do lahvíček jsme ji uchovávali v mrazničce.

VÝSLEDKY

Ve sledovaném období jsme na *L. monocytogenes* vyšetřili 700 vzorků různých druhů potravin a bakteriologických stěrů a izolovali jsme 51 kmenů, což činí 7,2 % z celkem vyšetřených vzorků.

Jak je patrné z tab. I, nejvíce kmenů bylo izolováno z povrchu mas (13,5 %), dále z výrobního zařízení masného průmyslu (12,72 %), z drůbeže (10 %), ze sýrů (5 %). Nižší nálezy byly zjišťovány u tepelně neopracovaných masných výrobků (3,8 %) a ze syrového mléka (3,3 %). Pasterované mléko nevykazovalo žádný nález.

Kmeny izolované chladovou inkubací i pomnožovací technikou rostly dobře na použitých selektivních médiích (na půdě s tryptonem, kyselinou nalidixovou a akriflavinem a na LPM agaru). Na krevním agaru s beraní krví tvořily drobné kolonie s mírnou viridací nebo bez ní.

I. Výskyt *L. monocytogenes* v potravinách (období únor 1988 až březen 1990) —
The occurrence of *L. monocytogenes* in foods (February 1988 to March 1990)

Druh materiálu ¹	Počet vyšetření ²	Počet izolovaných kmenů ³	
		absolutní ⁴	%
Syrové mléko ⁵	177	6	3,3
Pasterované mléko ⁶	30	0	0
Sýry ⁷ a	120	6	5
Masné výrobky tepelně neopracované ⁸ b	78	3	3,8
Stěry z povrchu mas ⁹ c	185	25	13,5
Stěry z drůbeže ¹⁰ d	40	4	10
Stěry z výrobního zařízení masného průmyslu ¹¹	55	7	12,72
Celkem ¹²	700	51	7,2

a = olomoucké tvarůžky	69 (6)	— small cakes of Olomouc cheese	69 (6)
jihocheský zrající sýr	8 (0)	— South-Bohemian ripening cheese	8 (0)
sýr Primátor	2 (0)	— Primátor hard cheese	2 (0)
sýr ovčí	10 (0)	— sheep cheese	10 (0)
eidamská cihla	31 (0)	— Eidamer hard cheese	31 (0)
b = dunajská klobása	29 (1)	— Dunajská sausage	29 (1)
čajový salám	48 (2)	— mettwurst sausage	48 (2)
c = povrch vepřových půlek	120 (13)	— surface of pork sides	120 (13)
povrch hovězích čtvrtí	65 (12)	— surface of beef quarters	65 (12)
d = povrch drůbeže	20 (4)	— poultry surface	20 (4)
tělní dutiny	20 (0)	— body cavities	20 (0)

¹ kind of material, ² number of examinations, ³ number of isolated strains, ⁴ absolute, ⁵ raw milk, ⁶ pasteurized milk, ⁷ cheeses, ⁸ thermally not treated meat products, ⁹ samples from meat surface, ¹⁰ samples from poultry, ¹¹ samples from meat—industry machinery, ¹² total

Všechny kmeny byly pohyblivé v Difco motility médiu s charakteristickým tvarem růstu. Z biochemických vlastností byly všechny kmeny kataláza pozitivní, manit a dusitany negativní, zkvašovaly glukózu, salicin, rhamnózu (pouze dva kmeny byly rhamnóza negativní), tvořily kyselinu octovou a jantarovou. D-xylóza byla u všech kmenů negativní.

Na agaru s propranými erytrocyty došlo k jasnému potencování hemolýzy vřetenovitého tvaru s exolátkou *Rhodococcus equi* v souladu s kontrolním kmenem *L. monocytogenes*. *L. innocua* netvořila žádnou hemolýzu a *L. ivanovi* zvýrazněnou hemolýzu lopatkovitého tvaru.

DISKUSE

V poslední době se laboratorní diagnostika listerií stává problémem potravinářské mikrobiologie vzhledem k častému přenosu listerií ze zvířat na lidi potravinami živočišného původu, zvláště mléčnými výrobky, ale i jinými potravinami, sekundárně kontaminovanými listeriami (Elischerová, 1981).

Naše nálezy ze syrového mléka (3,3 %) a z pasterovaného mléka (0) se shodují s údaji např. autorů z USA (Lovett aj., 1987), kteří uvádějí u syrového mléka 4,2 % a u pasterovaného mléka nulový záchyt. Počet izolovaných kmenů uvádějí vyšší v letních měsících, na rozdíl od španělských autorů (Gomez — Lucia, 1987), kteří izolovali nejvíce kmenů v zimních měsících. V naší práci nelze prokázat sezónnost výskytu, jelikož většinu vyšetření jsme prováděli v zimním období.

Rozdíl mezi oběma metodami, tj. chladovou a pomnožovací, sledovali rovněž různí autoři a došli k závěru, že chladová inkubace je sice značně nevýhodná vzhledem k době obdržení výsledku a možnosti zajištění následných opatření v potravinářském průmyslu, na druhé straně nenarušuje jak množství izolovaných kolonií, tak i morfologii kolonií listerií, což není samozřejmě žádoucí vzhledem k odlišení od ostatních mikroorganismů (Leighton, 1979). V naší práci jsme pozorovali růst drobnějších kolonií na LPM agaru a na agaru s akriflavinem, ne na krevních agarrech.

Záchyt ze sýrů (5 %) lze hodnotit jako nízký vzhledem k malému sortimentu vyšetřených sýrů (všechny kmeny byly izolovány z olomouckých tvarůžků). Měkké zrající sýry se tedy jeví jako materiál, ve kterém nálezy listerií by byly pravděpodobné. Němečtí autoři (Tham aj., 1988) uvádějí 48% nález *L. monocytogenes* u měkkých sýrů z kozího mléka a čerstvých sýrů. U sýrů tvrdých nebyl rovněž žádný nález listerií. U sýrů zrajících pod mazem uvádějí 2,5% záchyt *L. monocytogenes*, což odpovídá našim nálezům.

Nálezy v tepelně neopracovaných masných výrobcích (3,8 %) je možno hodnotit jako nízké, vzhledem ke značným nálezům na syrovém mase.

Přesto, že nejvíce kmenů (13,5 %) jsme izolovali z povrchu mas v masném průmyslu a rovněž z prostředí (12,72 %), jsou naše nálezy nižší, než uvádí např. Elischerová (1976).

Výskyt listerií u drůbeže (stěry z povrchu a z dutin) je nízký (10 %) a podle některých autorů (Doyle, 1986; Nicolas, 1987) závisí na hygienické úrovni při zpracování.

Použití živných médií, tekutých i tuhých, bylo zvoleno po prostudování složení řady médií doporučených různými autory v zahraničí (McClain, 1988; Doyle, 1986; Lee, 1986; Leighton, 1979) hlavně z hlediska jejich dostupnosti pro naši laboratoř. LPM agar se ukázal jako vhodný, je doporučován zvláště pro izolaci z masa. Toto médium vzniklo z Baird-Parkerova agaru a obsahuje moxalactam jako širokospektrální antibiotikum na většinu Gram + i Gram — bakterií. Obsah glycinu se rovněž některými autory připisuje částečný inhibiční účinek na listerie (Lee, 1986).

Pokud se týká typizace *L. monocytogenes*, vycházeli jsme z prací autorů Skalcká aj. (1982, 1983). Jejich závěry týkající se hemolytických exolátů listerií a jejich vztahu k patogenitě druhu i k virulenci kmene byly potvrzeny i dalšími autory (Geoffroy aj., 1987), kteří označili hemolytickou exosubstanci *L. monocytogenes* jako listeriolysin O.

Poděkování

Děkuji upřímně doc. MVDr. Borisi Skalckovi, DrCs., z Vysoké školy veterinární za poskytnutí exolátky *Rhodococcus equi* a za cenné odborné rady k dané problematice.

Literatura

- McCLAIN, D. — LEE, W. H.: Development of USDA—FSIS method for isolation of *Listeria monocytogenes* from raw meat and poultry. J. Assoc. Off. Anal. Chem., 71, 1988, s. 660—664.
- DOYLE, M. P. — SCHOENI, J. L.: Selective enrichment procedure for isolation of *Listeria monocytogenes* from fecal and biologic specimens. Appl. Envir. Microbiol., 51, 1986, s. 1127—1129.
- ELISCHEROVÁ, K.: Novšie poznatky o epidemiológii listeriózy. In: Sbor. Ref. O diagnostice Gram + bakterii, Olomouc, 1976.
- ELISCHEROVÁ, K.: Štandardné metódy laboratornej diagnostiky nákaz vyvolaných *Listeria monocytogenes*. Príloha z Acta hyg., epid., et microb., č. 10, 1981 a č. 4, 1989, IHE Praha a VÚPL Bratislava.
- GOMEZ—LUCIA, E. aj.: Occurrence of *Listeria monocytogenes* in raw milk. Veter. Rec., 120, 1987, s. 258—259.
- LEE, W. H. — D. McCLAIN: Improved *Listeria monocytogenes* selective agar. Appl. Envir. Microbiol., 52, 1986, s. 1215—1217.
- LEIGHTON, I.: Use of selective agents for isolation of *Listeria monocytogenes*. Med. Lab. Sci., 36, 1979, s. 283—288.
- LOVETT, J. — FRANCIS, D. W. — HUNT, J. M.: *Listeria monocytogenes* in raw milk: detection, incidence and pathogenicity. J. Fd Prot., 50, 1987, s. 188—192.
- NICOLAS, J. A. — VIDAUD, N.: Contribution à l'étude des *Listeria* présentes dans les d'anrées d'origine animale destinés à la consommation humaine. Rec. Med. Véter., 3, 1987, s. 283—285.
- SKALKKA, B. — SMOLA, J. — ELISCHEROVÁ, K.: Routine test for *in vitro* differentiation of pathogenic and apathogenic *Listeria monocytogenes* strains. J. clin. Microbiol., 15, 1982, s. 503—507.
- SKALKKA, B. — SMOLA, J.: Selective diagnostic medium for pathogenic *Listeria* spp. J. clin. Microbiol., 18, 1983, s. 1432—1433.
- SMOLA, J.: 10. mezinárodné sympozium o problémoch listeriózy, Péc, Maďarsko. Inf. Buil. ČSAV, 7, 1989, s. 32—34.
- SCHÖNBERG, A.: Zur Aktuellen Situation der Listerioze—eine Übersicht. Berl. Münch. Tierärztl. Wschr., 101, 1988, s. 82—84.
- THAM, W. A. — V. M. L. D. THAM: *Listeria monocytogenes* isolated from soft cheese. Veter. Rec., 122, 1988, s. 540.
- WEBER, A. — BAUMANN, C. — POTEL, J.: Nachweis von *Listeria monocytogenes* und *Listeria innocua* in Käse. Berl. Münch. Tierztl. Wschr., 101, 1988, s. 373—375.
- WEHR, H. M.: *Listeria monocytogenes* a current dilemma. J. Assoc. Off. Anal. Chem., 70, 1987, s. 769—772.
- WHO, 1988: Report of the WHO Informal Working Group on Foodborn Listeriosis. WHO/EHEFOS/88.5, Geneva: World Health Organization.
- YOSHIDA, T. aj.: Moxalactam, a novel 1—oxa—beta—lactam with expanded antibacterial spectrum laboratory evaluation. Antimicrob. Agents and Chemother., 17, 1980, s. 302—312.

Došlo dne 27. 12. 1990

MÍČKOVÁ, V. [State Veterinary Institute, Ostrava]: *Listeria monocytogenes* in foods. Veter. Med. (Praha), 36, 1991 (12): 745—750.

As in recent years laboratory diagnostics of listeria has become part of food microbiology, the frequency of occurrence of the bacteria *Listeria monocytogenes* has been followed in various kinds of foods for a year. A total of 51 strains of *L. monocytogenes* (7.2 %) was isolated from 700 kinds of samples [raw milk, pasteurized milk, meat surface, poultry, cheeses, thermally not treated meat products, food—industry machinery]. As can be seen in Tab. I, the highest number of strains was isolated from meat surfaces (13.5 %), followed by meat—industry machinery (12.72 %), poultry (10 %) and cheeses (5 %). The lower numbers of strains were found out in thermally not treated meat products (3.8 %) and in raw milk (3.3 %). Pasteurized milk did not contain any strains. Our findings in raw milk (3.3 %) and in pasteurized milk (0) are in agreement with the data cited e. g. by authors from the USA (Lovett et al., 1987), who mention the value of 4.2 % in raw milk and the zero value in pasteurized milk. The percentage of strains monitored in cheeses (5 %) can be evaluated as low as the assortment of investigated cheeses was small [all strains were isolated from soft ripening cheeses]. German authors (Tham et al., 1988) speak about the 2.5 %

percentage of *L. monocytogenes* strains; this is in keeping with our findings. The findings in thermally not treated meat products (3.8 %) can be evaluated as low although the number of strains found in raw meat was high. Even though the highest number of strains (13.5 %) was isolated from the surface of meats in the meat—industry facilities and also from the environment (12.72 %), our findings are lower than those mentioned by e. g. Elischerová (1976). The occurrence of listeria in poultry (samples from the surface and cavities) is low (10 %) and in the opinion of some authors (Doyle, 1986; Nicolas, 1987) it depends on the hygienic quality of processing. Besides the traditional cold enrichment procedure, for the purposes of this examination the methods of American authors (Lee and McClain, 1988), selective enrichment procedure in nutrient broths (Listeria Enrichment Broth I and II) and LPM agar selective medium, with contents of lithium chloride, glycine and moxalactam, were used (Yoshida, 1980). CAMP—reactions were used to distinguish *L. monocytogenes* from the other listeria; this test is based on synergic haemolytic reactions of the examined strain *Listeria* with the exosubstance *Rhodococcus equi* in the stage of partial purification (Skalka, 1982). These methods have proved as convenient.

Listeria monocytogenes; foods; frequency of occurrence; methodics; selective media; CAMP reactions

Adresa autorky:

MVDr. Vlasta Míčková, Státní veterinární ústav, 723 07 Ostrava-Martinov



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 19. 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 TISKÁRNĚ, 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, Kačkova 19, 160 00 Praha 6; PNS—ÚED Praha, závod 02, Obránců míru 2, 657 07 Brno; PNS—ÚED Praha, závod 06, 28. října 206, 709 90 Ostrava 9.