

VĚDECKÝ ČASOPIS



VETERINÁRNÍ MEDICÍNA

2

ROČNÍK 37 (LXV)
PRAHA
ÚNOR 1992
CS ISSN 0375-8427

AKADEMIE ZEMĚDĚLSKÝCH VĚD ČSFR
ÚSTAV VĚDECKOTECHNICKÝCH INFORMACÍ
PRO ZEMĚDĚLSTVÍ

Rídí redakčná rada: doc. MVDr. Karel Hruška, CSc. (predseda), prof. MVDr. Jan Bouda, DrSc., prof. MVDr. Bohumír Hoffrek, DrSc., doc. MVDr. Gabriel Kováč, DrSc., doc. MVDr. Imrich Maraček, DrSc., doc. MVDr. Zdeněk Pospíšil, CSc., doc. MVDr. Ivan Rosival, CSc., prof. MVDr. Bohumil Ševčík, DrSc.

Vedoucí redaktorka ing. Zdeňka Radošová

OBSAH

Zralý Z., Kummer V., Čanderle J., Raszyk J., Šišák M.: Vliv estrogenů na fagocytární aktivitu krevních leukocytů jalovic a krav	65
Bomba A., Žitňan R.: Vývoj bachorovej fermentácie teliat v období mliečnej výživy	75
Tančin V., Pješčák M.: Hladina inzulínu a glukózy u teliat v prvých šiestich mesiacoch života	83
Hanuš O., Genčurová V., Gabriel B., Žváčková I.: Srovnání účinnosti konzervačního přípravku Milkofix s tradičními konzervačními prostředky pro účely stanovení počtu somatických buněk ve vzorcích mléka fluoro-opto-elektronickou metodou	91
Pástorová B., Várady J.: Hladina katecholaminů v krvnej plazme oviec v estrickom období počas superovulácie	101
Svobodová V., Nevole M.: Diagnostika sarkocystózy ovčí metodami NFR a ELISA	109
Krokavec M., Šimo K., Martinko A., Krokavcová M.: Štúdium hodnôt ukazovateľov metabolického profilu vo veľkochovoch kôz v priebehu ročných období	113
Máchovej 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	119

CONTENTS

Zralý Z., Kummer V., Čanderle J., Raszyk J., Šišák M.: Effects of oestrogens on phagocytic activity in heifers and cows	73
Bomba A., Žitňan R.: Development of rumen fermentation in calves in the period of milk nutrition	81
Tančin V., Pješčák M.: Insulin and glucose levels in calves in the first six months of life	89
Hanuš O., Genčurová V., Gabriel B., Žváčková I.: A comparison of the efficiency of Milkofix preservative substance with traditional preservatives used to determine somatic cell counts in milk samples by a fluoro-opto-electronic method	98
Pástorová B., Várady J.: Catecholamine levels in the blood plasma of ewes in the oestrus period during superovulation	106
Svobodová V., Nevole M.: Diagnostics of ovine sarcocystosis by IFAT and ELISA	112
Krokavec M., Šimo K., Martinko A., Krokavcová M.: A study of the values of metabolic profile parameters in the large-scale breeding of goats throughout the seasons of the year	118
Máchovej M., Drobníková V., Titěra D., Vejdovská A., Křišťanová O., Henzl Š.: Preventive use of tylosin in the colonies endangered by the foulbrood and residues of tylosin in honey and syrup stored by honeybees	124

VLIV ESTROGENŮ NA FAGOCYTÁRNÍ AKTIVITU KREVNÍCH LEUKOCYTŮ JALOVIC A KRAV

Z. Zralý, V. Kummer, J. Čanderle, J. Raszyk, M. Šišák

ZRALÝ, Z. — KUMMER, V. — ČANDERLE, J. — RASZYK, J. — ŠIŠÁK, M. (Výzkumný ústav veterinárního lékařství, Brno): *Vliv estrogenů na fagocytární aktivitu krevních leukocytů jalovic a krav.* Veter. Med. (Praha), 37, 1992 (2): 65—74.

Bylo doloženo, že v období říje je výrazně vyšší fagocytární aktivita (FA) krevních leukocytů (PMN a monocytů), z nichž fagocytovalo metakrylátové částice $50,61 \pm 3,77$ %, kdežto v luteální fázi cyklu pouze $22,63 \pm 2,49$ % ($P < 0,01$). Obdobné zvýšení vykazoval index fagocytózy (FI). Již jednorázová i. m. aplikace 3 mg estradiolu způsobila u ovariektomovaných jalovic významné zvýšení FA z $28,93 \pm 3,34$ na $69,60 \pm 3,32$ % za 3 dny po aplikaci ($P < 0,05$), přičemž FI vykazoval obdobný trend. U krav po porodu ošetření estradiolem rovněž způsobilo zvýšení FA a FI, avšak vzhledem ke značné variabilitě nebyly tyto změny významné.

jalovice; kráva; říje; fagocytóza; krev; estradiol; puerperium

Z hlediska další plodnosti zaujímají významné postavení puerperální endometritidy, které se při opožděné diagnostice a terapii mohou vyvinout v chronický, obtížně reparable proces. Obecně vznik endometritid souvisí s infekcí dělohy v období porodu a puerperia a s poruchami involuce dělohy po porodu. Je prokázán úzký vztah mezi výskytem metabolických poruch, funkčním stavem jater a porušenou plodností. Vliv neadekvátní výživy a podmínek prostředí na dojnice sledoval Hruška (1988), který zjistil v období tří let postupné snižování koncentrací progesteronu měřených v mléce krav za tři týdny po inseminaci a u nichž funkce žlutého tělíska nebyla vyloučena. Z podstatných vlivů, které se v negativním slova smyslu v raném puerperiu uplatňují, považují Grunert a Zaremba (1979) za nejdůležitější výskyt dystokií, retence sekundin, atonie uteru a snížení celkové a lokální odolnosti organismu. Podle Kudláče (1971) je pro etiologii endometritid porucha motility a snížená kontraktilita uteru s narušenou samočisticí schopností důležitější než jeho bakteriální kontaminace.

Fagocytóza je důležitým článkem v komplexu celkové a lokální obranyschopnosti organismu. Kromě toho, že má významné postavení při závažné reakci, je zároveň spojovacím článkem mezi nespecifickou imunitou, a tedy mezi buněčnou a humorální odpovědí. Jejím úkolem je vychytávat a destruovat cizorodé antigeny nebo je předávat dalším regulačním strukturám imunitního systému.

Během sexuálního cyklu a puerperia má přítomnost leukocytů a jejich fagocytární aktivita významnou úlohu v samočisticím procesu dělohy a při její involuci (Schulz, 1961; Romaniukowa a Rogoziewicz, 1978). Posouzení úrovně fagocytární aktivity je dobrým ukazatelem obranyschopnosti dělohy a zároveň parametrem k vyjádření prognózy dalšího průběhu puerperia.

Úroveň fagocytární aktivity je ovlivňována mnoha faktory, jako jsou hormony, chemotaktické látky, druh infekce, výživa, světelný režim a další (Bouters a Vandenplasse, 1977; Padykula a Tansy, 1979). Snížení fagocytární aktivity nastává např. při deficitu vitamínů, bílkovin, po aplikaci kortikoidů (Henschelchen, 1981), při acidóze nebo i v případě ketózy (Kluciński aj., 1988). Významnou mírou ovlivňují retikuloendoteliální systém (RES) estrogeny. Heller aj. (1957) prokázali, že po jejich aplikaci dochází k hyperplazii a proliferaci buněk RES a současně pozorovali až šestinásobné zvýšení fagocytárního indexu. Tento fenomen je považován za projev určitého ochranného účinku proti některým noxám. Výrazný ochranný efekt estrogenů pozorovali Nicol aj. (1964) proti letálním dávkám endotoxinu. Estrogeny jsou proto považovány za principiální látky, které velmi významně stimulují RES organismu.

Broom aj. (1960), Hawk aj. (1960) zjistili úzký vztah mezi hlavním cyklem nebo koncentrací estrogenů v krvi a výskytem infekcí v děloze u laboratorních zvířat. Z jejich zjištění vyplývá, že pod vlivem estrogenů se zvyšuje rezistence dělohy, zatímco progesteron tuto rezistenci snižuje.

Údajů o fagocytární aktivitě krevních leukocytů v průběhu pohlavního cyklu krav nebo pod vlivem exogenních estrogenů je poměrně málo a nelze z nich získat jednoznačný a ucelený pohled (Gudry aj., 1975; Washburn aj., 1982; Roth aj., 1983; Saad a Åström, 1988).

Cílem práce bylo stanovit hodnoty fagocytární aktivity krevních leukocytů u jalovic v determinovaných úsecích pohlavního cyklu, po různých dávkách estradiolu u ovariektomovaných jalovic a u krav na konci raného puerperia.

MATERIÁL A METODY

Při sledování úrovně fagocytární aktivity (FA) krevních leukocytů v průběhu pohlavního cyklu jsme použili 24 pohlavně dospělých jalovic, kříženek různých plemen, průměrného věku 17,3 měsíce a průměrné hmotnosti 370 kg. Nástup říje jsme synchronizovali dvojí i.m. aplikací 0,5 mg PGF₂alfa (Oestrophan, Spofa) v rozpětí 11 dnů. Pro stanovení FA a koncentrace progesteronu metodou RIA (Hruška aj., 1980) jsme odebírali z *vena jugularis* krev za 48, 72 a 96 h po druhém ošetření Oestrophanem a dále 12. den pohlavního cyklu. Jalovice byly gynekologicky vyšetřovány včetně posouzení výraznosti říje.

Vliv různých dávek estradiolu na úroveň FA krevních leukocytů jsme ověřovali na třech dospělých ovariektomovaných (OVX) jalovicích. Použili jsme olejový roztok estradioldipropionátu (Agofollin inj. ad usum vet., Biotika) v jednorázové i.m. dávce 3, 5 a 10 mg. Krev jsme odebírali před aplikací (D O) a dále v denních intervalech až do 7. dne po aplikaci ke stanovení FA. Interval mezi ověřováním jednotlivých dávek estradiolu činil dva měsíce.

Vliv různých dávek a způsobů aplikace estradiolu na fagocytární aktivitu leukocytů u 12 dojnic s fyziologickým průběhem puerperia jsme sledovali po ošetření mezi 8. až 12. dnem p. p. Dojnice první skupiny jsme ošetřili i.m. 3 mg estradioldipropionátu (Agofollin inj. ad usum vet., Biotika), druhé dávkou 10 mg i.m. a třetí skupiny pero-

rální dávkou 10 mg estradiolbenzoátu (Agofollin dražé, Léčiva). Každou skupinu tvořily čtyři dojnice, od nichž jsme odebírali venózní krev na stanovení FA a vybrané hematologické ukazatele vždy před ošetřením a dále 1., 2. a 4. den po aplikaci. Počet leukocytů jsme zjišťovali baničkovou metodou podle Bürkera a počet eosinofilů jsme určovali metodou podle Pirališviliho (1962).

Fagocytární aktivitu krevních leukocytů jsme posuzovali testem fagocytózy 2-hydroxyethylmetakrylátových částic (MSHP, ÚVVV Praha) podle Větvičky aj. (1982). K 0,1 ml heparinizované krve (výsledná koncentrace 10 m. j. heparinu v 1 ml) jsme přidali 0,05 ml suspenze částic ředěné ve fosfátovém pufru ($4-5 \cdot 10^8$ částic v 1 ml), inkubovali 1 h v plastické zkumavce (Eppendorf 1,5 ml, Hardmuth Dalečín) při 37 °C a pak přidali 0,05 ml Na_2EDTA (100 mg $\cdot$ ml $^{-1}$). Po 5 min jsme zhotovili krevní nátěry a barvili je panoptickým barvením May Grünwald — Giemsou. V každém preparátu bylo hodnoceno 100 až 200 buněk. Základním kritériem aktivity (FA) bylo procento fagocytujících polymorfonukleárů (PMN, neutrofily a eosinofily) a monocytů (Mo) a dále fagocytární index (FI), který vyjadřuje průměrný počet pohlcených částic na potenciální fagocytující buňku. Rovněž byl vyhodnocen diferenciální rozpočet leukocytů.

K ověření, k jakým změnám dochází v koncentraci estrogenů v periferní krvi po aplikaci estradiolu, bylo použito osm krav v raném puerperiu (8.—12. den p. p.), z nichž čtyři obdržely 10 mg estradioldipropionátu intramuskulárně (Agofollin inj. ad usum vet.) a čtyřem bylo podáno 10 mg estradiolbenzoátu perorálně formou dražé (Agofollin, Léčiva). Krev byla odebírána z *v. jugularis* do zkumavek s antikoagulačním prostředkem (EDTA), a to před aplikací hormonálních preparátů a dále za 4, 8, 24, 48 a 96 h. Krev byla neprodleně po odběru odstředěna a plazma uchovávána do vyšetření při teplotě -20°C .

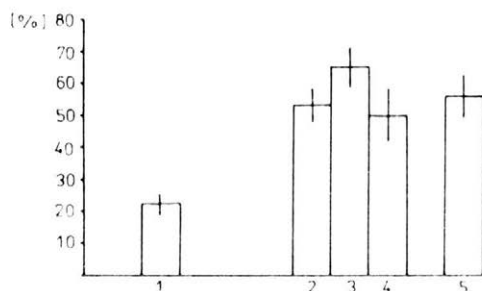
Koncentrace 17-beta-estradiolu (E_2) a konjugovaného estronu (E_1S) v krevní plazmě krav byly stanoveny přímou metodou RIA. Byly použity soupravy RIA-test-Estra pro estradiol a RIA-test-ESTRONet pro stanovení modifikovaného estronu, dodávané z ÚRVJT Košice, jejichž citlivost se pohybovala pod 0,1 nmol $\cdot$ l $^{-1}$ (intraassay 8,4 % a interassay 22,8 %).

Ze získaných hodnot FA a naměřených koncentrací progesteronu a estrogenů v jednotlivých vzorcích krve byl vypočítán aritmetický průměr, standardní odchylka a střední chyba aritmetického průměru. V indikovaných případech byla významnost rozdílů průměrů hodnocena Studentovým *t*-testem.

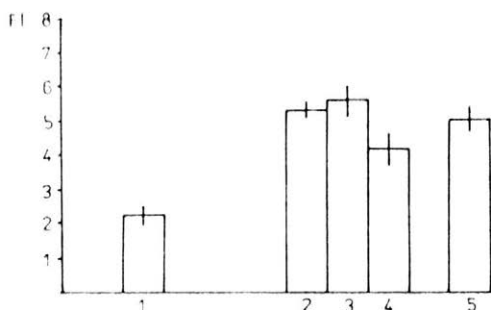
VÝSLEDKY

Fagocytární aktivita (FA) krevních leukocytů byla pozorována u neutrofilních granulocytů (Ne), monocytů (Mo) a ojediněle u eosinofilních granulocytů (Eo). V luteální fázi pohlavního cyklu fagocytovalo $22,63 \pm 2,49$ % a v době indukované říje (průměr tří časových termínů) $50,61 \pm 3,76$ % fagocytů (polymorfonukleárů — PMN a monocytů). Největší počet fagocytujících buněk byl za 72 h po aplikaci Oestrophanu ($56,23 \pm 4,22$ %). Za 96 h po aplikaci Oestrophanu byl patrný pokles aktivity (obr. 1). Zvýšení FA v období říje bylo významné ($P < 0,01$). Obdobnou dynamiku vykázaly hodnoty fagocytárního indexu (FI). Maximální hodnoty ($6,55 \pm 0,64$) byly zjištěny v době nejvýraznější manifestace říje, tj. 72 h po aplikaci Oestrophanu (obr. 2). Rozdíly průměrů v luteální fázi proti období říje byly rovněž významné ($P < 0,01$). Průměrné koncentrace progesteronu v luteální fázi cyklu činily $8,43 \pm 1,43$ nmol $\cdot$ l $^{-1}$ a v době indukované říje $0,60 \pm 0,29$ nmol $\cdot$ l $^{-1}$ plazmy. V diferenciálním rozpočtu leukocytů nebyly zjištěny významné rozdíly mezi sledovanými obdobími.

Jednorázová *i. m.* aplikace 3 mg estradiolu ovariektomovaným jalovicím (OVX) zvýšila významně FA z $28,93 \pm 3,34$ % na $69,60 \pm 3,32$ %. Třetí den po ošetření ($P < 0,05$; obr. 3), dávka 5 mg vykázala podobné zvýšení FA. Po dávce 10 mg estradiolu se úroveň fagocytózy zvýšila, ale v důsledku značné variability toto zvýšení nebylo významné ($P > 0,05$). Ze srovnání jednotlivých dávek estradiolu vyplynulo, že po aplikaci 3 mg



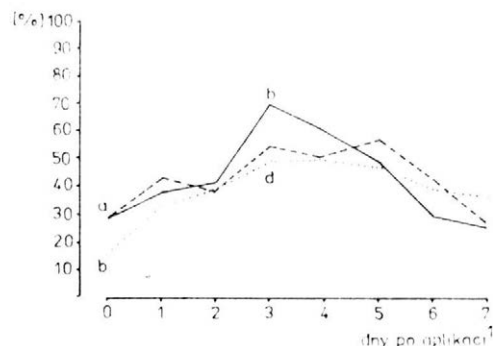
1. Fagocytární aktivita krevních leukocytů jalovic v luteální fázi sexuálního cyklu a v indukované říji — The phagocytic activity of peripheral leukocytes in heifers during the luteal phase of the sexual cycle and during induced oestrus



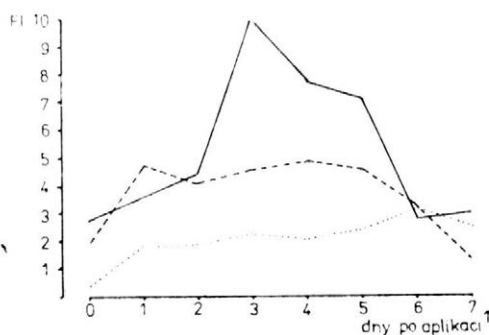
2. Fagocytární index krevních leukocytů jalovic v luteální fázi sexuálního cyklu a v indukované říji — The phagocytic index of peripheral leukocytes in heifers in the luteal phase of the sexual cycle and in induced oestrus

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

1 — luteální fáze; 2, 3, 4 — říje za 48, 72 a 96 h po PGF_2 alfa; 5 — říje ($\bar{x}$ z 2, 3, 4); 1: 2, 3, 4, 5 ($P < 0.01$); 3: 4 ($P < 0.05$) — 1 — luteal phase; 2, 3, 4 — oestrus in 48, 72 and 96 hours after PGF_2 alpha administration; 5 — oestrus ($\bar{x}$ from 2, 3, 4); 1: 2, 3, 4, 5 ($P < 0.01$); 3: 4 ($P < 0.05$)



3. Fagocytární aktivita krevních leukocytů kastrovaných jalovic po *i.m.* aplikaci estradiolu; a: b, c: d, b: d ($P < 0.05$) — The phagocytic activity of peripheral leukocytes in castrated heifers after *i.m.* oestradiol administration; a: b, c: d, b: d ($P < 0.05$)



4. Fagocytární index krevních leukocytů kastrovaných jalovic po *i.m.* aplikaci estradiolu — The phagocytic index of peripheral leukocytes in castrated heifers after *i.m.* oestradiol administration

Vysvětlivky pro obr. 3 a 4 — Explanatory notes to Figs. 3 and 4:

— 3 mg; 5 mg; - - - - - 10 mg

1 days after treatment

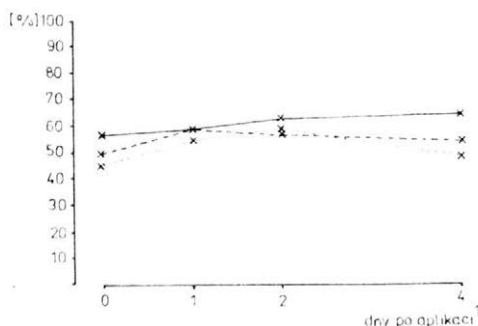
byla FA 3. den významně vyšší ($P < 0,05$) než u zbývajících dvou dávek estradiolu.

Fagocytární index se po ošetření 3 mg estradiolu prudce zvýšil 3. den na $10,03 \pm 2,02$, zatímco při dávce 5 a 10 mg bylo zvyšování hodnot pozvolnější (obr. 4). Z diferenciálního rozpočtu leukocytů vyplynulo pouze nevýznamné zvýšení PMN a Mo po 3 a 5 mg estradiolu 1. a 2. den po ošetření jalovic.

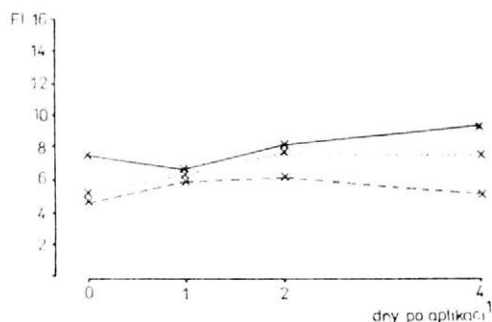
U krav po porodu hodnoty FA vykazaly mírně se zvyšující trend po aplikaci různých dávek estradiolu v prvních dvou až čtyřech dnech po ošetření (obr. 5). Toto zvýšení však v důsledku značné variability nebylo významné, podobně nebyly zjištěny signifikantní rozdíly mezi dávkami estradiolu a způsobem ošetření. Obdobný charakter měl fagocytární index (obr. 6).

Dynamika změn celkového počtu leukocytů, eosinofilů a leukogramu po aplikaci estradiolu je uvedena v tab. I. Celkový počet leukocytů nevykazoval proti výchozím hodnotám podstatné změny. Hodnoty se pohybovaly při spodní referenční hranici v rozmezí $5,8-7,7 \cdot 10^9 \cdot l^{-1}$. Počet eosinofilních granulocytů se po ošetření estradiolem zvyšoval, zejména u skupiny po *i. m.* aplikaci 10 mg z 317 na $525 \cdot 10^6 \cdot l^{-1}$. Charakteristické změny byly patrné v diferenciálním rozpočtu leukocytů, kdy se vždy zvyšoval podíl Ne na úkor Ly, což doložil klesající Ly/Ne index.

Z dynamiky změn koncentrací E_2 v krevní plazmě krav ošetřených preparáty estradiolu *i. m.* nebo perorálně vyplynulo, že již za 4 h po ošetření byly průměrné koncentrace vyšší než výchozí ($17,1 \pm 12,0 \text{ pmol} \cdot l^{-1}$) u obou způsobů ošetření. U krav ošetřených *i. m.* byla dosažena maximální průměrná koncentrace E_2 za 24 h po ošetření ($131,1 \pm 45,2 \text{ pmol} \cdot l^{-1}$).



5. Fagocytární aktivita krevních leukocytů krav v raném puerperiu po aplikaci estradiolu — The phagocytic activity of peripheral leucocytes in cows in early puerperium after oestradiol administration



6. Fagocytární index krevních leukocytů krav v raném puerperiu po aplikaci estradiolu — The phagocytic index of peripheral leucocytes in cows in early puerperium after oestradiol administration

Vysvětlivky pro obr. 5 a 6 — Explanatory notes to Figs. 5 and 6:

—x— 10 mg *i. m.*; ...x... 3 mg *i. m.*; ---x--- 10 mg *p. o.*
days after treatment

I. Celkový počet leukocytů, eosinofilů a diferenciální rozpočet bílých krvinek krav v raném puerperiu po aplikaci estradiolu ($\bar{x}$; $n = 4$) — Total counts of leucocytes, eosinophils and differential blood counting of leucocytes in cows in early puerperium after oestradiol administration ($\bar{x}$; $n = 4$)

Dny ¹	Skupiny ²	Le 10 ⁹ . l ⁻¹	Eo 10 ⁶ . l ⁻¹	Ne	Ly	Mo	Eo	Ly/Ne
0 1 2 4	3 mg E ₂ i. m.	6,4 6,7 7,2 7,0	443 456 482 422	23,7 26,0 24,5 28,4	65,1 63,2 64,5 63,0	3,7 3,2 4,5 2,9	7,5 7,2 6,5 5,7	2,7 2,4 2,6 2,2
0 1 2 4	10 mg E ₂ i. m.	7,7 7,4 7,3 7,3	317 556 525 512	29,5 35,5 32,5 34,1	60,5 54,5 52,5 50,2	5,0 5,0 7,0 7,6	3,0 5,0 8,0 8,1	2,1 1,5 1,6 1,5
0 1 2 4	10 mg E ₂ p. o.	6,3 6,0 5,9 5,8	211 220 291 273	34,3 41,3 40,3 44,5	52,0 48,0 45,3 48,0	8,0 6,3 7,5 7,5	5,8 4,3 7,0 0,0	1,5 1,2 1,1 1,1

¹days, ²groups

a zvýšení oproti výchozím koncentracím přetrvávalo po celou dobu sledování, tj. 96 h. U krav, jimž byl E₂ podán *per os*, byl vrchol průměrných koncentrací zjištěn za 8 h ($112,0 \pm 47,4$ pmol . l⁻¹) s poklesem na výchozí hodnoty za 48 h. Změny v koncentraci konjugovaného estronu byly více či méně paralelní se změnami E₂ a maximálně průměrné koncentrace činily $4,4 \pm 2,6$, resp. $3,7 \pm 2,2$ nmol . l⁻¹ u skupin krav podle způsobu ošetření, přičemž výchozí koncentrace byla $0,85 \pm 0,33$ nmol . l⁻¹.

DISKUSE

Funkční stav fagocytujících buněk, v krvi zastoupených populací neutrofilních, příp. eosinofilních granulocytů a monocytů, je jedním z ukazatelů celkové odolnosti organismu. V období, v němž došlo u jalovic k nejvýraznějším, klinicky se manifestujícím říjím, tj. za 72 h po aplikaci Oestrophanu, zvýšila se fagocytární aktivita (FA) a fagocytární index (FI) více jak dvojnásobně ve srovnání s obdobím luteální fáze pohlavního cyklu, kdy byla zvířata pod vlivem progesteronu. Obdobné výsledky zjistili Broome aj. (1960) a Hawk aj. (1960) u laboratorních zvířat. Rovněž Black a Hansel (1972) pozorovali, že organismus potřebuje v estrogení fázi cyklu pouze polovinu času k dosažení leukocytární odpovědi stejné intenzity proti bakteriální infekci než v luteální fázi. Naopak Guidry aj. (1975) nepotvrdili zvýšenou fagocytózu v období říje u krav.

Ze sledovaného souboru jalovic byly u dvou z nich zjištěny vyšší hodnoty FA a FI v luteální fázi pohlavního cyklu. V obou případech se na

ovaríích nalézal meziovulační folikul a je pravděpodobné, že u nich došlo k určité estrogenizaci.

Hodnoty diferenciálního rozpočtu bílých krvinek nevykázaly významné změny v rámci sledovaných období. Pouze byla zjištěna tendence, spočívající ve snížení relativního zastoupení fagocytyujících buněk v době maximální estrogenizace jalovic. Guidry aj. (1975) zjistili, že zvýšené endogenní koncentrace estradiolu v krvi během říje neovlivňují počet cirkulujících neutrofilních granulocytů.

Intramuskulární aplikace olejového roztoku různých dávek estradiolpropionátu zvýšila fagocytární aktivitu krevních leukocytů ovariektomovaných jalovic (OVX) již za 24 h. Nejvýraznější účinek byl dosažen při aplikaci nejnižší ověřované dávky 3 mg estradiolu. Těmto výsledkům odpovídají zjištění autorů Heller aj. (1957). Autoři prokázali, že po podání estrogenů došlo k hyperplazii a proliferaci buněk retikuloendoteliálního systému a fagocytární index se zvýšil až šestinásobně. Podobné výsledky získali Washburn aj. (1982), kteří sledovali účinky estrogenů a progesteronu u OVX klisen. Po i. m. aplikaci 2 mg estradiolcypionátu zjistili významné zvýšení aktivity fagocytů a poměrně rychlou eliminaci experimentálně inokulovaných mikroorganismů do dělohy, naopak po ošetření progesteronem se aktivita fagocytů a míra eliminace snížily.

Méně výraznou odpověď leukocytů jsme našli u jalovic ošetřených vyššími dávkami estradiolu (5 a 10 mg). Určitý podíl na tom, že zvýšení nebylo statisticky významné, měla větší individuální variabilita měřených hodnot. Změna aktivity fagocytů nemusí být přímo úměrná dávce estradiolu. V poslední době byl např. prokázán vliv estradiolu na syntézu interleukinu-1 makrofágy, která je přímo závislá na použité koncentraci pouze do určité hranice (Hu aj., 1988). Vyšší koncentrace naopak navodily významný pokles syntézy. Tímto mechanismem lze vysvětlit i poznatky Guidryho aj. (1975), kteří nezjistili zvýšení FA krevních neutrofilů u kastrovaných krav po s. c. aplikaci estradiolu dvakrát denně pro dva dny v dávce 25–30 mg *pro toto*.

Při sledování dynamiky fagocytární aktivity u krav v raném puerperiu jsme zjistili pouze nevýznamné zvýšení při použití různých dávek estradiolu a způsobů jeho aplikace. Patrně se na získaných výsledcích uplatnila rovněž značná variabilita, která může být způsobena různou koncentrací endogenních estrogenů v důsledku rozdílné aktivity folikulárního systému ovarí jednotlivých zvířat (Zralý aj., 1989). Obecně je rané období puerperia považováno za kritické, neboť je výrazně snížena nespecifická obranyschopnost organismu (Jablonskij a Prigara, 1983). Přesto, že sledovaný soubor dojnic měl fyziologický průběh porodu i puerperia, je pravděpodobné, že se mohla uplatnit řada vlivů — chemotaktické látky, koncentrace imunoglobulinů, druh a intenzita bakteriální kontaminace dělohy a další. Vliv lokálních infekcí na úroveň FA u telat prokázali Tomán aj. (1985). Zvýšení FA a zejména indexu fagocytózy pozorovali u kastrovaných krav Saad a Åström (1988) při dlouhodobém použití nižších dávek estradiolbenzoátu (0,02 mg · kg⁻¹ hmotnosti).

Celkový počet leukocytů nevykázal výrazné změny. V tomto období fyziologického puerperia zjistili Kudláč a Benýšek (1971) nejnižší počty leukocytů. Saad a Åström (1988) zjistili neprůkazné zvýšení jejich počtu. Určitou tendenci ke zvýšení jsme pozorovali v počtu eosinofilních granulocytů, jimž se přisuzuje úloha v estrogenním účinku na

dělohu (Grunert aj., 1984). Nejvýraznější účinek estradiolu jsme zjistili v relativním zvýšení neutrofilů a relativní lymfopenii, což dokumentoval klesající Ly/Ne index a odpovídá nálezům autorů Guidry aj. (1975) a Saad a Åström (1988) u krav. Tento jev se vysvětluje přílivem neutrofilů z hematopoetického systému do periferní krve, odtud posléze migrují do uteru, kde vytvářejí leukocytární ochranný val. Kalland aj. (1978) kromě lymfopenie navíc pozorovali snížení hmotnosti thymu a sleziny.

Po intramuskulárním podání 10 mg estradioldipropionátu jsme zjistili maximální koncentrace estradiolu v krevní plazmě za 24 h. Píchová aj. (1987) našli nejvyšší koncentrace estradiolu v krvi kastrovaných jalovic za 18 h po aplikaci alkoholového roztoku estradiolpropionátu. Obdobnou dynamiku koncentrací prokázali Vynckier aj. (1990) po i.m. aplikaci 10 mg estradiolbenzoátu nebo 10 mg estradiolcypionátu v olejovém roztoku. Shodný průběh změn koncentrací estradiolu a estronu svědčí pro enzymatickou přeměnu estradiolu v estron (Bamberg aj., 1980). Rychlejší pokles koncentrací estradiolu již za 8 h po perorálním podání je pravděpodobně způsoben bezprostřední inaktivací v játrech. Obecně lze konstatovat, že koncentrace estradiolu v krevní plazmě po aplikaci obou preparátů v průměru výrazně nepřekročily jeho fyziologické koncentrace v období říje, avšak hladiny estronu svědčí o vydatném zdroji estrogenů, jako např. v období březosti či porodu (Dobson, 1978; Vynckier aj., 1990).

Literatura

- BAMBERG, E. — CHOÍ, H. S. — HASSAN, N. — MÖSTLE, E. — STÖCKL, W.: *In vitro* conversion of steroid hormones in bovine ovarian follicles. *Experientia*, 36, 1980, s. 615.
- BLACK, D. L. — HANSEL, D. L.: Endocrine factors affecting reproduction in the bovine female. *Res. Bull. (Agric. Exp. Stat. Univ. Wisc.)*, 596, 1972, s. 135—151.
- BOUTERS, R. — VANDEPLASSCHE, M.: *Post partum* infection in cattle: diagnosis and preventive and curative treatment. *J. S. Afr. veter. med. Assoc.*, 48, 1977, s. 237—239.
- BROOME, A. W. — WINTER, A. J. — McNUTT, S. H. — CASIDA, L. E.: Variations in uterine response to experimental infection due to the hormonal state of the ovaries. II. The mobilization of leukocytes and their importance in uterine bactericidal activity. *Amer. J. veter. Res.*, 21, 1960, s. 675—681.
- DOBSON, H.: Plasma gonadotrophins and oestradiol during oestrus in the cow. *J. Reprod. Fertil.*, 52, 1978, s. 51—53.
- GRUNERT, E. — ZAREMBA, W.: Untersuchungen über negative Einflüsse von endogenen und exogenen Faktoren auf das Frühpuerperium des Rindes. *Dtsch. tierärztl. Wschr.*, 86, 1979, s. 461—464.
- GRUNERT, G. — PORCIA, M. — NEUMANN, G. — SEPÚLVEDA, S. — TCHERNITCHIN, A. N.: Progesterone interaction with eosinophils and with responses already induced by oestrogen in uterus. *J. endocrinol.*, 102, 1984, s. 287—294.
- GUIDRY, A. J. — PAAPE, M. J. — PERSON, R. E.: Effects of estrus and exogenous estrogen on circulating neutrophils and milk somatic cell concentration, neutrophil phagocytosis, and occurrence of clinical mastitis in cows. *Amer. J. veter. Res.*, 36, 1975, s. 1555—1560.
- HAWK, H. W. — TURNER, G. D. — SYKES, J. F.: Noncellular bactericidal factors in inflammatory exudates from the uterine and pleural cavities of estrous and pseudo-pregnant rabbits. *Amer. J. veter. Res.*, 21, 1960, s. 657—663.
- HELLER, J. H. — MEIER, R. M. — ZUCKER, R. — MAST, G. W.: The effect of natural and synthetic estrogens on reticuloendothelial system function. *Endocrinology*, 61, 1957, s. 235—241.
- HENSCHELCHEN, O.: Puerperium und Paramunität beim Rind. [Inaugural — Dissertation.] München 1981, 94 s. — Ludwig-Maximilians-Universität.
- HRUSKA, K.: Stručný komentář k celkovým výsledkům systému DISKOT. In: 7. setkání uživatelů systému DISKOT, Sbor. Ref. Praha 1988, s. 110—114

- HRUŠKA, K. — BURSA, J. — FRÁNEK, M. — HOLUB, A. — HRONOVÁ, B. — KALÁB, P. — PROCHÁZKA, H. — SEDLÁČEK, M. — SCHLEGELOVÁ, J. — VEIT, M. — VĚZNÍK, Z.: Radioimunoanalýza steroidních hormonů. (Výzkumná zpráva.) Brno, VÚVeL 1980, 28 s.
- HU, S. K. — MITCHO, Y. L. — RATH, N. C.: Effect of estradiol on interleukin-1 synthesis by macrophages. *Int. J. Immunopharmac.*, 10, 1988, s. 247—252.
- JABLONSKI, V. A. — PRIGARA, V. V.: Nespecifičeskaja reaktivnost organizma korov pri otele. *Veterinarija (Moskva)*, 1983, č. 10, s. 59—60.
- KALLAND, T. — FOSSBERG, T. M. — FOSSBERG, J. G.: Effect of estrogen and corticosterone on the lymphoid system in neonatal mice. *Exp. molec. Path.*, 28, 1978, s. 76 to 95.
- KLUCIŃSKI, W. — DEGÓRSKI, A. — MIERNIK-DEGÓRSKA, E. — TARGOWSKI, S. — WINNICKA, A.: Effect of ketone bodies on the phagocytic activity of bovine milk macrophages and polymorphonuclear leukocytes. *J. veter. Med.*, A, 35, 1988, s. 632—639.
- KUDLÁČ, E.: Physiologie des Puerperium und einige Methoden zur Verbesserung der Fruchtbarkeit von Kühen durch die Beeinflussung dieser Periode. *Dtsch. tierärztl. Wschr.*, 78, 1971, s. 96—101.
- KUDLÁČ, E. — BENÝŠEK, V.: Dynamics of changes of white blood cell count of cows during puerperium. *Acta veter. (Brno)*, 40, 1971, s. 345—352.
- NICOL, T. — BILBEY, D. L. J. — CHARLES, L. M. — CORDINGLEY, J. L. — VERNON-ROBERTS, B.: Oestrogen; the natural stimulant of body defence. *J. Endocrinol.*, 30, 1964, s. 227—234.
- PADYKULA, H. — TANSEY, T.: The occurrence of uterine stromal and intraepithelial monocytes and heterophils during normal late pregnancy in the rat. *Anat. Rec.*, 193, 1979, s. 329—356.
- PICHOVÁ, D. — SEDLÁKOVÁ, J. — BOROVIČKA, A. — BÍLEK, P. — LIDICKÝ, J. — NOVOTNÝ, L. — PÍCHA, J.: Změny v impedanci poševní sliznice a hormonálního profilu u ovariectomovaných jalovic po aplikaci alkoholového roztoku estradioldipropionátu a v kombinaci s LH-RH a jeho superanalogem. *Biol. chem. Veter. (Praha)*, 23, 1987, s. 309—320.
- PIRALIŠVILI, I. S.: K metodike podsčeta eozinofilov v periferičeskoj krvi. *Lab. Delo*, 3, 1962, s. 20—22.
- ROMANIUKOWA, K. — ROGOZIEWICZ, M.: Phagocytic activity of leukocytes from uterine secretion of cows after retention of placenta. *Bull. veter. Inst. Pulawy*, 22, 1978, s. 59—62.
- ROTH, J. A. — KAEBERLE, M. L. — APPEL, L. H. — NACHREINER, R. F.: Association of increased estradiol and progesterone blood values with altered bovine polymorphonuclear leukocyte function. *Amer. J. veter. Res.*, 44, 1983, s. 247—253.
- SAAD, A. M. — ÅSTRÖM, G.: Effects of exogenous estrogen administration to ovariectomized cows on the blood and milk-leukocyte counts and — neutrophil phagocytosis measured by flow cytometry. *J. veter. Med.*, B, 35, 1988, s. 654—663.
- SCHULZ, J. CH.: Zur sogenannten endometrialen Selbstreinigung beim Rind. In: *Proc. IV.th Int. Congr. Anim. Reprod.*, Vol. III, Hague 1961, s. 316—323.
- TOMAN, M. — PŠÍKAL, I. — MENŠÍK, J.: Fagocytární aktivita krevních leukocytů telat od narození do věku tři měsíce. *Veter. Med. (Praha)*, 30, 1985, s. 401—408.
- VĚTVIČKA, V. — FÖRNÖSEK, L. — KOPEČEK, J.: Phagocytosis of human blood leukocytes: A simple micromethod. *Immunol. Lett.*, 5, 1982, s. 97—100.
- VYNCKIER, L. — DEBACKERE, M. — DE KRUIF, A. — CORYN, M.: Plasma estradiol-17 β concentrations in the cow during induced and after injection of estradiol-17 β benzoate and estradiol-17 β cypionate — a preliminary study. *J. veter. Pharmacol., Therap.*, 13, 1990, s. 36—42.
- WASHBURN, S. M. — KLESÍUS, P. H. — GANJAN, V. K. — BROWN, B. G.: Effect of estrogen and progesterone on the phagocytic response of ovariectomized mares infected in utero with β -hemolytic streptococci. *Amer. J. veter. Res.*, 43, 1982, s. 1367—1370.
- ZRALÝ, Z. — KUMMER, V. — ČANDERLE, J.: Aktivita folikulárního systému ovarí krav při rozdílném průběhu puerperia. *Veter. Med. (Praha)*, 34, 1989, s. 593—602.

Došlo dne 2. 4. 1991

ZRALÝ, Z. — KUMMER, V. — ČANDERLE, J. — RASZYK, J. — ŠIŠÁK, M. (Veterinary Research Institute, Brno): *Effects of oestrogens on phagocytic activity in heifers and cows.* *Veter. Med. (Praha)*, 37, 1992 (2): 65—74.

Phagocytic activity of peripheral leucocytes (PA) was measured in heifers during the luteal phase and oestrus and, after administration of various doses of oestradiol, in

ovariectomized heifers and cows in the early post-partum period. PA was demonstrated in 22.63 ± 2.49 % and 50.61 ± 3.76 % of phagocytes in the luteal phase and oestrus respectively ($P < 0.01$, Fig. 1). The phagocytic index (PI) rose parallelly from 2.26 ± 0.31 to 6.55 ± 0.64 particles per cell (Fig. 2). Intramuscular administration of a single dose 3 mg of oestradiol dipropionate resulted in an increase of PA from 28.93 ± 3.34 to 69.60 ± 3.32 on post-treatment day 3 ($P < 0.05$, Fig. 3). A nonsignificant increase of PA was observed in heifers treated with 10 mg oestradiol. Increases of PA and PI in postparturient cows, treated with various doses of oestradiol, were nonsignificant (Fig. 5, 6) owing to a wide variance of the values obtained, which might be due to individual differences in endocrine and metabolic status or to uterine bacterial contamination. The most marked of haematological changes was the increase of eosinophil counts from 317 to $525 \cdot 10^6 \cdot l^{-1}$ in a group of cows treated with 10 mg oestradiol and a decrease of the lymphocyte: neutrophil ratio (Tab. 1). Both endogenous and exogenous oestrogens stimulate PA of peripheral leucocytes and 3 mg of oestradiol is a sufficient dose to obtain the effect.

heifer; cow; oestrus; phagocytosis; blood; oestradiol; puerperium

Adresa autorů:

MVDr. Zdeněk Zralý, CSc., MVDr. Vladimír Kummer, CSc., MVDr. Jiří Čanderle, CSc., MVDr. Josef Raszyk, CSc., MVDr. Miroslav Šišák, Výzkumný ústav veterinárního lékařství, Hudcova 70, 621 32 Brno

VÝVOJ BACHOROVEJ FERMENTÁCIE TELIAT V OBDOBÍ MLIEČNEJ VÝŽIVY

A. Bomba, R. Žitňan

BOMBA, A. — ŽITŇAN, R. [Ústav experimentálnej veterinárnej medicíny, Košice; Výskumný ústav živočíšnej výroby, Nitra]: *Vývoj bachorovej fermentácie teliat v období mliečnej výživy*. Veter. Med. (Praha), 37, 1992 (2): 75–82.

Pri štúdiu vývoja bachorovej fermentácie teliat v podmienkach veľkochovu sme zistili vzostupnú dynamiku koncentrácie celkových unikavých mastných kyselín (UMK) v bachorovej tekutine s vekom, pričom sa striedali štádia rozvoja a stabilizácie úrovne bachorovej fermentácie. Signifikantný vzostup koncentrácie celkových UMK v bachorovej tekutine teliat ($P < 0,01$) z 70,93 na 90,71 mmol.l⁻¹ sme zistili v období 5–7 týždňov veku a vysoko signifikantný vzostup ($P < 0,001$) v období 9–11 týždňov veku (z 93,16 na 132,65 mmol.l⁻¹). Dolnú hranicu rozpätia referenčných hodnôt (80–120 mmol.l⁻¹) koncentrácie celkových UMK v bachorovej tekutine udávanú pre dospelé zvieratá prekročili teľatá v priemere vo veku 7 týždňov. Molárne percento kyseliny octovej s vekom klesalo (74,04–67,54 mol %), podiel kyseliny propiónovej s vekom stúpala (16,73–1953 mol %), čo sa odrazilo v pomere acetát:propionát, ktorý mal s vekom klesajúcu tendenciu (4,67–3,79) a v energetickej výťažnosti produkcie UMK, ktorá s vekom stúpala (71,65–73,58 %). Pomer acetát:propionát bol v priamej, ale negatívnej závislosti s energetickou výťažnosťou, korelačný koeficient $r = -0,970$. Molárne percento kyseliny maslovej sa v priemere pohybovalo v rozpätí 5,79 až 9,13. Zaznamenali sme signifikantný vzostup izokyselín v období od 3. do 5. týždňa veku teliat. Obdobie 7–9 týždňov veku teliat je možné doporučiť pre postupný prechod na rastlinnú výživu.

teľatá; mliečna výživa; unikavé mastné kyseliny

Bachorový typ trávenia u mláďat prežúvavcov nadobúda na význame s postupne sa zvyšujúcim príjmom suchého krmiva, odstavom a prechodom na rastlinnú výživu. Trávenie v bachore je komplexným systémom interakčných procesov zahŕňujúcich mikrobiotú, krmivo a zviera (Demeyer a i., 1986). S morfológickým a funkčným rozvojom bachora v dôsledku zvyšujúceho sa príjmu krmiva stúpa aj úroveň bachorového metabolizmu. Pri dostatočnej dávke objemového krmiva sa môže rátať s tým, že bachorový metabolizmus sa celkom rozvinie asi vo veku 5 až 9 týždňov (Slanina a i., 1977; Quigley a i., 1985). Bush (1988) zistil v bachorovom epiteli teliat vo veku 60 dní rovnakú produkciu ketónových látok ako u dospelých jedincov.

Cieľom našej práce bolo sledovať vývoj bachorovej fermentácie teliat v období mliečnej výživy v podmienkach veľkochovu vo vzťahu k veku teliat, v ktorom bachorová fermentácia dosahuje parametre dospelých zvierat a funkčný rozvoj bachora umožňuje prechod na rastlinnú výživu.

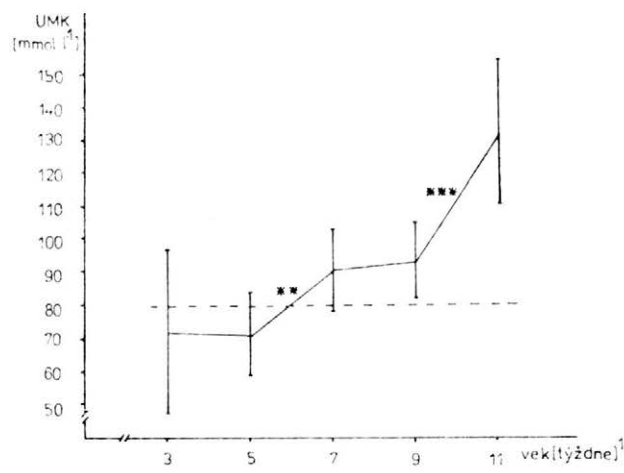
MATERIÁL A METÓDA

Do experimentu bolo zaradených 10 teliat (jalovičiek) nížinného čiernostrakatého plemena vo veku 14 dní, ktoré boli ustajnené skupinovo vo veľkokapacitnom tefatníku. Tefatá dostávali mliečnu kŕmnu zmes Laktavit v dennej dávke 8,9 l na teľa. Jadrová kŕmna zmes TKŠ bola podávaná tefatám v nasledovných dávkach: vek 15–21 dní 0,1 kg pre teľa a deň; 22–35 dní 0,2 kg; 36–42 dní 0,3 kg; 43–49 dní 0,5 kg; 50–56 dní 0,7 kg; 57–63 dní 0,8 kg a vo veku 64–77 dní 1,0 kg na teľa a deň. Obsah živín v kŕmnej zmesi TKŠ: sušina 84,01 %; vlákna 5,85 %; NL 16,74 %; SNL 14,29 %; ŠJ 0,674; KE 0,77 a NEK 212. Tefatá mali voľný prístup k senu a vode a boli odstavené vo veku 11 týždňov.

Vzorky bachorového obsahu sme odoberali pažerákovou sondou, 3–4 h po rannom kŕmení. Koncentráciu unikavých mastných kyselín v bachorovej tekutine sme stanovovali plynovou chromatografiou na prístroji Hewlett Packard [USA], na kolóne 10 % SP 1200 + 1 % H_3PO_4 na chromosorb W. Energetická výťažnosť produkcie UMK (E %) bola stanovená podľa Orskova a i., [1968]. Referenčné hodnoty UMK dospelých zvierat sme prevzali z práce autorov Slanina a i., [1979]. Výsledky sú aritmetickým priemerom $\pm$ SD a pre štatistické vyhodnotenie sme použili Studentov *t*-test.

VÝSLEDKY

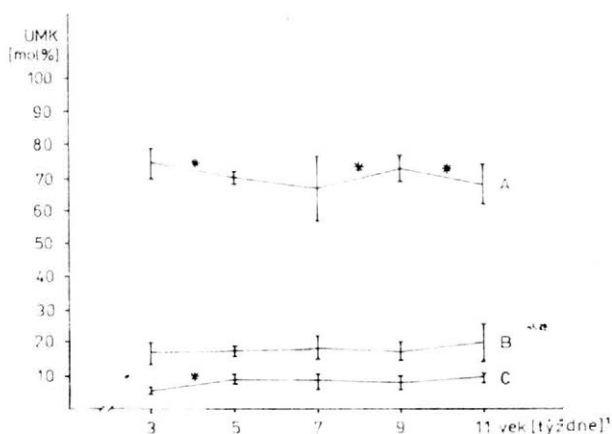
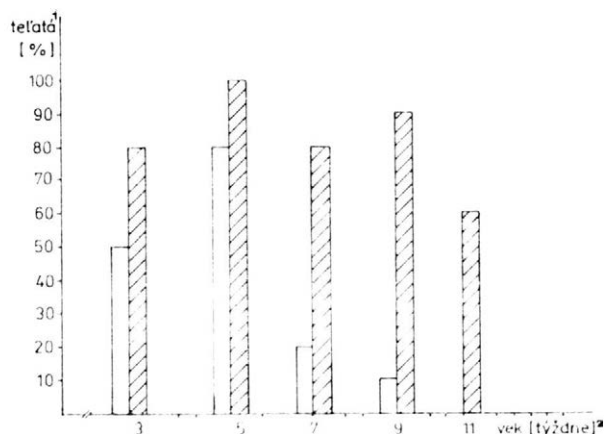
Koncentrácia celkových unikavých mastných kyselín (UMK) v bachorovej tekutine teliat stúpala s vekom (obr. 1). Signifikantný vzostup koncentrácie celkových UMK ($P < 0,01$) z 70,93 na 90,71 mmol $\cdot$ l⁻¹ sme zistili v období 5–7 týždňov veku a vysoko signifikantný vzostup ($P < 0,001$) v období 9–11 týždňov veku. Dolnú hranicu rozpätia referenčných hodnôt (80–120 mmol) koncentrácie celkových UMK v bachorovej tekutine udávanú pre dospelé zvieratá prekročili tefatá v priemere vo veku 7 týždňov. Individuálne nedosahovalo úroveň koncentrácie celkových UMK v bachorovej tekutine dospelých zvierat vo veku 3 týždne 50 %, vo veku



1. Koncentrácia celkových unikavých mastných kyselín (UMK) v bachorovej tekutine teliat v období mliečnej výživy; ** — $P < 0,01$; *** — $P < 0,001$; --- dolná fyziologická hranica dospelých zvierat — The concentrations of total volatile fatty acids (VFA) in the rumen fluid of calves in the milk nutrition period; ** — $P < 0,01$; *** $P < 0,001$; --- lower physiological boundary of adult animals
1 age (weeks)

2. Percento teliat nedosahujúcich dolnú hranicu rozpätia referenčných hodnôt celkových UMK (prázdne stĺpce) a kyseliny propiónovej (šrafované stĺpce) v bachorovej tekutine dospelých zvierat — The percentage of the calves which did not reach the lower boundary of the reference values of total VFA (open columns) and propionate (hatched columns) in the rumen fluid of adult animals

¹calves, ²age (weeks)

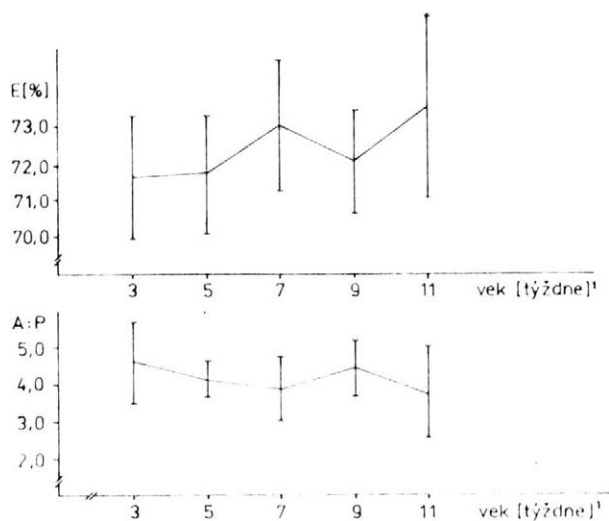


3. Zastúpenie kyseliny octovej (A), propiónovej (B) a maslovej (C) v bachorovej tekutine teliat v období mliečnej výživy; * — $P < 0,05$ — The proportions of acetate (A), propionate (B) and butyrate (C) in the rumen fluid of calves in the milk nutrition period; * — $P < 0,05$

¹ age (weeks)

5 týždňov 80 % teliat, vo veku 7 týždňov 20 % a vo veku 9 týždňov 10 % teliat. Vo veku 11 týždňov bola koncentrácia celkových UMK na úrovni dospelých zvierat u všetkých sledovaných teliat (obr. 2).

Molárne percento kyseliny octovej (obr. 3) pokleslo zo 74,04 mol % vo veku 3 týždne na 67,54 mol % vo veku 11 týždňov a podiel kyseliny propiónovej stúpol v tom istom intervale z 16,73 na 19,53 mol %. Odrážalo sa to na pomere acétát : propionát, ktorý zaznamenal pokles z 4,67 na 3,79 (obr. 4) a súčasne na energetickej výťažnosti produkcie UMK (obr. 4), ktorá z hodnoty 71,65 % vo veku 3 týždne stúpila na 73,58 % vo veku

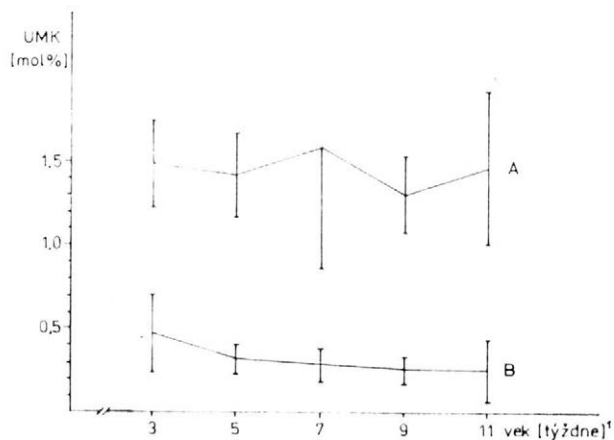
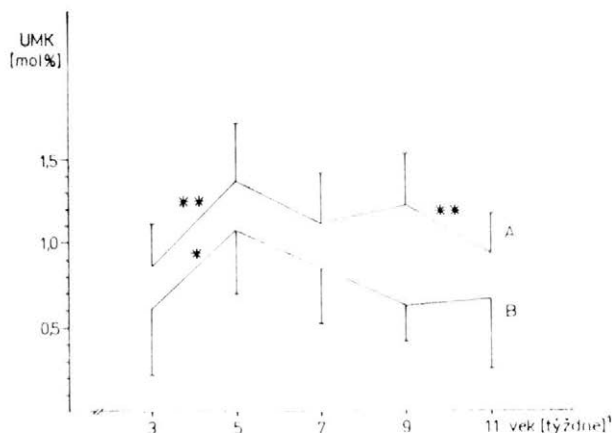


4. Energetická výťažnosť produkcie UMK v bachore teliat v období mliečnej výživy a pomer acetát : propionát — The energetic efficiency of the VFA production in the rumen of calves in the milk nutrition period and the acetate to propionate ratio

¹ age (weeks)

5. Podiel kyseliny i-valérovej (A) a i-maslovej (B) v bachorovej tekutine teliat v období mliečnej výživy; * — $P < 0,05$, ** — $P < 0,01$ — The proportions of isovalerate (A) to isobutyrate (B) in the rumen fluid of calves in the milk nutrition period; * — $P < 0,05$, ** — $P < 0,01$

¹ age (weeks)



6. Zastúpenie kyseliny valérovej (A) a kaprónovej (B) v bachorovej tekutine teliat v období mliečnej výživy — The proportions of valerate (A) and capronate (B) in the rumen fluid of calves in the milk nutrition period

¹ age (weeks)

11 týždňov. Pomer acetát : propionát bol v priamej, ale negatívnej závislosti s energetickou výťažnosťou, korelačný koeficient $r = -0,970$. Molárny podiel kyseliny maslovej (obr. 3) sa v priemere pohyboval v rozpätí 5,79—9,13 mol %. Podiel kyseliny propiónovej nedosahoval dolnú hranicu rozpätia referenčných hodnôt dospelých zvierat vo veku 3 týždne u 80 %, vo veku 5 týždňov u 100 % teliat, vo veku 7 týždňov u 80 % teliat, vo veku 9 týždňov u 90% teliat a vo veku 11 týždňov u 60 % teliat (obr. 2). Signifikantný vzostup ($P < 0,05$ a $P < 0,01$), sme zaznamenali u kyseliny i-maslovej a i-valérovej (obr. 5) v období 3—5 týždňov veku s najvyššími hodnotami ich podielu za celé sledované obdobie vo veku 5 týždňov (kyseliny i-maslová 1,08 mol % a kyselina i-valérová 1,38 mol %). Molárne percento kyseliny valérovej (obr. 6) sa v priemere pohybovalo v rozpätí 1,31—1,50 mol % a podiel kyseliny kaprónovej (obr. 6) nesignifikantne klesol s vekom.

DISKUSIA

V našej práci sme zistili, že koncentrácia celkových UMK v bachorovej tekutine teliat mala s vekom vzostupný charakter, čo je v súlade s údajmi autorov Anderson a i. (1987a), Klein a i. (1987) a Roy (1980). Súvisí to so zvyšujúcim sa príjmom suchého krmiva a rozvojom bachorového ekosystému. Z hľadiska úrovne bachorovej fermentácie sme zaznamenali striedanie fáz stabilizácie a rozvoja bachorového metabolizmu. Prvú fázu vzostupu úrovne bachorového metabolizmu v období od 5. do 7. týždňa veku pripisujeme predovšetkým príjmu významnejšieho množstva jadrového krmiva, za ktoré Claypool a i. (1985) považujú denný príjem viac ako 200 g jadrovej krmnej zmesi. Tí istí autori udávajú, že také množstvo jadrového krmiva prijímali teľatá v priemere vo veku 4,5 týždňa s rozpätím 3—7 týždňov. Zvýšenie úrovne bachorovej fermentácie v tomto období možno vysvetliť aj búrlivým rozvojom bachorovej mikroflóry, čo je v zhode s autormi Anderson a i. (1987b), ktorí najväčšie zmeny bachorovej mikroflóry u teliat pozorovali vo veku 4—6 týždňov. Druhú fázu vzostupu úrovne bachorovej fermentácie pripisujeme vyššiemu príjmu objemového krmiva.

V období 7—9 týždňov veku sa v priemere úroveň bachorovej fermentácie teliat stabilizovala na dolnej hranici rozpätia referenčných hodnôt dospelých zvierat a vo veku 9 týždňov nedosahovala koncentrácia celkových UMK hodnoty dospelých jedincov len u jednej vzorky. Na základe týchto výsledkov možno usúdiť, že vek 7—9 týždňov je u teliat v podmienkach veľkochovu najvhodnejší pre postupný prechod na rastlinnú výživu.

Jagoš a i. (1986) sledovali vývoj bachorového trávenia u teliat od odstavu, ktorý bol u sledovaných zvierat vykonaný vo veku 7 týždňov. Koncentrácia celkových UMK dosiahla v súlade s našimi výsledkami hodnoty dospelých zvierat už pri odstave. Niektoré odchýlky v dynamike celkových a jednotlivých UMK v období od 7. do 11. týždňa života teliat, pri porovnaní s prácou uvedených autorov, je možné pripísať veľkému rozdielu dĺžky mliečnej výživy (7 a 11 týždňov) a skladby krmnej dávky.

Podobne ako Anderson a i. (1987a), sme zistili pokles zastúpenia kyseliny octovej a vzostup kyseliny propiónovej s vekom. Molárne

percento kyseliny propiónovej stúpalo so zvyšujúcim sa príjmom jadrového krmiva. Mould a i. (1983) zistili pri kŕmení výhradne objemovým krmivom pomer kyselin octová : propiónová : maslová 67 : 23 : 8, ktorý sa pri kŕmení výhradne jadrovým krmivom zmenil na 48 : 40 : 8. Súčasne so zmenami podielu kyseliny octovej a propiónovej došlo k poklesu pomeru acetát : propionát a vzostupu energetickej výťažnosti produkcie UMK, čo potvrdzuje, že v suchej zložke krmiva teliat prevládalo jadrové krmivo. Vyššia výťažnosť fermentácie vysokokoncentrovaných diét sa prisudzuje nižším stratám reziduálneho fermentačného tepla a nižšej produkcii metánu (Orskov, 1975), čím sa pre makroorganizmus ušetrí časť energie. Diéty bohaté na celulózu zvyšujú molárne percento kyseliny octovej, pomer acetát : propionát a môžu spôsobiť zvýšenie energetických strát vo forme metánu. Hodnoty energetickej výťažnosti sa v našom pokuse v priemere pohybovali v rozpätí 71,7—73,6 %, čo sú hodnoty mierne nižšie oproti údajom autorov Baran a i. (1982), ktoré zaznamenali u škopov a na dolnej hranici rozpätia (73—87 %), ktoré udáva Orskov (1975) pre rôzne typy diét.

Najväčší podiel izokyselín, ktorý sme zaznamenali vo veku 5 týždňov, svedčí o vyššej metabolizácii aminokyselín na mastné kyseliny, čo zodpovedá vysokému prísunu aminokyselín do bachora v prvých týždňoch života. S vyšším príjmom sacharidových krmív sa obsah izokyselín znižuje (Flachowsky a i., 1987; Flachowsky a i., 1988; Jelínek a i., 1989). Prítomnosť izokyselín je dôležitá pre celulólytickú mikrofóru, ktorá si ich vyžaduje pre svoj rast (Hoover, 1986).

Výsledky našej práce poukazujú na to, že pri dostatočnej dávke objemového krmiva v podmienkach veľkochovu dosahuje bachorová fermentácia teliat úroveň dospelých zvierat v období 7—9 týždňov veku. Túto periódu je možné doporučiť pre postupný prechod na rastlinnú výživu.

Literatúra

- ANDERSON, K. L. — NAGARAJA, T. G. — MERRILL, J. L.: Ruminant metabolic development in calves weaned conventionally or early. *J. Dairy Sci.*, 70, 1987a, č. 5, s. 1000 to 1005.
- ANDERSON, K. L. — NAGARAJA, T. G. — MORRILL, J. L. — AVERY, T. B. — GALITZER, S. J. — BOYER, J. E.: Ruminant microbial development in conventionally or early weaned calves. *J. anim. Sci.*, 64, 1987b, s. 1215—1226.
- BARAN, M. — JALČ, D. — KALAČNÍK, G. I. — BOĐA, K. — ZELENÁK, I.: Výťažnosť premeny energie hexóz na energiu tvorby unikavých mastných kyselín v bachore oviec kŕmených diétami s pilinami. *Veter. Med. (Praha)*, 27, 1982, č. 10, s. 585—593.
- BUSH, R. S.: Effect of age and diet on *in vitro* metabolism in rumen epithelium from Holstein calves. *Can. J. anim. Sci.*, 68, 1988, s. 1245—1251.
- CLAYPOOL, D. W. — HOFFMAN, C. H. — OLDFIELD, J. E. — ADAMS, H. P.: Canola meal, cotton seed, and soybean meals as protein supplements for calves. *J. Dairy Sci.*, 68, 1985, č. 1, s. 67—70.
- DEMEYER, D. — VAN NEVEL, C. — TELLER, E. — GODEAU, J. M.: Manipulation of rumen digestion in relation to the level of production in ruminants. *Arch. Anim. Nutr.*, Berlin, 36, 1986, č. 2—3, s. 132—143.
- FLACHOWSKY, G. — MATTHEY, M. — OCHRIMENKO, W. I. — SCHNEIDER, M. — HENNIG, A.: Isoacids in rumen liquid and effect of added isoacids on rumen dry matter degradability of wheat straw. In: *Proc. IV. Int. Symp. on Physiology of Ruminant Nutrition*, Štrbské Pleso, 1987, s. 503—508.
- FLACHOWSKY, G. — MATTHEY, M. — OCHRIMENKO, W. I. — SCHNEIDER, M.: Profile of isoacids in rumen fluid and influence of added isoacids in rumen fluid and influence

- of added isoacids on in sacco dry matter disappearance of untreated and ammonia treated wheat straw. Arch. Anim. Nutr., Berlin, 38, 1988, 5, 431—439.
- HOOVER, W. H.: Chemical factors involved in ruminal fiber digestion. J. Dairy Sci., 69, 1986, č. 10, s. 2755—2766.
- JAGOŠ, P. — DVOŘÁK, R. — SKŘIVÁNEK, M.: Vliv časného příjmu jadrných a objemových krmiv na dynamiku vývoje trávicích procesů u telat ve velkokapacitním teletníku. Veter. Med. (Praha), 31, 1986, č. 5, s. 257—264.
- JELÍNEK, P. — JELÍNEK, K. — DVOŘÁK, R.: Vývojové a dietetické faktory ovlivňující morfológické a funkční parametry předžaludků a slez ovcí. In: Sbor. Ref. Intenzifikační faktory pastvy ovcí, Brno, ČSVTS 1989, s. 23—34.
- KLEIN, R. D. — KINCAID, R. L. — HODGSON, A. S. — HAPRISON, J. H. — HILLERS, J. K. — CRONRATH, J. D.: Dietary fiber and early weaning on growth and rumen development of calves. J. Dairy Sci., 70, 1987, s. 2095—2104.
- MOULD, F. L. — ORSKOV, E. R. — MANN, S. O.: Associative affects of mixed diets. Effects of type level of supplementation and the influence of the rumen fluid pH on cellulolysis *in vivo* and dry matter digestion of various roughages. Anim. Fd Sci. Technol., 10, 1983, s. 15—30.
- ORSKOV, E. R. — FLATT, W. P. — MOE, P. W.: Fermentation balance approach to estimate extent of fermentation and efficiency of volatile fatty acids formation in ruminants. J. Dairy Sci., 51, 1969, č. 9, s. 1429—1435.
- ORSKOV, E. R.: Manipulation of rumen fermentation for maximum food utilization. In: BOURNE, G. H. (ed.): World review of nutrition and dietetics, 22, Basel, S. Karger, 1975.
- QUIGLEY, J. D. — SCHWAB, C. G. — HYLTON, W. E.: Development of rumen function in calves: nature of protein reaching the abomasum. J. Dairy Sci., 68, 1985, s. 694—702.
- ROY, J. H. B.: The calf. London, Butterworths, 1980.
- SLANINA, E. a kol.: Zdravie a chorobnosť teliat v priemyselnej produkcii. Bratislava, Príroda 1977.
- SLANINA, E. — BESEDA, I. — LEHOCKÝ, J. SOKOL, J. VAJDA, V. — VÁEKA, J. — VÁŠKO, L.: Metabolický profil hovädzieho dobytku vo vzťahu k zdraviu a úžitkovosti. Bratislava, ÚVO 1979.

Došlo dňa 15. 5. 1991

BOMBA, A. — ŽITŇAN, R. (Institute of Experimental Veterinary Medicine, Košice; Research Institute for Animal Production, Nitra): *Development of rumen fermentation in calves in the period of milk nutrition*. Veter. Med. (Praha), 37, 1992 (2): 75—82.

The concentrations of total volatile fatty acids (VFA) in the rumen fluid were increasing with the age of the animals (Fig. 1). A significant increase in the concentrations of total VFA ($P < 0.01$) from 70.93 to 90.71 mmol/l was observed in the age period of 5—7 weeks and a highly significant increase ($P < 0.001$) in the age period of 9—11 age. At the average age of seven weeks the lower boundary of the reference value range (80—120 mmol) of the total VFA concentrations in the rumen fluid as mentioned for adult animals was exceeded in the experimental calves. As to this parameter in individual calves, the level of the total VFA concentrations in the rumen fluid of adult animals was not reached in 50 % of calves at the age of three weeks, in 80 % of calves at the age of five weeks, in 20 % of calves at the age of seven weeks and in 10 % calves at the age of nine weeks. At the age of 11 weeks the concentrations of total VFA reached the level of adult animals in all experimental animals (Fig. 2). The molar proportion of acetate (Fig. 3) decreased from 74.04 mol % at the age of three weeks to 67.54 mol % at the age of 11 weeks, and the propionate proportion increased from 16.73 to 19.53 mol % within the same interval. These changes influenced the acetate to propionate ratio, which dropped from 4.67 to 3.79 (Fig. 4), and simultaneously the energetic efficiency of VFA production (Fig. 4), which increased from the value of 71.65 % at the age of three weeks to 73.58 % at the age of eleven weeks. The acetate:propionate ratio was directly, but negatively dependent on the energetic efficiency, the correlation coefficient being $r = -0.970$. The molar proportion of butyrate (Fig. 3) ranges on an average from 5.79 to 9.13 mol %. The propionate proportion did not reach the lower boundary of the reference value range of adult animals in 80 %, 100 %, 80 %, 90 % and 60 % of calves at the age of three, five, seven, nine and eleven weeks, respectively (Fig. 2). A significant increase ($P < 0.05$ and $P < 0.01$) was observed in isobutyrate and isovalerate levels (Fig. 5) at the age of 3—5 weeks while the highest

values of their proportion were recorded at five weeks of age over the whole experimental period (the value of isobutyrate reached 1.08 mol % and of isovalerate 1.38 mol %). The molar proportion of valerate (Fig. 6) ranged on an average from 1.31 to 1.50 mol % and the capronate proportion was decreasing insignificantly with the age of the animals (Fig. 6). The age period of 7–9 weeks in calves can be recommended as convenient for the gradual transition to vegetable nutrition.

calves; milk nutrition; volatile fatty acids

Adresy autorov:

MVDr. Alojz Bomba, CSc., Ústav experimentálnej veterinárnej medicíny, Duklianských hrdinov 1/A, 040 01 Košice

MVDr. Rudolf Žitňan, CSc., Výskumný ústav živočíšnej výroby Nitra, pracovisko Košice, Krmanova 1, 040 01 Košice

INZERCE

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

Bližší informace získáte na adrese:

Redakce časopisu Veterinární medicína
k rukám ing. Z. Radošové
Ústav vědeckotechnických informací pro zemědělství
Slezská 7
120 56 Praha 2

HLADINA INZULÍNU A GLUKÓZY U TELIAT V PRVÝCH ŠIESTICH MESIACHOCH ŽIVOTA

V. Tančin, M. Pješčak

TANČIN, V. — PJEŠČAK, M. [Výskumný ústav živočíšnej výroby, Nitra; Vysoká škola poľnohospodárska, Nitra]: *Hladina inzulínu a glukózy u teliat v prvých šiestich mesiacoch života*. Veter. Med. (Praha), 37, 1992 (2): 83–90.

Krv od 24 teliat holštýnsko-frískeho plemena sme odoberali vo veku 1, 2, 3, 5, 7, 14, 21, 28, 35, 49, 63, 91, 118, 147 a 175 dní života. Tefatá boli do veku 26 resp. 28 dní krmené mliekom, pričom po 14 dní im bola krmná dávka zvýšená z predchádzajúcich 3 l na 5–6 l. Vo veku 28 dní dvanásť teliat bolo na mliečnej výžive, druhých dvanásť bolo krmených zmiešanou výživou od 26. dňa veku (TKŠ 1,0–1,1 kg a 7 l mliečnej krmnej zmesi riedenej 1 : 10 na kus a deň, seno *ad libitum*). V ďalších odberoch po 28. dni všetky tefatá boli krmené zmiešanou výživou. Priemerná hladina inzulínu sa pohybovala od $9,21 \mu\text{U} \cdot \text{ml}^{-1}$ (3. deň) do $59,14 \mu\text{U} \cdot \text{ml}^{-1}$ (21. deň) a hladina glukózy od $2,98 \text{ mmol} \cdot \text{l}^{-1}$ (175. deň) do $9,09 \text{ mmol} \cdot \text{l}^{-1}$ (21. deň). Vekom sa zvyšovala hladina inzulínu a znižovala hladina glukózy. U obidvoch sledovaných ukazovateľov sme vypočítali silnú korelačnú závislosť ich priemerných hladín na veku ($I_{\text{vx}} = 0,998$ pre inzulín; $I_{\text{vx}} = 0,803$ pre glukózu). Vo veku 28 dní sme zistili preukazne nižšiu hladinu inzulínu u teliat krmených zmiešanou výživou ($\ln x \ 3,32 \pm 1,03$) oproti mliečnej výžive ($\ln x \ 4,44 \pm 0,67$) $P < 0,01$. V hladine glukózy sme rozdiely nezaznamenali.

tefatá; vek; krv; inzulín; glukóza

V priebehu prenatálneho a postnatálneho vývoja organizmu dochádza k morfológickým i funkčným zmenám pankreasu v dôsledku čoho sa hladina inzulínu v krvi vekom mení. Z odbornej literatúry vyplýva, že hladina inzulínu v krvi sa vekom zvyšuje a neskôr v starobe sa opäť znižuje. Pri narodení ešte nie je dostatočne vyvinutá funkčná schopnosť Langerhansových ostrovčiek pankreasu, ktorá sa vyvíja v rannom období života, zároveň sa vekom znižuje počet inzulínových receptorov a znižuje sa citlivosť tkanív na inzulín (Ostaszewski, 1984). Podobne Ikeda a i. (1988) poukazujú v pokusoch na krysách, že mladé zvieratá na rozdiel od starších nereagujú na exogénne podanú glukózu. Veľmi nízku hladinu inzulínu pri narodení prasiatok zaznamenali Herbein a i. (1977) a Fowden (1982), pričom u hladujúcich prasiatok po narodení bolo obtiažné stanoviť hladinu inzulínu v krvi (Campion a i., 1986). U teliat bolo zaznamenané postupné zvyšovanie hladín inzulínu v priebehu ich vývoja a súčasne značná variabilita nameraných hodnôt (Nowosad, 1982). Zvyšovanie hladiny inzulínu vekom bolo dokumentované aj

u jahniat (Koppel a i., 1988) a potkanov (Lewis a Wexser, 1977 — cit. Ostaszewski, 1984). Koppel a i. (1983) u jahniat na nízkotukovej diéte zaznamenali zvyšovanie hladiny inzulínu a znížovanie hladiny glukózy vekom.

Z vyššie uvedeného prehľadu literatúry vyplýva, že hladina inzulínu v priebehu postnatálneho vývoja sa mení. Avšak je málo prác, ktoré by hodnotili zmeny hladiny inzulínu a glukózy v dlhšom období postnatálneho vývoja mláďat prežúvavcov najmä u teliat. Cieľom našej práce bolo sledovať zmeny hladiny inzulínu a glukózy v priebehu prvých šiestich mesiacov života teliat.

MATERIÁL A METÓDA

Do pokusu bolo celkovo zaradených 24 teliat holštýnsko-frískeho plemena. Pokus sme realizovali od apríla (narodenie teliat) do októbra.

Krv sme odoberali punkciou *vena jugularis* vo veku 1, 2, 3, 5, 7, 14, 21, 28, 35, 49, 63, 91, 118, 147 a 175 dní. Teľatá boli ustajnené do veku 21 dní v profilaktóriu, a to do veku 14 dní individuálne a potom v skupine 2–3 ks v malom koterči. Teľatá boli kŕmené do veku 26 resp. 28 dní mliekom, pričom po 14 dní im bola dávka zvýšená z predchádzajúcich 3 l na 5–6 l na kus a deň. Vo veku 21 dní teľatá boli presunuté do koterca v pôrodnici. Vo veku 26 dní bolo dvanásť teliat presunutých na zmiešanú výživu do maštale pre odchov mladého hovädzieho dobytku (MHD), kde boli ustajnené v koterči po 10–12 kusov. Kŕmenie bolo následovné: mliečna krmná zmes riedená 1:10 v množstve 6–8 l denne a TKŠ 1,0–1,1 kg. Seno dostávali *ad libitum*. V ďalších odberoch po 28 dní boli už všetky teľatá ustajnené v maštali pre odchov MHD a kŕmené zmiešanou výživou.

Krvné sérum sme získali centrifugáciou zrazenej krvi v centrifugačných skúmavkách pri 3000 ot. min⁻¹ počas 30 min. Vzorky krvného séra sme zmrazili v množstve 1,5 ml a uskladnili pri teplote -20 °C do doby stanovenia. Hladinu inzulínu sme stanovili rádioimunoanalýzou pomocou RIA-INS-Kit (MJ-96) z CPDR (Poľsko) a glukózu Bio-La-chema testom.

Pretože namerané hodnoty inzulínu nemali normálne rozdelenie, pred matematicko-statistickým vyhodnotením výsledkov sme ich logaritmovali ($\ln x$) podľa Bonczeka a i. (1988). Výsledky uvádzame v aritmetických priemeroch so smerodajnou odchýlkou a variácnym koeficientom. Zo získaných výsledkov sme vypočítali korelačnú závislosť sledovaných ukazovateľov na veku, získané rozdiely medzi vekovými obdobiami sme otestovali pomocou Studentovho *t*-testu.

VÝSLEDKY

Priemerná hladina inzulínu v krvnom sére teliat v sledovanom období sa pohybovala od 9,21 $\mu\text{U} \cdot \text{ml}^{-1}$ (3. deň) do 59,14 $\mu\text{U} \cdot \text{ml}^{-1}$ (21. deň; tab. I).

Hladina inzulínu v prvých 14 dňoch pokusu bola pomerne vyrovnaná. V ďalšom období od 21. do 28. dňa veku teliat (tab. I; obr. 1) sme zistili signifikantné zvýšenie hladiny inzulínu v krvnom sére ($P < 0,01$; tab. II), ktoré sprevádzala zvýšená variabilita nameraných hodnôt v tomto období v porovnaní s ostatnými odbermi. Vo veku 28 dní sme zaznamenali signifikantne nižšiu hladinu inzulínu ($P < 0,01$) u teliat kŕmených zmiešanou výživou oproti teľatám na mliečnej výžive (hodnoty v $\ln x$; $4,44 \pm 0,67$ mliečna výživa; $3,22 \pm 1,03$ zmiešaná výživa).

V sledovanom období sa hladina glukózy pohybovala od $9,09 \pm 3,97$ mmol.l⁻¹ (21. deň) do $2,98 \pm 0,30$ mmol.l⁻¹ (175. deň).

Priemerná hladina glukózy sa celkovo vekom nepravidelne znižovala, avšak pri 21dňových teľatách sme v porovnaní s ostatnými vekovými obdobiami zaznamenali preukazné zvýšenie ($P < 0,01$) — tab. I a II; obr. 1.

I. Priemerné hladiny inzulínu a glukózy v sledovanom období — The average levels of insulin and glucose in the test period

	Vek (dni) ¹															
	1	2	3	5	7	14	21	28	35	49	63	91	118	147	175	a
Glukóza ² (mmol . l ⁻¹)																
$\bar{x}$	5,86	5,79	5,76	5,82	5,89	5,66	9,09	5,74	5,48	4,70	4,51	3,97	3,54	3,48	2,98	5,27
s	0,46	0,40	0,32	0,60	0,34	0,48	9,97	1,23	1,80	0,68	0,79	0,86	0,36	0,24	0,30	1,98
v	7,85	6,91	5,56	10,31	5,78	8,48	43,67	21,43	32,85	14,47	17,52	21,66	10,17	6,89	10,07	37,57
Inzulín ³																
$\bar{x}$	2,63	2,37	2,22	2,25	2,29	3,05	4,08	4,04	3,23	3,30	3,27	3,24	3,38	2,97	3,20	3,05
s	0,39	0,38	0,38	0,26	0,24	0,59	0,88	0,93	1,05	0,88	0,65	0,49	0,52	0,48	0,23	0,84
v	14,83	16,03	17,12	11,56	10,48	19,34	22,57	23,02	32,51	26,67	19,87	15,12	15,39	16,16	7,21	27,54
b	13,87	10,70	9,21	9,49	9,87	21,12	59,14	56,83	25,28	27,11	26,31	25,53	29,37	19,49	24,53	21,12

a — $\bar{x}$, s, v, b, za celé sledované obdobie — $\bar{x}$, s, v, b over the whole test periodb — odlogaritmované priemery ($\mu\text{U} \cdot \text{ml}^{-1}$) — the antilogarithms of the means ($\mu\text{U/ml}$)¹age [days], ²glucose, ³insulin

II. Testovanie preukaznosti rozdielov sledovaných ukazovateľov — Tests of the significance of differences in the target parameters

Vek (dni) ¹	Glukóza ²													
	1	2	3	5	7	14	21	28	35	49	63	91	118	147
175	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	+	—	—
147	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	+	—	—
118	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	+	—	—
91	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	+	—	—
63	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	+	—	—
49	—	—	—	—	—	—	++	—	—	—	—	—	—	—
35	—	—	—	—	—	—	++	—	—	—	—	—	—	—
28	—	—	—	—	—	—	++	—	—	—	—	—	—	—
21	++	++	++	++	++	++	++	—	—	—	—	—	—	—
14	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
7	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
5	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
3	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
2	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—

Vek (dni) ¹	Inzulín ³													
	1	2	3	5	7	14	21	28	35	49	63	91	118	147
175	++	++	++	++	++	—	++	++	—	—	—	—	—	—
147	—	++	++	++	++	—	++	++	—	—	—	—	—	—
118	++	++	++	++	++	—	++	++	—	—	—	—	—	—
91	++	++	++	++	++	—	++	++	—	—	—	—	—	—
63	++	++	++	++	++	—	++	++	—	—	—	—	—	—
49	++	++	++	++	++	—	++	++	—	—	—	—	—	—
35	++	++	++	++	++	++	++	++	—	—	—	—	—	—
28	++	++	++	++	++	++	—	—	—	—	—	—	—	—
21	++	++	++	++	++	—	—	—	—	—	—	—	—	—
14	—	++	++	++	++	—	—	—	—	—	—	—	—	—
7	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
5	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
3	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
2	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—

For 1—3 see Tab. I

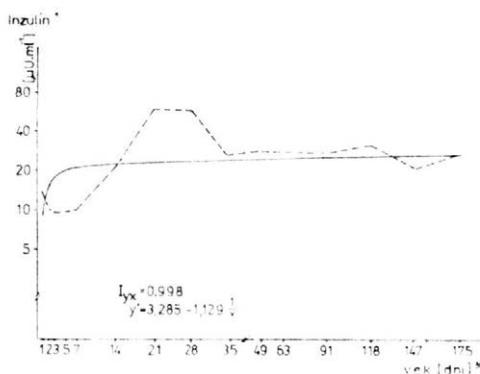
— $P > 0,05$; + $P < 0,05$; ++ $P < 0,01$

Vo veku 28 dní sme nezaznamenali rozdiel v hladine glukózy medzi jednotlivými typmi kŕmenia ($5,85 \pm 0,91$ mmol.l⁻¹ mliečna výživa; $5,85 \pm 1,76$ mmol.l⁻¹ zmiešaná výživa).

Pri oboch sledovaných ukazovateľoch sme vypočítali silnú korelačnú závislosť ich priemerných hodnôt v krvnom sére na veku ($I_{yx} = 0,998$, inzulín; $I_{yx} = 0,803$, glukóza; obr. 1).

Celkovo sme zaznamenali nepravidelné zvyšovanie hladiny inzulínu a znižovanie hladiny glukózy vekom v priebehu prvých šiestich mesiacov života teliat.

1. Veková dynamika inzulínu a glukózy;
 — — — hodnoty namerané, ——— hodnoty vypočítané — Age variations in insulin and glucose levels; — — — recorded values, ——— calculated values
¹insulin, ²glucose, ³age (days)



DISKUSIA

Nami zaznamenané hodnoty inzulínu v jednotlivých mesiacoch života sú v súlade s údajmi, ktoré uvádza Nowosad (1982) a Overfield (1975), a v prvom týždni života s údajmi Owens a i. (1986). Zistené hladiny glukózy sú v súlade s údajmi autorov Kamalu a Trenkle (1978), Oltner a Berlund (1982), Zirolecka a i. (1983).

V priebehu sledovaného obdobia sme zaznamenali nepravidelné zvyšovanie hladiny inzulínu v krvnom sére teliat od narodenia do veku 175 dní života a vypočítali sme silnú závislosť priemernej hladiny inzulínu na veku. Toto zistenie je v súlade so zmenami inzulínu ktoré uvádzajú Nowosad (1982), Takahashi a i. (1986) a Verde a Trenkle (1987). Podobne aj z výsledkov autorov Beaver a i. (1989) vyplýva postupné zvyšovanie hladiny inzulínu vekom u mladého hovädzieho dobytku. Owens a i. (1986) nezaznamenali rozdiel v hladine inzulínu v prvom a dvanástom týždni života. Podobne Young a i. (1970 — cit. Ostaszewski, 1984) nepotvrdili závislosť hladiny inzulínu na veku. Davison (1979 — cit. Ostaszewski, 1984) poukazuje na skutočnosť, že zmeny hladiny inzulínu vekom sú skôr závislé na stupni obezity než na veku.

Zvyšovanie hladiny inzulínu v krvnom sére teliat zaznamenané v našom pokuse môže súvisieť s postupným vývinom funkčnej aktivity Langerhansových ostrovcov pankreasu, ďalej znižovaním citlivosti tkanív na inzulín ako i znižovaním počtu inzulínových receptorov (Ostaszewski, 1984), ďalej so zvyšovaním tukových zásob (Bergan, 1974), ako aj so znižovaním schopnosti organizmu pre periférnu utilizáciu glukózy spôsobenú zmenou metabolizmu u prežuvavcov po odstave (Koppel a i., 1988).

Nami zistené znižovanie hladiny glukózy vekom je v súlade so zistením autorov Oltner a Berlund (1982) a Wijaysinghe a i. (1984) zaznamenané u teliat a Koppel a i. (1983) u jahniat na nízko-tukovej diéte. Ostaszewski (1984) poukazuje na skutočnosť, že znižovanie hladiny glukózy vekom nastupuje aj po zabrzdzení vývoja bachora, čo znamená, že postnatálne zmeny v metabolizme glukózy sú pod genetickou kontrolou.

Glukóza pochádzajúca z krmiva u neprežuvavcov je významným faktorom kontrolujúcim sekréciu inzulínu pankreasom. Činnosť tráviaceho aparátu u teliat je podobná činnosti tráviaceho aparátu neprežuvavcov a teda krvná glukóza na rozdiel od dospelých prežuvavcov pochádza priamo z tráviaceho aparátu ako aj z pečenej glukoneogenézy (Church, 1976). Zvýšenie hladiny sledovaných ukazovateľov v odbere vo veku 21 dní súvisí pravdepodobne so zvýšeným príjmom mlieka a tým aj príjmu glukózy organizmom. Preukazné zníženie hladiny inzulínu vo veku 28 dní po prechode z mliečnej výživy na zmiešanú je možné vysvetliť znížením príjmu ľahkostráviteľnej energie a udržiavaním homeostázy glukózy.

Literatúra

- BONCZEK, R. R. — YOUNG, C. W. — WHEATON, J. E. — MILLER, K. P.: Responses of somatotropin, insulin, prolactin and thyroxine to selection for milk yield in Holstein. *J. anim. Sci.*, 71, 1988, s. 2470—2479.
- BEAVER, E. E. — WILLIAMS, J. E. — MILLER, S. J. — HANCOCK, D. L. — HANNAH, S. M. — OCONNOR, P. L.: Influence of breed and diet on growth, nutrient digestibility, body composition and plasma hormones of Brangus and Angus steers. *J. anim. Sci.*, 67, 1989, s. 2415—2425.
- BERGAN, W. G.: Protein synthesis in animal models. *J. anim. Sci.*, 38, 1974, s. 1079 to 1091.
- CAMPION, D. R. — McCUSKER, R. H. — BOUNOMO, F. C. — JONES, W. K.: Effect of fasting neonatal piglets on blood hormone and metabolite profiles and on skeletal muscle metabolism. *J. anim. Sci.*, 63, 1986, s. 1418—1427.
- FOWDEN, A. L. — COMPLINE, R. S. — SILVER, M.: Pancreatic beta cell function in the fetal pig and sow. *Quart. J. Exp. Physiol.*, 67, 1982, s. 225—231.
- HERBEIN, J. H. — MARTIN, R. J. — GRIEL, L. G. — KARANAUGH, J. F.: Serum hormones in the perinatal pig and the effect of exogenous insulin on blood sugar. *Growth*, 41, 1977, s. 277—281.
- CHURCH, D. C.: Digestive physiology and nutrition of ruminant. Portland, Ore, Oxford Press 1976, s. 34—35.
- IKEDA, T. — HOSHINO, T. — HONDA, M. — TAKENCHI, T. — ITO, Y.: The effect of maturation on insulin secretion after starvation in isolated rat pancreas. *Exp. clin. Endocrin.*, 91, 1988, s. 282—286.
- KAMALU, T. N. — TRENKLE, A.: Postpartial changes in plasma insulin, plasma glucose and plasma free fatty acids of milk-fed calves. *Nutr. Rep. int.*, 18, 1978, s. 243—248.
- KOPPEL, J. — KUCHAR, S. — MOZEŠ, Š. — BOĎA, K.: Insulin, thyroxine and glucose in plasma of suckling lambs on low and high fat milk diet. *Z. Tierphysiol. Tierernähr. Fütter.*, 50, 1983, s. 101—106.
- KOPPEL, J. — KUCHAR, S. — MOZEŠ, Š. — BOĎA, K.: Insulin, glucose and lipids in the plasma of suckling and ruminating lambs after xylazine and glucose administration. *J. anim. Physiol. anim. Nutr.*, 60, 1988, s. 102—107.
- NOWOSAD, R.: Oznaczenie poziomu insulínu w surowicy krwi z rejonów hodowlanych sudetom. *Weterinaria XL*, 139, 1982, s. 85—91.
- OLTNER, R. — BERGLUND, B.: Blood levels of hemoglobin, leukocytes, glucose, urea, creatine, calcium, magnesium and inorganic phosphorus in dairy calves from birth to 12 weeks of age. *Swed. J. agric. Res.*, 12, 1982, s. 23—28.
- OSTAZSEWSKI, P.: Poziom insulínu we krwi i receptorów insulínowych w tkankach a metabolism w okresie wzrostu. *Acta physiol. pol.*, 25, 1984, suppl. 27, s. 82—100.
- OVERFIELD, J. R.: Nutritional regulation of insulin secretion in sheep. Thesis, M. S., Iowa University Amer., 1975.
- OWENS, S. W. — SARTIN, J. L. — KEMPPAINEN, R. J. — CUMMINS, K. A.: Development alterations in the regulation of glucagon and insulin secretion in Holstein calves. *Amer. J. veter. Res.*, 47, 1986, s. 263—269.
- TAKAHASHI, H. — MURATA, H. — MATSUMOTO, H.: Responses of plasma insulin, glucagon and cortisol to exposure in calves. *J. veter. Sci.*, 48, 1986, s. 419—422.

VERDE, L. S. — TRENKLE, A.: Concentrations of hormones in plasma from cattle with different growth potentials. *J. anim. Sci.*, 64, 1987, s. 426—432.

WIJAYASINGHE, M. S. — SMITH, N. E. — BALDWIN, R. L.: Growth, health and glucose concentration of calves fed high glucose of high-fat milk replacers. *J. Dairy Sci.*, 67, 1984, s. 2949—2956.

ZIOLECKA, A. — MORAWIEC, M. — JACZEWSKA, A.: Zmiany steżenia mocznika i glukozy we krwi cielat w okresie odchowu. *Rocz. Nauk roln.*, 10, 1983, s. 211—218.

Došlo dňa 22. 3. 1991

TANČIN, V. — PJESČAK, M. (Research Institute for Animal Production, Nitra; University of Agriculture, Nitra): *Insulin and glucose levels in calves in the first six months of life*. *Veter. Med. (Praha)*, 37, 1992 (2): 83—90.

Twenty-four calves of the Holstein-Friesian breed were included into a trial. The trial was performed from April (when the calves were born) to October. The objective of the study was to investigate variations in insulin and glucose levels over a longer time period of the postnatal development of calves. The blood was sampled by the jugular vein puncture at the age of 1, 2, 3, 5, 14, 21, 28, 35, 49, 63, 91, 118, 147 and 175 days. The calves were housed in a prophylactorium calf-house till the age of 21 days: till the age of 14 days they were housed individually and then in groups of 2—3 calves in a small pen. The calves were fed milk till the age of 26 or 28 days, after a fortnight the feed intake was increased from the previous 3 litres to 5—6 litres per head/day. At the age of 21 days the calves were transferred to pens in the calving room. At the age of 26 days twelve calves were transferred to a barn for young cattle rearing, the remaining twelve calves were transferred at the age of 28 days; here they were housed by 10—12 head per pen and they were fed a commercial milk replacer diluted at a 1:10 ratio, the feed intake being 6—8 litres a day, and a commercial pelleted calf starter TKŠ at the amount of 1.0—1.1 kg. Hay was administered ad libitum. The blood serum was isolated by centrifugation of coagulated blood in centrifuge tubes for 30 minutes at 3,000 rpm. The blood serum samples were frozen at the amount of 1.5 ml and they were stored at a temperature of -20°C before the analysis. The insulin levels were determined by a radioimmunoassay using the RIA-INS-kit (MJ-96) from Poland and the glucose levels were determined by the Bio-Lachema test. As the recorded values do not usually form the Gaussian distribution, the logarithms of these values ($\ln x$) were taken after Bonczek et al. (1988) before the mathematico-statistical evaluation of the results. The results are presented as arithmetical means with standard deviations and variation coefficients. From the results obtained the correlation dependences of the target parameters on age were calculated, and the differences between the age periods were tested by means of Student's *t*-test. The average insulin concentration in the blood serum of calves ranged from $9.21 \mu\text{U/ml}$ (day 3) to $59.14 \mu\text{U/ml}$ (day 21; Tab. I) in the test period. The insulin level in the first fortnight of the trial was relatively balanced. In the subsequent period from 21 to 28 days of age (Tab. I, Fig. 1), a significant increase in the insulin level in the blood serum was observed ($P < 0.01$; Tab. II) characterized by the higher variability in the recorded values in this period in comparison with the other samplings. At the age of 28 days a significantly lower insulin level ($P < 0.01$) was recorded in the calves on a diet consisting of milk replacer, commercial pelleted calf starter and hay, against the calves on a native milk diet (the values in $\ln x$: 4.44 ± 0.67 in milk nutrition; 3.32 ± 1.03 in milk/grain and hay nutrition). In the test period the glucose level ranged from $9.09 \pm 3.97 \text{ mmol/l}$ (day 21) to $2.98 \pm 0.30 \text{ mmol/l}$ (day 175). The average glucose level was irregularly decreasing with the age of calves, but a significant increase ($P < 0.01$; Tabs. I and II; Fig. 1) was recorded in the 21-day-old calves in comparison with the other age periods. At the age of 28 days there was no difference in the glucose level for the tested types of diet ($5.85 \pm 0.91 \text{ mmol/l}$ in milk nutrition; $5.85 \pm 1.76 \text{ mmol/l}$ in milk/grain and hay nutrition). For the two target parameters the high correlation between their average levels in the blood serum was calculated with respect to age ($I_{yx} = 0.998$ for insulin; $I_{yx} = 0.803$ for glucose; Fig 1). In general irregular increases in the insulin level and decreases in the glucose level with the age of calves were observed in the first six months of age. The increase in the level of the target parameters in blood

samples taken at the age of 21 days is probably associated with the higher intake of milk and in this way with the higher organism intake of glucose. The significant decrease in the insulin level at the age of 28 days after the transition from milk nutrition to milk/grain and hay nutrition can be explained from a decrease in the intake of easily digestible energy and from glucose homeostasis maintenance.

calves; age; blood; insulin; glucose

Adresy autorov:

Ing. Vladimír T a n ě i n , CSc., Výskumný ústav živočišnej výroby, Hlohovská cesta 2, 949 92 Nitra

Prof. MVDr. Mikuláš P j e š ě a k , CSc., Vysoká škola poľnohospodárska, Lomonosovova 2, 949 76 Nitra

ADVERTISEMENT

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

For a more detailed information, please contact:

Veterinární medicína

atth. ing. Z. Radošová

Ústav vědeckotechnických informací pro zemědělství

Slezská 7

120 56 Praha 2

SROVNÁNÍ ÚČINNOSTI KONZERVAČNÍHO PŘÍPRAVKU MILKOFIX S TRADIČNÍMI KONZERVAČNÍMI PROSTŘEDKY PRO ÚČELY STANOVENÍ POČTU SOMATICKÝCH BUNĚK VE VZORCÍCH MLÉKA FLUORO-OPTO-ELEKTRONICKOU METODOU

O. Hanuš, V. Genčurová, B. Gabriel, I. Žváčková

HANUŠ, O. — GENČUROVÁ, V. — GABRIEL, B. — ŽVÁČKOVÁ, I. [Výzkumný ústav pro chov skotu, Rapotín]: *Srovnání účinnosti konzervačního přípravku Milkofix s tradičními konzervačními prostředky pro účely stanovení počtu somatických buněk ve vzorcích mléka fluoro-opto-elektronickou metodou*. Veter. Med. (Praha), 37, 1992 (2): 91–99.

Zdravotně nerizikový konzervační prostředek Milkofix (M) určený ke konzervaci vzorků mléka (Tržický, 1990) byl srovnáván s dalšími preparáty. Vzorky nekonzervované (N) byly testovány vůči vzorkům konzervovaným azidem sodným (A; 0,0085 g NaN_3 a 0,063 g NaCl), bronopolem (B; 0,010 g bronopolu a 0,090 g NaCl), dvojchromanem draselným (C; 0,033 g $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ a 0,067 g KCl) a Milkofixem (M; 0,125 g). Dávky konzervačních prostředků A, B, C a M platí pro 25 ml mléka. Měření byla provedena na přístroji Fossomatic 90 (Foss Electric, Dánsko). Byly nalezeny významně vyšší hodnoty počtu SB v bazénových vzorcích mléka konzervovaných oproti N hned po odběru o A 6,0 %, B, C a M 12,9 %, ($P < 0,01$). Po jednom dni uložení vzorků N při teplotě 4 °C jsou tyto rozdíly nevýznamné ($P > 0,05$), takže výsledky vzorků N, A, B, C a M lze považovat za odpovídající skutečnosti a vzájemně srovnatelné. Nebyl sledován vliv koncentrace konzervačních prostředků na výsledky v počtu SB, neboť hodnoty konzervovaných vzorků o různých koncentracích se lišily nevýznamně ($P > 0,05$) od vzorků N. Za použitelné při popsaném způsobu ošetření (tj. konzervace a teplota; I = 20 °C, II = 4 °C) vzorků mléka lze považovat tyto doby uložení: N I — 1 den; A I — 3 dny; B I — 7 dní; M I — 3 dny; N II — 9 dní; A II — 15 dní; B II — 17 dní; C II — 17 dní; M II — 17 dní. Pro B II, C II a M II pravděpodobně i déle. Milkofix dosáhl dob delších než N, ale většinou kratších než ostatní konzervace. Bylo vyhodnoceno následující pořadí vhodnosti způsobů ošetření vzorků: 1. C II, 2. B II, 3. M II, 4. A II, 5. N II, 6. C I, 7. B I, 8. A I, 9. M I a 10. N I. V obou teplotách uložení bylo u C dosaženo nejlepších výsledků, proto lze dvojchroman draselný přednostně doporučit, i při jeho náhradě v rutinních analýzách méně škodlivým konzervačním prostředkem, k přípravě kontrolních (pilotních) vzorků pro Fossomatic.

vzorky mléka; konzervace; počet somatických buněk; Fossomatic; azid sodný; bronopol; dvojchroman draselný; Milkofix

Zdravotní rizika související s používáním dvojchromanu draselného ke konzervaci vzorků mléka určených k analýze byla v některých zemích důvodem pro jeho náhradu jinými substancemi, především bronopolem

(PSL Microtabs, 1987), popřípadě azidem sodným (Milchprüfing Bayern, 1988). Tyto látky musí svými vlastnostmi vyhovovat většině požadavků, které pro konzervační prostředky specifikoval K r o g e r (1985).

Ověřením konzervačního účinku některých konzervačních prostředků pro účely stanovení počtu somatických buněk fluoro-opto-elektronickou metodou (Fossomatic) stanovili G r a p p i n a J e u n e t (1975) doby a podmínky účinné stabilizace. Uvádí pro dvojchroman draselný (0,10 %) k získání použitelných výsledků analýz dva dny při teplotě 20 °C a tři týdny při teplotě 4 °C. Obdobné výsledky uvádějí i G r a p p i n a J e u n e t (1974), kteří zjistili také zvýšení hodnot počtu somatických buněk (SB) při porovnání konzervovaných vzorků s nekonzervovanými. Podobný jev zaznamenal A r d ö (1982) u konzervace bronopolem (0,02 %) v hodnotě asi 10% nárůstu oproti nekonzervovaným vzorkům. Toto vysvětluje citací názoru S t r e t t o n a a M a n s o n a (1973), že bronopol primárně inhibuje některé enzymy v buněčné membráně a tím zpřístupňuje buňku barvivu a urychluje vznik komplexu DNA-ethidiumbromid. Proto také buňky zachycené po konzervaci bronopolem považuje za skutečně přítomné. Z hlediska účinnosti konzervace uvádí pro bronopol vhodnou dobu do 5 dní při teplotě 20 °C. R y š á n e k a N y t r a (1987, 1988) zaznamenali na přístroji Fossomatic při konzervaci dvojchromanem draselným (2 mg . ml⁻¹) poměrně velmi vyrovnané průměrné hodnoty v 29 vzorcích mléka v 1., 2., 3. a 8. dnu (393, 402, 386 a 385 tis. SB . ml⁻¹).

T r ž i c k ý (1990) navrhl zdravotně nerizikový konzervační prostředek vzorků mléka na bázi sloučeniny stříbra — Milkofix (M). Tento jsme testovali z hlediska konzervační schopnosti pro účely infraanalýzy základního složení mléka (H a n u š aj., 1992a, b). Prokázaná antibakteriální a konzervační účinnost M byla slabší než srovnávaných konzervačních činidel a činila 4 dny při 20 °C a 9 dnů při 4 °C teploty uložení vzorků.

Cílem této práce je porovnat konzervační účinnost Milkofixu s tradičními konzervačními prostředky při stanovení počtu somatických buněk fluoro-opto-elektronickou metodou.

MATERIÁL A METODY

S nekonzervovanými vzorky mléka (N) byly porovnávány čtyři konzervační látky v následujících základních koncentracích:

1. Azid sodný ve směsi 0,0085 g NaN₃ a 0,063 g NaCl podle údajů Milchprüfing Bayern (1988) — A.

2. Bronopol ve směsi 0,010 g 2-brom, 2-nitro,1,3 propandiol a 0,09 g NaCl, tabletovaný podle návrhu SPP Praha (1990) — B.

3. Dvojchroman draselný tabletovaný (MERCK), 0,033 g K₂Cr₂O₇ a 0,067 g KCl. ON 57 0532 doporučuje 1 mg . ml⁻¹ — C.

4. Milkofix Forte, 0,125 g směsi žluté barvy (T r ž i c k ý, 1990) — M.

Dávkování konzervačních prostředků A, B, C, M se vztahuje na 25 ml mléka. Měření počtu SB bylo provedeno na přístroji Fossomatic 90 (Foss Electric, Dánsko).

V prvním testu byl porovnán rozdíl mezi nekonzervovanými (N) a konzervovanými (A, B, C, M) vzorky individuálních krav hned po přepravě do laboratoře a nakonzervování. Bylo změřeno v 200 měřeních 100 vzorků.

V testu druhém byly tytéž rozdíly porovnány na vzorcích bazénových hned po odběru a pak den po odběru při uložení 20 °C a 4 °C. Bylo provedeno 280 měření 140 vzorků.

V třetím testu byl ověřen vliv koncentrace konzervačních prostředků v násobcích (0,25; 0,50; 1,00; 1,50; 2,00) uvedených základních koncentrací na výsledky počtu SB v čtyřech bazénových vzorcích den po odběru. Bylo uskutečněno 168 měření 84 vzorků uložených při teplotě 4 °C.

Ve čtvrtém testu bylo měřeno po šesti nekonzervovaných a konzervovaných bazénových vzorcích mléka (N, A, B, C, M) uložených při teplotách 20 °C a 4 °C (I a II) v časové řadě 11 (I) a 17 (II) dnů. Bylo provedeno 912 měření 456 vzorků mléka uvnitř zvolených kritérií α - δ a celkem bylo provedeno vyhodnocení. Při stanovení horního a dolního limitu pro hodnocení opakování průměrů počtu SB v čase bylo zohledněno doporučení IDF (Grappin, 1985).

Výsledky jednotlivých testů byly statisticky vyhodnoceny s ověřením statistické významnosti diferencí mezi průměry.

VÝSLEDKY A DISKUSE

Výsledky testu 1 v tab. I ukazují statisticky významné zvýšení ($P < 0,05$) hodnot počtu SB v konzervovaných vzorcích oproti nekonzervovaným při měření brzy po odběru. Toto zvýšení bylo u vzorků mléka individuálních krav nejnižší pro A (18,6 %) a nejvyšší pro B a C (26,3 a 26,4 %).

Výsledky v bazénových vzorcích (test 2, tab. II) ukazují statisticky významné zvýšení počtu SB ve vzorcích konzervovaných (24 h při teplotě 4 °C) oproti nekonzervovaným (po odběru) o: A 6,0 %; B, C a M 12,9 %. Při uložení vzorků N při teplotě 20 °C a 4 °C jeden den vzrostl počet SB z původních 233 tis. ml⁻¹ na 282 a 258, tj. o 21,0 a 10,7 % ($P < 0,01$). Je pravděpodobné, že procesy stárnutí buněk, teplota a přídavek konzervačních činidel způsobují zvýšení propustnosti biologických membrán pro barvivo a despiralizaci DNA, takže buňky poskytují pak silnější fluorescenční odezvu. Obdobné výsledky uvádějí Ardö (1982) a Miller aj. (1986). Postup denaturace struktury DNA teplotou (85 °C) a zintenzívnění reakce DNA-ethidiumbromid k získání výsledků v čerstvých vzorcích po-

I. Vliv různých konzervačních prostředků při běžně používaných koncentracích na stanovení počtu somatických buněk (SB) v mléce (tis. ml⁻¹) metodou Fossomatic. Měření bylo uskutečněno 8 h po odběru vzorků od individuálních krav a uložených po rozpuštění konzervačních prostředků při teplotě 4 °C — The effects of preservatives at the currently used concentrations on the determination of somatic cell (SB) counts in milk (thous. per ml) by the Fossomatic method. The analysis was performed eight hours after taking samples from individual cows and their storage at the temperature of 4 °C when the preservatives were dissolved

Konzervace ¹ Rozsah počtu SB ²	N A B C M						Diference v % N ³			
	n						N-A	N-B	N-C	N-M
< 250	11	153	146	156	156	150	4,7	- 2,1	- 1,9	2,0
250-500	5	347	420	488	486	472	-21,0	-40,5	-39,9	-36,0
> 500	4	1 728	2 136	2 222	2 228	2 209	-23,7	-28,7	-29,0	-28,0
Celkem ⁴	20	517	613	652	653	642	-18,6*	-26,3*	-26,4*	-24,3*

N — nekonzervované; A = azid sodný; B = bronopol; C = dvojchroman draselný; M = Milkofix (platí pro tab. I-IV) — N — untreated; A = sodium azide; B = bronopol; C = potassium dichromate; M = Milkofix (applies to Tabs. I-IV)

* — $P < 0,05$

¹treatment, ²extent of SB counts, ³difference in % N, ⁴total

II. Vliv různých konzervačních prostředků na stanovení počtu somatických buněk (SB) v mléce (tis. ml^{-1}) metodou Fossomatic. Měření bylo uskutečněno v bazénových vzorcích mléka nekonzervovaných 6 h po odběru při teplotě uložení 4°C (1) a pak v těchže vzorcích nekonzervovaných po 24 h při teplotě 20°C (2) a nekonzervovaných a konzervovaných po 24 h při teplotě 4°C (3) — The effects of different preservatives on the determination of somatic cell (SB) counts in milk (thous. per ml) by the Fossomatic method. The analysis was performed in untreated bulk milk samples in six hours after sampling at the storage temperature of 4°C (1) and later on, in the same untreated samples after 24 hours at the temperature of 20°C (2), and finally in untreated and treated samples after 24 hours at the temperature of 4°C (3)

Teplota a čas uložení ¹	n								Diference v % N1 ⁴						Diference v % N3 ⁵				
		1	2	3	3	3	3	3	N 1-N 2	N 1-N 3	N 1-A	N 1-B	N 1-C	N 1-M	N 3-N 2	N 3-A	N 3-B	N 3-C	N 3-M
Konzer- vace ²		N	N	N	A	B	C	M											
Rozsah počtu SB ³																			
< 250	14	158	208	188	180	191	192	192	-31,7	-19,6	-13,9	-20,9	-21,5	-21,5	-10,6	4,3	-1,6	-1,6	-1,6
250—500	4	334	387	355	334	356	354	352	-15,9	-6,3	0	-6,7	-6,0	-5,7	-9,0	5,9	-0,3	0,4	0,8
> 500	2	556	588	553	544	583	578	576	-5,8	0,7	2,2	-4,8	-3,9	-3,6	-6,3	1,5	-5,4	-4,5	-4,3
Celkem ⁶	20	233	282	258	247	263	263	262	**	**	*	**	**	**	-9,3**	4,3**	-1,9	-1,9	-1,6

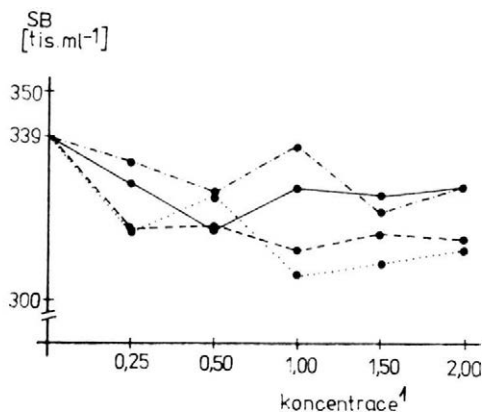
¹temperature and storage time, ²treatment, ³extent of SB counts, ⁴difference in % N1, ⁵difference in % N3, ⁶total

* — $P < 0,05$; ** — $P < 0,01$

užil Spinell — cit. Ardö (1982). Z testovaných konzervačních prostředků nejméně tyto efekty dává azid sodný. Po 24 h uložení vzorků N při teplotě 4 °C se stírá rozdíl mezi nimi a vzorky konzervovanými, takže statisticky významný rozdíl byl zachycen pouze u azidu sodného 4,3 %. Na základě těchto výsledků a výsledků které dosáhl Ardö (1982) lze považovat za skutečné počty SB hodnoty konzervovaných a nekonzervovaných vzorků po 24 h při teplotě 4 °C. Z výsledků vyplývá, že Milkofix poskytoval hodnoty srovnatelné s B a C. Zvýšení výsledků počtu SB u vzorků konzervovaných oproti N (po odběru) v hodnotě blízké 10 % je srovnatelné s výsledky které publikoval Ardö (1982).

Průběh testu 3 je zachycen na obr. 1. Statisticky významný ($P < 0,01$) byl rozdíl pro dvojchroman draselný při běžné koncentraci (1,00; 339—327 tis. ml⁻¹ SB). Všechny ostatní hodnoty pro různé koncentrace konzervačních prostředků se statisticky nelišily ($P > 0,05$) od nekonzervovaných vzorků. Z toho a z kolísavého průběhu křivek grafu bez zřejmé tendence lze říci, že nebyl shledán vliv koncentrace testovaných konzervačních prostředků na výsledek stanovení počtu SB. Naopak Ardö (1982) tento vliv shledal, ale pouze pro velmi nízké koncentrace. Rozdíl ve výsledcích je možné vysvětlit tím, že zatímco vzorky uvedeného autora byly pravděpodobně zpracovány hned po odběru a nakonzervování, naše až po uložení jeden den při teplotě 4 °C.

Výsledky testu 4 jsou v tab. III a IV. Jemná sraženina stříbrné soli tvořící se u dna vzorkovnic při konzervaci Milkofixem nečinila po rehomogenizaci problémy při průtoku přístrojem. ČSN 57 0529 uvádí při zpeněžování mléka hranice pro počty SB 300 a 500 tis. ml⁻¹ (mléko výběrové a standardní), německé normy v současnosti rovněž 500 a od roku 1993 400 tis. ml⁻¹ (Bergmann, 1988). U individuálních vzorků uvádí Reineau (1986) jako mezní hodnotu lineárního hodnocení počtu SB 5



1. Vliv koncentrace konzervačních prostředků (v násobcích běžně používané koncentrace) na stanovení počtu somatických buněk (SB) v mléce metodou Fossomatic. Čtyři bazénové vzorky mléka byly měřeny nekonzervované a konzervované 24 h po odběru při teplotě uložení 4 °C a výsledky byly zaneseny do grafu jako aritmetické průměry; azid sodný, —.—.—.— bronopol, ——— dvojchroman draselný, ——— Milkofix — The effects of preservative concentrations (in multiples of the currently used concentration) on the determination of somatic cell (SB) counts in milk by the Fossomatic method. Four bulk milk samples were analyzed as untreated and as treated in 24 hours after sampling at the storage temperature of 4 °C, and the results were plotted as arithmetical means in the graph; sodium azide, —.—.—.— bronopol, ——— potassium dichromate and ——— Milkofix

III. Výsledky počtu somatických buněk bazénových vzorků mléka (tis. ml⁻¹) různě ošetřených a měřených na přístroji Fossomatic 90 v jednotlivých dnech. Hodnoty představují aritmetické průměry šesti vzorků — The results presenting the somatic cell counts in bulk milk samples (thous. per ml) treated in a different way and analyzed on the Fossomatic 90 apparatus on particular days. The values are arithmetical means of six samples

Teplota ¹ Konzer- vace ² Den ³	I					II				
	N	A	B	C	M	N	A	B	C	M
1	ab									
	370	376	379	375	380	370	376	379	375	380
2	422	363	395	380	388	378	361	384	377	375
3	s	a			a					
		337	401	384	359	385	355	381	371	380
5		ac	b		a					
		290	374	369	320	358	351	393	379	381
7		ac			a	a				
		271	380	384	335	342	352	391	383	381
9		ac	ab							
		222	314	348	s	360	352	381	366	363
11		ac	ab	ac		a	ac			
		194	287	326		424	333	373	369	368
13						a				c
						464	359	388	388	359
15						ab				
						503	359	385	372	370
17						s	340	377	371	376

Teploty uložení vzorků: I = 20 °C, II = 4 °C; a = difference > ± 24 od referenční hodnoty (2. den měření); b = statisticky významná difference od referenční hodnoty (párový t-test) P < 0,05; c = statisticky významná difference od referenční hodnoty P < 0,01; s = sražený vzorek — The temperatures of sample storage: I = 20 °C, II = 4 °C; a = the difference > ± 24 from the reference value (day 2 of the analysis); b = statistically significant difference from the reference value (paired sample t-test) P < 0,05; c = statistically significant difference from the reference value P < 0,01; s = coagulated sample

¹temperature, ²treatment, ³day

(283 tis. ml⁻¹) k selekci krav pro léčbu v době stání nasucho. Z uvedeného je zřejmé, že přesnost stanovení počtu SB je nejdůležitější v rozsahu do 500 tis. ml⁻¹. Z těchto důvodů byl v testu vybrán soubor šesti bazénových vzorků mléka, kde jen jeden překročil tuto hranici ($\bar{x}$ = 380, s_x = 158, min. = 119, max. = 605 tis. ml⁻¹). Vzorky N I se srazily po dvou dnech, vzorky M I se srazily po sedmi dnech, vzorky A I, B I a C I se nesrazily po 11 dní sledování, vzorky N II se srazily po 15 dnech a vzorky A II, B II, C II a M II se nesrazily po 17 dní sledování. Na základě dříve uvedených skutečností byly jako referenční stanoveny hodnoty počtu SB získané druhý den sledování. Časové řady výsledků v počtu SB pro C I a II jsou srovnatelné s těmi, které získali Ryšánek a Nytra (1987, 1988) a jsou stejně vyrovnané (II), popřípadě vyrovnanější (I) než ty,

kteřé publikoval Grappin a Jeunet (1975). Z tab. III lze stanovit doby pro získání reprodukovatelných výsledků pro počty SB ve dnech: N I—1; A I—3; B I—7; C I—7; M I—3; N II—9; A II—15; B II—17; M II—17; pro B II, C II a M II pravděpodobně i déle. Grappin a Jeunet (1975) uvádějí pro dvojchroman draselný 2 dny při teplotě 20 °C a tři týdny při teplotě 4 °C, Ardo (1982) pro bronopol 5 dní při teplotě 20 °C. Posouzením výsledků v tab. III podle kritérií α — δ byla vytvořena tab. IV s následným vyhodnocením vhodnosti jednotlivých způsobů ošetření: 1. C II, 2.—B II, 3.—M II, 4.—A II, 5.—N II, 6.—C I, 7.—B I, 8.—A I, 9.—M I, 10.—N I. V obou teplotách uložení vzorků dosáhl nejlepších výsledků dvojchroman draselný, což je v souladu s předcházejícími výsledky (Hanus aj., 1992a, b).

IV. Seřazení podle vhodnosti použití jednotlivých způsobů ošetření vzorků mléka (tj. konzervace a teploty uložení) uvnitř jednotlivých kritérií (α až δ) a celkem pro určení počtu somatických buněk metodou Fossomatic — The order of the suitability of the use of particular methods of milk sample treatment (i. e. treatment with a preservative and storage temperature) within particular criteria (α to δ) and total suitability after the determination of somatic cell counts by the Fossomatic method

Teplota ¹ Konzervace ² Kritérium ³	I					II				
	N	A	B	C	M	N	A	B	C	M
α	6	4	3	3	5	3	2	1	1	1
β	7	5	4	3	6	1	2	1	1	1
γ	3	1	1	1	2	1	1	1	1	1
δ	10	9	8	5	7	6	4	2	1	3
Celkem ⁴	10	8	7	6	9	5	4	2	1	3

Teploty uložení vzorků: I = 20 °C, II = 4 °C; α = % diferencí $> \pm 24$ od referenční hodnoty (v tab. III = a); β = % statisticky významných diferencí od referenční hodnoty (v tab. III = b, c); γ = seřazeno podle počtu dní do sražení vzorků; δ = seřazení od nejnižší do nejvyšší variability v tab. III ($\bar{x} \pm s_x$); kritéria α , β , γ , δ — vše hodnoceno do 11. dne uložení — The temperatures of sample storage: I = 20 °C, II = 4 °C; α = percent of the differences $> \pm 24$ from the reference value (in Tab. III = a); β = percent of statistically significant differences from the reference value (in Tab. III = b, c); γ = arranged by the number of days till sample coagulation; δ = arranged from the lower to the higher variability in Tab. III ($\bar{x} \pm s_x$); criteria α , β , γ , δ — all is evaluated from day 11 of the storage

¹temperature, ²treatment, ³criterion, ⁴total

ZÁVĚR

Milkofix dosáhl delších dob použitelných pro získání spolehlivých výsledků v počtu SB metodou Fossomatic než vzorky nekonzervované, ale kratších než vzorky konzervované tradičními konzervovadly. Vzhledem k tomu, že jako nejlepší se jevil dvojchroman draselný, lze doporučit, aby

i při jeho náhradě v rutinních analýzách méně škodlivými preparáty byl přednostně v malém rozsahu podržen pro přípravu kontrolních (pilotních) vzorků pro účely stanovení počtu somatických buněk na přístroji Fossomatic. Na základě předcházejícího testování (HANUŠ aj., 1992a, b) lze stejné doporučení učinit i pro určení základního složení mléka metodou infračervené spektrofotometrie.

Literatura

- ARDŮ, Y.: Bronopol as a preservative in milk samples for the determination of cell content using Fossomatic. *Milchwissenschaft* 37, 1982, s. 139–142.
- BERGMANN, J.: Zellzahlbestimmung für jede Kuh hilft Kosten sparen. Aus den Arbeiten des Landeskontrollverbandes Schleswig-Holstein e. V., 31, 1988, s. 27–45.
- CSN 57 0529 Syrové kravské mléko. 1979.
- GRAPPIN, R.: Definition and evaluation of the overall accuracy of indirect methods of milk analysis — Application to calibration procedure and quality control in dairy laboratory. IDF Provisional Standard 128, 1985, Bull. IDF 208, s. 3–12.
- GRAPPIN, R. — JEUNET, R.: Premiers essais de l'appareil „Fossomatic“ pour la détermination automatique du nombre de cellules du lait. *Le lait*, 54, 1974, s. 539–540, s. 627–644.
- GRAPPIN, R. — JEUNET, R.: Conditions d'utilisation des méthodes automatiques de dénombrement des cellules du lait: étalonnage et conservation des échantillons de lait. *Le lait*, 55, 1975, s. 549–550, s. 650–668.
- HANUŠ, O. — BENDA, P. — GENČUROVÁ, V.: Testování nového konzervačního přípravku vzorků mléka Milkofix pro účely infračervené analýzy základního složení mléka. I. Ověření bakteriostatických a baktericidních vlastností a interferenčního vlivu. *Veter. Med. (Praha)*, 37, 1992, s. 21–31.
- 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. *Veter. Med. (Praha)*, 37, 1992, s. 33–34.
- KROGER, M.: Milk sample preservation. *J. Dairy Sci.*, 68, 1985, s. 783–787.
- MILCHPRÜFUNG BAYERN e. V., Tätigkeitsbericht, 1988. Firemní literatura.
- MILLER, R. H. — PAAPE, M. J. — ACTON, J. C.: Comparison of milk somatic cell counts by Coulter and Fossomatic counters. *J. Dairy Sci.*, 69, 1986, s. 1942–1946.
- ON 57 0532 Stanovení počtu somatických buněk v mléce. 1982.
- PSL — Microtabs — Milk Preservative Tablets. Technical Bulletin, January 1987. Nottingham — England. San Francisco — USA. Firemní literatura.
- RENEAU, J. K.: Effective use of dairy herd improvement somatic cell counts in mastitis control. *J. Dairy Sci.*, 69, 1986, s. 1708–1720.
- RYŠÁNEK, D. — NYTRA, J.: Konfrontace výsledků stanovení počtu somatických buněk přístroji Coulter, Fossomatic a přímou mikroskopickou metodou. *Veter. Med. (Praha)*, 33, 1988, s. 393–399.
- RYŠÁNEK, D. — NYTRA, J.: Výsledky stanovení počtu somatických buněk přístroji Coulter, Fossomatic a přímou mikroskopickou metodou. In: Sbor. Ref. Problematika prvovýroby mléka XII. Pardubice 1987, s. 58–66.
- TRŽICKÝ, V.: Milkofix Forte. Osobní sdělení, 1990.

Došlo dne 20. 3. 1991

HANUŠ, O. — GENČUROVÁ, V. — GABRIEL, B. — ŽVÁČKOVÁ, I. (Research Institute for Cattle Breeding, Rapotín): *A comparison of the efficiency of a Milkofix preservative substance with traditional preservatives used to determine somatic cell counts in milk samples by a fluoro-opto-electronic method*. *Veter. Med. (Praha)*, 37, 1992 (2): 91–99.

Milkofix (M), a health friendly preservative substance, to be used for milk sample preservation (Tržický, 1990), was compared with other preservatives. Untreated milk samples (N) were tested against samples treated with sodium azide (A; 0.0085 g NaN₃ and 0.0630 g NaCl), bronopol (B; 0.0100 g bronopol and 0.090 g NaCl), potassium dichromate (C; 0.0330 g K₂Cr₂O₇ and 0.0670 g KCl) and Milkofix (M; 0.1250 g). The doses of the preservatives A, B, C and M are per 25 ml milk. The somatic cell counts (SB) were determined on a FOSSOMATIC 90 apparatus (FOSS ELECTRIC, DENMARK).

In the treated milk samples taken from individual cows the values of SB counts were significantly higher than in N samples if determined within eight hours after sampling (Tab. I): in A higher by 18.6 %, B by 26.3 %, C by 26.4 % and M by 24.3 % ($P < 0.05$). The significantly higher values of SB counts were recorded in bulk milk samples treated with preservatives in comparison with N samples immediately after sampling: in A by 6.0 %, in B, C and M by 12.9 % ($P < 0.01$; Tab. II). After one-day storage of N samples at a temperature of 4 °C these differences are insignificant ($P > 0.05$), thus the results of N, A, B, C and M samples obtained after one-day storage at 4 °C can be taken as actual and mutually comparable. The effects of preservative concentrations on the results of SB counts were not observed at all because the values of samples treated with different concentrations of preservatives differed insignificantly ($P > 0.05$) from N samples (Fig. 1). The following times of storage can be taken as convenient for the described method of treatment (Tab. III) treatment with a certain kind of preservative and temperature; I = 20 °C, II = 4 °C: N I — 1 day; A I — 3 days; B I — 7 days; M I — 3 days; N II — 9 days; A II — 15 days; B II — 17 days; C II — 17 days; M II — 17 days. This storage time can probably be even longer for B II, C II and M II. The storage times for Milkofix can be longer in N samples, but mostly shorter than in the treatment with the other preservatives. The following order of the suitability of sample treatment methods was evaluated according to the given criteria (Tab. IV): 1. C II, 2. B II, 3. M II, 4. A II, 5. N II, 6. C I, 7. B I, 8. A I, 9. M I and 10. N I. The best results were obtained in C treatment for both temperatures of storage, therefore potassium dichromate can be recommended, even if it is replaced by a less harmful preservative in routine analyses, for the preparation of control (pilot) samples for Fossomatic.

milk samples; preservation; somatic cell counts; Fossomatic; sodium azide; bronopol; potassium dichromate; Milkofix

Adresa autorů:

Ing. Oto Hanuš, ing. Václava Genčurová, Břetislav Gabriel, Iveta Žváčková, Výzkumný ústav pro chov skotu, k. ú. o., Rapotín, 788 13 Šumperk 4

Upozorňujeme čtenáře, že v čísle 3/92 časopisu

VETERINÁRNÍ MEDICÍNA

mají být uveřejněny tyto příspěvky:

Vinkler A., Dvořák R., Zendulka I., Kudláč E.: Ovariální odpověď a koncepční schopnost krav při acidóze vyvolané kyselinou octovou

Laurinčík J., Oberfranc M., Pivko J., Grafenau P., Kubovičová E.: Charakteristika cumulus-oocytárných komplexů superovulovaných jalovic v preovulačním období

Hanuš O., Genčurová V., Gabriel B.: Vliv stárnutí vzorků na přesnost infračervené analýzy základního složení mléka

Neuschl J., Kačmár P., Legáth J., Tomáš J.: Vplyv československého vývojového herbicidu bentazón na niektoré ukazovatele zdravotného stavu oviec v podmienkach subchronickej intoxikácie

Guryčová D., Kopčok M.: Sledovanie premorenia bratislavských psov *Francisella tularensis*

Kocianová E., Lisák V., Kopčok M.: Premorenie psov s *Coxiella burnetii* a *Chlamydia psittaci*

Bakoss P., Jareková J., Kmety E., Kopčok M.: Premorenie psov na Slovensku leptosférami

HLADINY KATECHOLAMÍNŮV V KRVNEJ PLAZME OVIEC V ESTRICKOM OBDOBÍ POČAS SUPEROVULÁCIE

B. Pástorová, J. Várady

PÁSTOROVÁ, B. — VÁRADY, J. (Vysoká škola veterinárska, Košice): *Hladiny katecholamínov v krvnej plazme oviec v estrickom období počas superovulácie*. Veter. Med. (Praha), 37, 1992 (2): 101–107.

Študovali sme účinok superovulačného prípravku Sérového gonadotropínu (SG) na zmeny hladín katecholamínov (norepinefrínu, epinefrínu a dopamínu) v krvnej plazme oviec so synchronizovaným estrom. V pokuse sme spracovali na stanovenie katecholamínov krvnú plazmu jedenástich oviec plemena slovenské merino v estrickom období. Superovuláciu sme navodili *l. m.* podaním 1500 IU SG ihneď po skončení synchronizácie estru Agelínovými hubkami (10. deň pokusu). Katecholamíny sme stanovili v krvnej plazme oviec pred synchronizáciou, v deň vloženia Agelínových hubiek, 48 a 72 h po podaní hormónu — v dňoch predpokladanej ovulácie. Koncentrácie katecholamínov v krvnej plazme sme stanovili rádioenzymaticky za použitia testu CATECHOLA (ÚVVVR, Praha). Z dosiahnutých výsledkov vyplýva, že synchronizácia a hormonálna stimulácia ovplyvňujú hladiny plazmatických katecholamínov. 48 h po podaní SG sme zaznamenali signifikantný vzostup hladín norepinefrínu a dopamínu v krvnej plazme oviec ($P < 0,001$). Po ďalších 24 h ostali koncentrácie norepinefrínu signifikantne zvýšené ($P < 0,01$) a hladiny dopamínu sa neodlišovali od hladín plazmatického kontrolného odberu. Epinefrín po uvedených zásahoch vykazoval odlišný priebeh zmien. Najvýraznejší vzostup jeho hladín ($P < 0,01$) sme zaznamenali v deň zahájenia synchronizácie chlórsuperlutínom. Počas ovulácie v porovnaní s kontrolným odberom sme nepozorovali signifikantné zmeny. Domnievame sa, že pozorovaný vzostup plazmatického epinefrínu súvisí s nešpecifickou stresovou reakciou na manipuláciu a vkladanie Agelínových hubiek.

ovce; katecholamíny; norepinefrín; epinefrín; dopamín; krvná plazma; sérový gonadotropín; superovulácia

Stanovenie katecholamínov v krvnej plazme poskytuje základné informácie o fyziológii adrenergného nervového systému. Plazmatický norepinefrín pochádza z uvoľňovania z presynaptických ukončení vaskulárnych neurónov synaptického systému. Epinefrín a norepinefrín je vylučovaný do krvného obehu z drene nadobličiek. Niektorí autori (Miyake a i., 1987) zistili po podaní estrogénov zmeny katecholamínov a beta-endorfínov v krvnej plazme žien. Iní autori, ktorí študovali (Rauscha i., 1989) hladiny katecholamínov počas normálnych menštruačných cyklov žien zistili zmeny norepinefrínu v krvnej plazme žien najmä v období ovulácie.

Vzhľadom k tomu, že podanie sérového gonadotropínu (preparátu bežne používaného na navodenie superovulácie oviec) je spojené s hyperestrogenizáciou, podmienenou dlhodobým poločasom rozpadu SG v organizme, zamerali sme sa na štúdium účinku SG na koncentrácie katecholamínov v krvnej plazme oviec v priebehu synchronizácie a superovulácie.

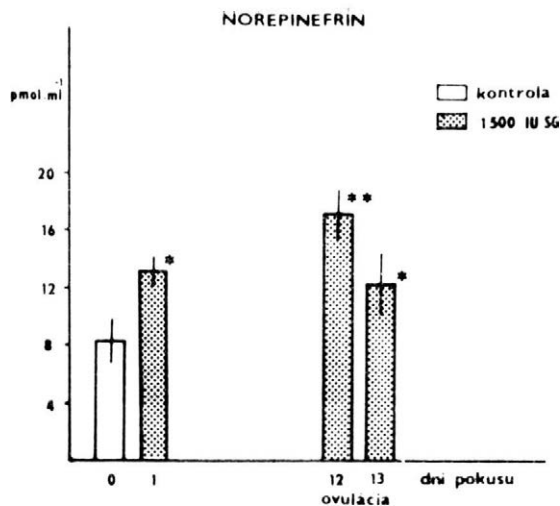
MATERIÁL A METÓDY

V pokuse sme použili 11 oviec plemena slovenské merino o priemernej ž. h. 41 kg vo veku 3–4 roky v estrickom období (september). Estrus oviec sme synchronizovali aplikáciou polyuretánových tampónov s obsahom 20 mg chlórsuperlutínu (Agelín, pošečné tampóny, Spofa). Po desiatich dňoch pôsobenia sme tampóny odstránili a každé zviera sme i. m. ošetrili podaním 1 500 IU SG (Sérový gonadotropín, Ivanovice na Hané). Zvieratá sme zabili vykrvením v časovom rozsahu 104 hodín od podania SG.

Koncentrácie katecholamínov sme stanovili v krvnej plazme oviec pred započatím synchronizácie estru (0. deň pokusu), v deň vloženia Agelínových hubiek (prvý deň pokusu), 48 a 72 hodín po aplikácii sérového gonadotropínu (12. a 13. deň pokusu). Odber krvi sme robili v tom istom časovom intervale (medzi 9.–10. hodinou dopoludnia). Do skúmaviek sme napipetovali antikoagulačné a antioxidantné činidlo (glutathion c = 0,05 mol. l⁻¹, 20 µl. ml⁻¹ krvi) a skúmavky sme centrifugovali pri teplote 4 °C 2 000 g po dobu 20 minút. Číru, nehemolytickú plazmu sme krátkodobe skladovali pri teplote -20 °C do ďalšieho spracovania. Katecholové amíny sme stanovili rádioenzymaticky za pomoci testu CATECHOLA (ÚVVVR, Praha). Donorom metylovej skupiny je v stanovení katecholamínov S-(adenosyl-L-)metyl-³H]-metionin a katalyzátorom enzymatickej reakcie enzým katechol-o-metyl-transferáza (COMT). Produkty reakcie o-metyl deriváty katecholamínov sme oddelili v nadbytku substrátu tenkovrstevnou chromatografiou na Silufolových UV 254 doskách. Po elúcii o-metyl derivátov z pevnej fázy sa metanefrín a normetanefrín oxidujú na vanilín, ktorý sa extrahuje do scintilačného roztoku SLT 41. Metoxytyramín (derivát dopamínu) sa extrahuje priamo do použitého kvapalného scintilátora. Rádioaktivitu derivátov katecholamínov sme merali na scintilačnom spektrometri Packard Tri Carb v ³H kanáli. Hladiny katecholamínov v krvnej plazme uvádzame v pmol. ml⁻¹ krvnej plazmy, v aritmetických priemeroch ± S. E. M. a štatisticky sú spracované Studentovým t-testom.

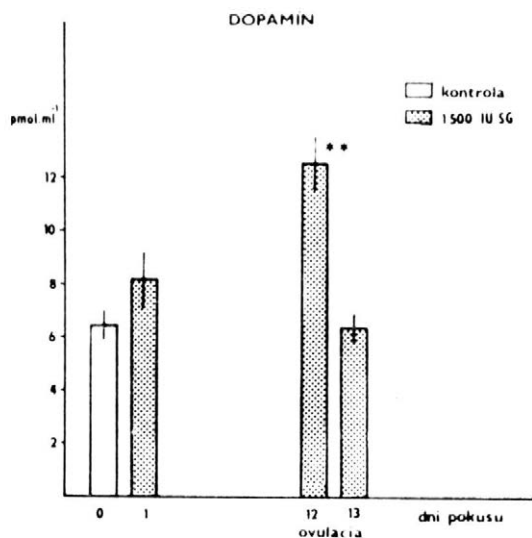
VÝSLEDKY

Koncentrácia norepinefrínu (NE) dosahuje v krvnej plazme kontrolného odberu (0. deň pokusu) hodnotu $8,31 \pm 0,732$ pmol. ml⁻¹. Prvý deň pokusu (po zahájení synchronizácie) sme zaznamenali vzostup NE na $13,12 \pm 0,120$ pmol. ml⁻¹ (obr. 1). V deň predpokladanej ovulácie (12. deň pokusu) sme zaznamenali signifikantný vzostup hladín plazmatického norepinefrínu ($P < 0,001$) na $17,12 \pm 1,289$ pmol. ml⁻¹. Po ďalších 24 hodinách klesli hodnoty hladiny NE na $12,89 \pm 1,020$ pmol. ml⁻¹. Hladina dopamínu (DA) v plazme kontrolného odberu (0. deň pokusu) je $6,42 \pm 0,350$ pmol. ml⁻¹. V odbere 1. deň pokusu sme zaznamenali vzostup dopamínu v krvnej plazme oviec na $8,17 \pm 0,350$ pmol. ml⁻¹ (obr. 2). Štyridsaťosem hodín po aplikácii SG vystúpila hladina DA na $12,53 \pm 1,021$ pmol. ml⁻¹ ($P < 0,001$) a v 13. dni experimentu sa znížila koncentrácia DA na hodnotu $6,32 \pm 0,480$ pmol. ml⁻¹. Epinefrín (obr. 3) v krvnej plazme oviec po uvedených zásahoch vykazuje odlišné zmeny. V kontrolnom odbere sa nachádza epinefrín v koncentráciách $13,53 \pm 1,082$ pmol. ml⁻¹. Po aplikácii Agelínových hubiek vystúpila hladina epinefrínu (E) na $24,01 \pm 1,328$ pmol. ml⁻¹ ($P < 0,01$). Počas ovulácie sa v porovnaní s kontrolným odberom hladiny E v krvnej plazme oviec nemenia, alebo nesignifikantne klesajú (obr. 3).



1. Vplyv synchronizácie estru a hormonálnej stimulácie sérovým gonadotropínom na hladinu plazmatického norepinefrínu kontrolného odberu (0. skupina), prvý deň pokusu (po zavedení intravaginálnych Agelínových hubiek) a 48 a 72 hodín po aplikácii SG. Výsledky sú vyjadrené $\text{pmol} \cdot \text{ml}^{-1}$ krvnej plazmy, v aritmetických priemeroch $\pm$ S. E. M. — The effects of oestrus synchronisation and serum gonadotropin hormonal stimulation on the levels of plasma norepinephrin of the control samples (group 0), on day 1 of the trial (after the application of Agelin vaginal tampons) in 48 and 72 hours after SG administration. The results are given in pmol/ml of blood plasma, as arithmetical means $\pm$ S. E. M.

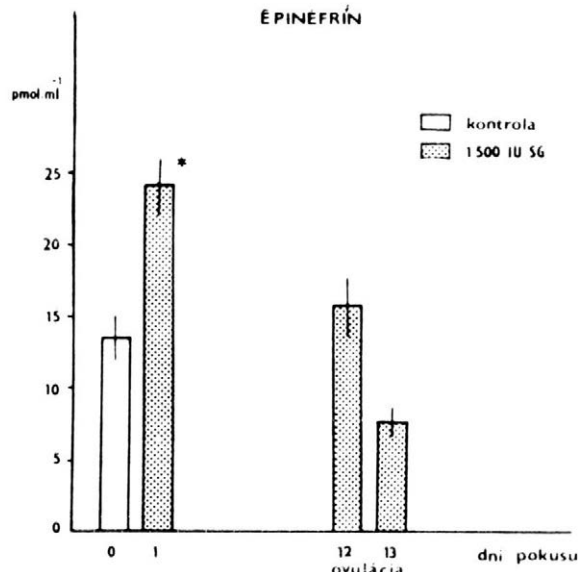
2. Vplyv synchronizácie a hormonálnej stimulácie SG v dávke 1500 IU na hladinu dopamínu v krvnej plazme oviec, po synchronizácii a v dňoch predpokladanej ovulácie — The effects of synchronisation and SG hormonal stimulation at a dose of 1500 IU on dopamine levels in the blood plasma of ewes, after synchronisation and on the days of expected ovulation



Vysvětlivky pro obr. 1—3 — Explanatory notes to Figs. 1—3:

osa x — dni pokusu; prázdne stĺpce — kontrola; šrafované stĺpce — 1500 IU SG; * — $P < 0,01$; ** — $P < 0,001$ — x-axis — days of the trial; open columns — control; hatched column 1500 IU SG; * — $P < 0,01$; ** — $P < 0,001$
ovulácia — ovulation

EPINEFRÍN



3. Vplyv synchronizácie a hormonálnej stimulácie na hladiny epinefrínu v krvnej plazme oviec po synchronizácii a v dňoch predpokladanej ovulácie po podaní 1500 IU SG — The effects of synchronisation and hormonal stimulation on epinephrine levels in the blood plasma of ewes after synchronisation and on the days of expected ovulation after the administration of 1500 IU SG

DISKUSIA

Katecholové amíny prítomné v krvi sa podieľajú na regulácii viacerých fyziologických mechanizmov a súčasne odrážajú dočasné (fyzický a psychický stres, pôsobenie farmaceutických preparátov), alebo trvalé zmeny (nádorové ochorenia, hypertenziu) a aktivitu sympaticko-adrenálneho systému. Epinefrín je vylučovaný do krvi z drene nadobličiek a pôsobí ako hormón, čiastočne je aj norepinefrín sekretovaný nadobličkami, ale jeho hlavným zdrojom pôvodu v krvi sú postgangliové sympatické nervové zakončenia, na ktorých pôsobí ako neuromediátor. Vzhľadom k tomu, že hematoencefalická bariéra je nepriepustná pre katecholamíny obehového systému, len pre ich prekursor, sú katecholamíny mozgu priamo syntetizované v nervovom tkanive. Plazmatická hladina katecholamínov preto odráža aktivitu periférneho adrenergného nervového systému. Na základe súčasných poznatkov sa predpokladá, že existuje vzťah medzi hladinami katecholamínov v ováriách a maternici (Fernandez-Pardal a i., 1986) a hormonálnym stavom organizmu. Norepinefrín je dominantným transmitterom v ováriách pri tvorbe žltého telieska. Boli zistené cyklické zmeny hladín NE počas estrálnych cyklov zvierat (Ben-Jonathan a i., 1982). V ováriách dochádza k syntéze norepinefrínu, čo značne závisí od aktivity tyrozín-beta-hydroxylázy, ktorá predstavuje limitujúci faktor v biosyntéze katecholamínov. Na druhej strane je pravdepodobné, že ovária a maternica vychytávajú potrebné množstvá katecholamínov aj z krvnej plazmy (Arbogadt a i., 1987). Extrahypofyzárny hormón SG, ktorý vykazuje LH a FSH aktivitu má dlhý poločas biologického rozpadu v organizme a jeho podanie je spojené s hyperestrogenizáciou (Moor a i., 1985). Vysoké hladiny estrogénov špecificky

pôsobia na adrenergické receptory a ovplyvňujú hladiny a funkciu katecholamínov. Tobias a i. (1983) zistili po podaní estrogénov ovariektomovaným potkanom zníženie obratu norepinefrínu v hypotalamických jadrách a následný pokles LH v krvnej plazme. Saavedra a i. (1984) pozorovali po podaní 17-beta-estradiolu potkanom zmeny rovnovážnych hladín katecholamínov v hypofýze a vzostup turnoveru dopamínu, najmä v oblasti pars intermedia hypofýzy. V našich predchádzajúcich prácach (Pástorová a i., 1988, 1989) sme zistili výrazný vplyv superovulačných prípravkov na koncentrácie katecholamínov v hypotalame a hypofýze oviec najmä v oblasti *area preoptica* a *eminentia medialis*. Pomerne málo je údajov v dostupnej literatúre o vplyve hyperestrogenizácie na hladiny katecholamínov v krvnej plazme (Miyake a i., 1987). V našom experimente sme zistili vplyv hormonálneho prípravku SG na vzostup koncentrácie plazmatického norepinefrínu a dopamínu ($P < 0,001$) 48 hodín po podaní. Signifikantný vzostup ($P < 0,01$) hladín NE pretrvával počas ďalších 24 hodín, u dopamínu sme zaznamenali návrat na pôvodné hladiny. Epinefrín vykazoval štatisticky významné zmeny hladín v krvnej plazme ($P < 0,05$), najmä po manipulácii a vkladaní synchronizačného prípravku, čo pravdepodobne súvisí s nešpecifickou stresovou reakciou, ktorá môže spôsobovať vzostup bazálnych hladín plazmatického epinefrínu. Predpokladáme, že pozorovaný vzostup hladín DA a NE v krvnej plazme oviec môže súvisieť s hyperestrogenizáciou po podaní sérového gonadotropínu. Tento predpoklad by mohli potvrdiť i zistenia autorov Miyake a i. (1987), ktorí zaznamenali po priamej aplikácii konjugovaných estrogénov zmeny katecholamínov v krvnej plazme žien. Súčasne pozorovali i počiatkové zníženie LH a FSH a následný výrazný vzostup LH v krvnej plazme. Superovulačná odpoveď na podanie SG v našom experimente bola $5,33 \pm 3,4$ oproti nestimulovaným synchronizovaným kontrolným ovuláciám $1,2 \pm 0,74$ na jednu ovcu (Arendarčík a i., 1990). Je pravdepodobné, že zmeny katecholamínov v krvnej plazme oviec po synchronizácii a superovulácii v našom experimente môžu súvisieť i s poznatkami, že počas ovulácie a menštruačného cyklu hladiny katecholamínov a β -endorfínov v periférnej plazme (Laatikainen a i., 1985), v portálnej plazme (Ben-Jonathan a i., 1982) aj v mozgu varíujú. Vzostup hladín norepinefrínu a dopamínu počas ovulácie a menštruačného cyklu zaznamenali i (Chin a i., 1987). Podobne boli zaznamenané zmeny plazmatických katecholamínov v gravidite žien aj zvierat (Palmer a i., 1984; Laughlin a i., 1989), ktoré súvisia s prenikom katecholamínov z krvného obehu do placenty. Vzostup hladín norepinefrínu po podaní estradiolbenzoátu a sérového gonadotropínu pozorovali v nadobličkách, maternici, ováriách a oviduktoch viacerí autori (Fernandez-Ruiz a i., 1987; Ben-Jonathan a i., 1982).

Domnievame sa, že naše poznatky prispievajú k poznaniu účinku hormonálnych preparátov používaných na navodenie superovulácie hospodárskych zvierat na aktivitu periférneho adrenergického systému, ktorého odrazom je i hladina katecholamínov v krvnej plazme oviec.

Literatúra

ARENDAŘÍK, J. — MOLNÁROVÁ, M. — STANÍKOVÁ, A. — PÁSTOROVÁ, B.: Hormonálne spektrum v krvi a hypotalamohypofýzový systém bahníc. [Záverečná správa.] Košice, Vysoká škola veterinárska 1990. 306 s.

- ARBOGADT, L. A. — GARIS, P. A. — RUDAVES, N. — BEN-JONATHAN, N.: Changes in ovarian norepinephrine synthesis in the follicular and luteal phases. *Biol. Reprod.*, 36, 1987, s. 899—906.
- BEN-JONATHAN, N. — BRAX, R. H. — REICH, L. R.: Norepinephrine in Graafian follicles is depleted by follicle-stimulating hormone. *Endocrinology*, 110, 1982, s. 457—461.
- CHIN, N. W. — CHANG, F. E. — DOODS, W. G. — KIM, M. H. — MALARKEY, W. B.: Acute effect of exercise on plasma catecholamines in sedentary and athletic women with normal and abnormal menses. *Amer. J. Obst. Gynecol.*, 157, 1987, s. 938—944.
- FERNANDEZ-RUIZ, J. J. — BUCHLAN, A. R. — MARTINEZ-ARRIETA, J. A. F. — TRE-SQUERRES, J. A. — RAMUS, J.: Effects of estrogens and progesterone on the catecholaminergic activity in adrenal medulla. *Life Sci.*, 42, 1987, s. 1019—1028.
- FERNANDEZ-PARDAL, J. — RIMERA, W. P. — GIMERA, A. L.: Catecholamines in sow graafian follicles at proestrus and at diestrus. *Biol. Reprod.*, 34, 1986, s. 439—445.
- LAATIKAINEN, T. J. — RÄISÄNEN, A. — TULENHEIMO, A. — SALMINEN, K. R.: Plasma — endorphin and the menstrual cycle. *Fertil. Steril.*, 44, 1985, s. 206—209.
- LAUGHLIN, M. K. — KEVE, T. M. — COOKE, R.: Vascular catecholamine sensitivity during pregnancy in the ewe. *Amer. Obst. Gynecol.*, 160, 1989, s. 47—53.
- MIYAKE, A. — NISHIZAKI, T. — OTSUKA, S. — YOSHIMOTO, Y. — AONO, T. — TANIZAWA, A.: Absence of effects of estrogens on dopamine, norepinephrine and beta-endorphin — like immunoreactivity in human plasma. *Endocrinol. Jap.*, 34, 1987, s. 789 to 792.
- MOOR, R. M. — OSBORN, J. C. — CROSBY, J. M.: Gonadotropin induced abnormalities in sheep oocytes after superovulation. *J. Reprod. Fertil.*, 74, 1985, s. 167—172.
- PALMER, S. M. — GARY, K. — ROBERT, W. — LAM, B. A. — THOMAS, H. — CALVIN, J. — KOBEL, J. — DELBERT, A. — FISHER, A.: Catecholamine physiology in the ovine fetus. I. Gestational age variation in basal plasma concentration. *Amer. J. Obst. Gynecol.*, 149, 1984, s. 420—426.
- PÁSTOROVÁ, B. — STANÍKOVÁ, A.: Biochemical and histological changes in the hypothalamus of sheep after hormone stimulation. In: *Endocrinology of farm animals. Proc. II. Int. Symp. of farm animals. Endocrinology, Smolenice, Czechoslovakia, March 1989*, s. 123—128.
- PÁSTOROVÁ, B. — ARENDARČÍK, J. — MOLNÁROVÁ, M. — STANÍKOVÁ, A.: Hladiny katecholaminov v hypotalame oviec v estrickom období po hormonálnej stimulácii PMSG v kombinácii s vitamínom A. *Veter. Med.*, (Praha), 33, 1988, s. 281—286.
- RAUSCH, W. D. — HOFER, A. — GEMINER, M. — MÖSTL, E.: Catecholamin — und Cortisolkonzentrationen im Plasma von Rindern um die Geburt. *J. veter. Med.*, A., 36, 1989, s. 218—224.
- SAAVEDRA, J. M. — CHEVILLARD, C. — BISSERBE, J. C. — BARDEN, N.: Estradiol increases dopamine turnover in intermediate lobe and posterior pituitary lobes ovariectomized rats. *Cell. Mol. Neurobiol.*, 4, 1984, s. 397—402.
- TOBIAS, H. — LAWRENCE, A. — CARR, A. — VOGHT, J.: Catecholamine metabolism in the feedback effect of oestradiol benzoate on the release LH and Prolactin. *Proc. Soc. exp. Biol. Med.*, 174, 1983, s. 284—289.

Došlo dňa 2. 5. 1991

PÁSTOROVÁ, B. — VÁRADY, J. (University of Veterinary Medicine, Košice): *Catecholamine levels in the blood plasma of ewes in the oestrus period during superovulation*. *Veter. Med. (Praha)*, 37, 1992 (2): 101—107.

The effects of a serum gonadotropin (SG) superovulation hormonal preparation were investigated on catecholamine levels (norepinephrine, dopamine and epinephrine) in the blood plasma of ewes with synchronized oestrus in the oestrus period. In this trial the blood plasma of eleven ewes of the Slovak Merino breed was analyzed to detect catecholamines in the oestrus period. Superovulation was induced by an *i.m.* administration of 1500 IU SG as soon as oestrus synchronization with Agelin vaginal tampons finished (20 mg chlorsuperlutin) which lasted for 10 days. Catecholamines were detected in the blood plasma before synchronization, on the day of Agelin vaginal tampons application, and in 48 and 72 hours after the hormone administration — on the days of the expected ovulation. Catecholamine concentrations in the blood plasma were determined by a radioenzymatic assay using a Catechola test (Praha). The results indicate that synchronization and hormonal stimulation influence plasma catecholamine levels. The norepinephrine (NE) concentration in the blood plasma of the

control samples has the value of 8.31 ± 0.732 pmol/ml. An insignificant increase in the NE levels (13.12 ± 0.120 pmol/ml; Fig. 1) was recorded on day 1 of the trial, after the start of synchronization. On the day of the expected ovulation the NE concentrations rose to 17.12 ± 1.289 pmol/ml ($P < 0.001$) and they remained significantly increased ($P < 0.01$) at the level of 12.89 ± 1.020 pmol/ml on the following day of the experiment. The dopamine level (DA) in the plasma of a control sample is 6.42 ± 0.350 pmol/ml (Fig. 2). In the samples taken on day 1 of the experiment a significant increase to 8.17 ± 0.350 pmol/ml was recorded. The DA level increased to 12.53 ± 1.021 pmol/ml ($P < 0.001$) in 48 hours after SG administration and it decreased to the control values (6.32 ± 0.480 pmol/ml) on the following day. The changes in epinephrine (E) levels were somewhat different (Fig. 3). The E control level is 13.53 ± 1.082 pmol/ml. The E level increased to 24.01 ± 1.328 ($P < 0.01$) after the application of Agelin vaginal tampons. In comparison with the control samples, the E levels in the blood plasma of ewes did not vary during ovulation, or they were insignificantly decreasing (Fig. 3). It can be assumed that the observed changes in the plasma NE and DA levels are related to hyperoestrogenisation after SG administration, and also to the fact that during ovulation and the investigated oestrus cycle there are changes in the plasma catecholamine levels. The results of our trials also show that oestrus synchronisation and super-ovulation hormonal preparation administration also induce the changes in plasma NE and DA levels during the controlled ovulation of ewes. The observed E increase in the blood plasma is likely to be related to the nonspecific stress reaction of ewes to the manipulation and application of Agelin vaginal tampons.

Adresa autorov:

RNDr. Bernádetta Pástorová, CSc., prof. MVDr. Jozef Várady, DrSc., Vysoká škola veterinárská, Komenského 73, 041 81 Košice

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

NAUČNÝ SLOVNÍK ZEMĚĚLSKÝ

13. díl (písmeno Z)

Publikace je posledním dílem zemědělské encyklopedie, vyjde v rozsahu asi 700 stran, předpokládaná cena je 190 Kčs.

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

V. Svobodová, M. Nevole

SVOBODOVÁ, V. — NEVOLE, M. [Vysoká škola veterinární, Brno]: *Diagnostika sarkocystózy ovcí metodami NFR a ELISA*. Veter. Med. [Praha], 37, 1992 (2): 109—112.

Prostřednictvím nepřímé fluorescenční reakce (NFR) a metodou ELISA jsme v průběhu dvou let vyšetřili 275 ovcí. Pomocí NFR jsme zjistili 76,7 % pozitivních zvířat (titry 40 a vyšší). Metodou ELISA jsme prokázali 83,6 % pozitivních reagentů (titry 80 a vyšší). ELISA byla vysoce specifická a citlivější než NFR. Obou metod lze s úspěchem využít pro intravitální diagnostiku sarkocystózy ovcí.

ovce; sarkocystóza; protilátky; nepřímá fluorescenční reakce; ELISA

Sarkocystóza ovcí je parazitóza vyskytující se po celém území ČSFR. Přímými metodami ji diagnostikovali Černá a Merhautová (1981), Gut (1982) a Nevole aj. (1990) v rozmezí od 63,1 do 92 %. Tato skutečnost si vyžaduje zdokonalení a rozšíření diagnostických metod. K dosud nejčastěji používaným patří metody přímého průkazu cyst ve svalovině (Nevole a Lukešová, 1981). Ze sérologických metod určujících hladinu protilátek se plně osvědčuje např. nepřímá imunofluorescenční reakce — NFR (Černá, 1985). V současné době jsou k diagnostice různých chorob, včetně parazitárních, stále častěji využívány metody ELISA. Pro detekci protilátek proti sarkocystóze ji s úspěchem využili např. O'Donoghue a Ford (1984). Tato metoda je řádově citlivější než NFR, přičemž shoda obou reakcí je statisticky významná (Svobodová, 1989). V naší práci jsme pro diagnostiku sarkocystózy použili osvědčenou sérologickou metodu NFR a srovnali s nově vyvinutou metodou ELISA.

MATERIÁL A METODY

V letech 1989—1990 jsme oběma séroreakcemi vyšetřili 275 ovcí porážených na jatkách ve Strakonících.

Při aplikaci NFR jsme využívali korpuskulární antigenzoity *Sarcocystis gigantea* a antigamaglobulinový konjugát pro ovce RAS/FITC. Vyšetřovaná séra jsme ředili od titru 10 do 10 240 a reakci vyhodnocovali na fluorescenčním mikroskopu Jenalunar 30—60050 imerzí při zvětšení 630 $\times$.

ELISA metodu jsme použili formou vícevrstevného (sendvičového) testu titrace protilátek. Využívali jsme solubilní antigen určený k vazbě na pevnou fázi, připravený z makrocyst *S. gigantea*. Rozrušili jsme stěnu cysty preparační jehlou a cystozoity

uvolnili do pufovaného fyziologického roztoku (PFR). Cystozoity jsme promyli centrifugací a sediment rozředěný sterilní destilovanou vodou rozrušili pětinasobným rozmrazováním ve směsi ledu se solí. Následovala centrifugace 15 min při 300 g. Supernatant jsme znovu vyčistili ultracentrifugací po dobu 30 min při 30 000 g. Takto vzniklý solubilní antigen obsahoval v 1 ml 740 μg bílkoviny. Používali jsme glycerínový konjugát EIA RAS v koncentraci IgG 1,3 $\text{mg} \cdot \text{cm}^{-3}$ s molárním poměrem Px/IgG 1,44. Vyšetřovaná séra jsme ředili od titru 10 do 10 240. K detekci peroxidázové aktivity jsme použili kyselinu 5-aminosalicylovou. Na každé destičce byly kontrolní jamky:

- blank, tj. bez séra,
- s negativním sérem, tj. sérem jehňat před napitím mleziva,
- s pozitivním sérem, tj. sérem, které za použití NFR vykazovalo nejvyšší titr.

Ověřili jsme specifitu reakce vzhledem k protilátkám proti *Toxoplasma gondii*. Za pozitivní jsme považovali vzorky s hodnotami více jak dvakrát vyššími než u negativní kontroly.

K vlastnímu provedení ELISA testu byly použity roztoky vazebný, ředící, promývací a substrát (M a n ě a l, 1987). Postup:

- naplnění jamek mikrotitrační destičky 0,05 ml roztoku antigenu ve vazebném roztoku. Inkubace 18 h při teplotě 4 °C;
- propláchnutí promývacím roztokem (3 $\times$);
- naplnění jamek 0,05 ml testovaného séra ředěného v ředícím roztoku; pro kontrolu jsme dali jeden vzorek do dvou jamek; inkubace 90 min při teplotě 37 °C;
- propláchnutí promývacím roztokem (3 $\times$);
- aplikace 0,05 ml konjugátu ředěného ředícím roztokem; inkubace 90 min při teplotě 37 °C;
- propláchnutí promývacím roztokem (3 $\times$);
- vizualizace reakce pomocí 0,1 ml připraveného substrátu; inkubace 30–60 min při teplotě 37 °C;
- odečtení výsledků na fotometru Dynatech MR-700 při 490 nm.

Za hraniční titry positivity jsme považovali u NFR titr 40 a u metody ELISA titr 80, které byly doloženy přímými nálezy cyst (S v o b o d o v á, 1989).

VÝSLEDKY

Před vlastním vyšetřováním sér ovcí metodou ELISA bylo nutné provést boxovou titraci na zjištění optimálního ředění antigenů a konjugátu. Použili jsme kontrolní séra, u kterých jsme NFR zjistili nejvyšší titr protilátek, tj. 10 240. Jako nejvhodnější ředění antigenu se ukázalo 1 : 80, tzn. koncentrace bílkovin 9,2 $\mu\text{g} \cdot \text{ml}^{-1}$ a ředění konjugátu 1 : 200, tzn. 6,5 μg IgG $\cdot \text{ml}^{-1}$.

1. Porovnání výsledků NFR a ELISA — A comparison of the results of IFAT and ELISA

Výsledek reakce (titr) ¹	NFR ²		ELISA	
	počet	%	počet	%
40 — 160 (NFR) ²	114	41,6	—	—
80 — 160 (ELISA)	—	—	98	35,6
320 — 640	66	23,9	74	26,9
1 280 — 10 240	31	11,2	58	21,1
Celkem pozitivní ³	211	76,7	230	83,6
Celkem negativní ⁴	64	23,3	45	16,4
Vyšetřeno celkem ⁵	275	100,0	275	100,0

¹reaction result (titre), ²indirect fluorescent antibody test, ³total positive, ⁴total negative, ⁵total examined

Výsledky získané oběma reakcemi uvádíme v tab. I. Počet pozitivně reagujících zvířat prostřednictvím NFR byl 76,7 %, zatímco ELISA vykazovala pozitivitu v 83,6 %. V důsledku vyšší citlivosti reakce ELISA byl zachycen vyšší počet středních a vysokých titrů, který za použití metody ELISA činil 48 % a nepřímou imunofluorescenční reakcí 35,1 % z celku.

DISKUSE

Sérologické diagnostické metody se ve větší míře uplatňují v humánní medicíně. Zvláště reakce ELISA patří pro svoji vysokou specifitu a citlivost k moderním lékařským diagnostickým metodám. Pro diagnostiku toxoplazmózy ji použili v roce 1981 Nemec a Čatár a pro depistáž larvální toxokarózy Uhlíková a Hübner (1983). V našich podmínkách jsme tuto reakci, aplikovanou na detekci protilátek proti sarkocystóze ovcí, srovnávali s NFR, která je považována za spolehlivou metodu při diagnostice této parazitózy (Černá, 1985). Vyšetřili jsme skupinu 275 ovcí souběžně oběma metodami. ELISA test prokázal protilátky v titrech 80 a vyšších u 230 vzorků, tj. 83,6 % ovcí. Nepřímou fluorescenční reakcí byly protilátky v titrech 40 a vyšších detekovány u 211 vzorků, tj. 76,7 % zvířat. Vysoká citlivost metody ELISA s sebou nese i některé problémy projevující se náročností na precizní provedení reakce. Antigen získaný z makrocyst *S. gigantea* nedává zkříženou reakci s *T. gondii*. Jeho příprava je poměrně jednoduchá a antigen je specifický rodově. Pracovali s ním rovněž Boch aj. (1979) a Reiter aj., (1981). Použijeme-li substrát kyseliny 5-aminosalicylové, lze odečítat výsledky reakce i vizuálně. Laboratoř se základním vybavením může tuto metodu využívat, což u NFR není možné bez fluorescenčního mikroskopu.

Pro vyšetření živých zvířat považujeme za nejspolehlivější souběžné použití obou sérologických metod. Doporučujeme je zejména při podezření na klinickou formu sarkocystózy. Sarkocystóza se projevuje nespecifickými příznaky (horečka, úbytek hmotnosti, anémie, aborty) a v našich podmínkách nebyla dosud spolehlivě diagnostikována. Vzhledem k výskytu klinické sarkocystózy v jiných zemích (Munday, 1979; Ford, 1980; Dubey aj., 1986 a další) se dá její výskyt předpokládat také u nás. Bez zjištění dynamiky titru protilátek sérologickými metodami je však její diagnostika sporná a obtížná. Na obtížnost stanovení správné diagnózy upozorňuje také Černá (1989).

Literatura

- BOCH, J. — BIERSCHENEK, A. — ERBER, M. — WEILAND, G.: Sarcocystis- und Toxoplasma-infections in sheep of Bavaria. Berl. Münch. tierärztl. Wschr., 92, 1979, s. 137—141.
- ČERNÁ, Z.: Aktuální otázky výzkumu sarkosporidií užitkových zvířat. In: Ref. Symp. 40 let rozvoje československé parazitologie, České Budějovice, 26.—28. 6. 1985.
- ČERNÁ, Z.: K otázce diagnostiky sarkosporidií a jejich významu ve veterinární medicíně. Veterinářství, 39, 1989, s. 449—450.
- ČERNÁ, Z. — MERHAUTOVÁ, V.: Sarcocystis in cattle and sheep at Prague abattoir. Folia parasit. (Praha), 28, 1981, s. 125—129.
- DUBEY, J. P. — LEEK, R. G. — FAYER, R.: Prevalence, transmission, and pathogenicity of *S. gigantea* of sheep. J.A.V.M.A., 188, 1986, č. 2.
- FORD, G. E.: The significance of the sarcocystosis and sarcosporidiosis in domestic animals. Austral. Advanc. veter. Sci., 1980, s. 61—63.
- GUT, J.: Effectiveness of methods used for the detection of sarcosporidiosis in farm animals. Folia parasit. (Praha), 29, 1982, s. 289—295.

MANČAL, P.: Metody enzymové imunoanalýzy. 1. vyd. Praha, Ústav sér a očkovacích látek 1987, 83 s.

MUNDAY, B. L.: The effects of *S. ovis* on growth rate and hematocrit in lambs. *Veter. Parasitol.*, 5, 1979, s. 129–135.

NEMEC, R. — ČATĀR, G.: Metodické poznatky o enzymoimunoabsorbentovou (ELISA) metodu diagnostiky toxoplazmózy. *Bratisl. lek. listy*, 76, 1981, č. 2, s. 151–156.

NEVOLE, M. — LUKEŠOVÁ, D.: Metody přímé detekce sarkocyst a jejich diagnostická spolehlivost. *Veter. Med. (Praha)*, 26, 1981, s. 581–584.

NEVOLE, M. — LUKEŠOVÁ, D. — SVOBODOVÁ, V.: Diagnostika a metody prevence sarkocystózy hospodářských zvířat. [Závěrečná zpráva.] Vysoká škola veterinární, 1990. 29 s.

O'DONOGHUE, P. J. — FORD, G. E.: The asexual pre-cyst infected specific-pathogen-free lambs. *Int. J. Parasitol.*, 14, 1984, č. 4, s. 345–355.

REITER, J. — WEILAND, G. — ROSCHER, B. — MEYER, J. — FRAHM, K.: Studies on the serological diagnosis of experimentally induced bovine and ovine sarcocystosis. *Berl. Münch. tierärztl. Wschr.*, 94, 1981, s. 425–430. *Veter. Rec.*, 116, 1985, s. 373–374.

SVOBODOVÁ, V.: Sarkocystóza ovčí. [Kandidátská disertace.] Brno 1989, 123 s. — Vysoká škola veterinární.

UHLÍKOVÁ, M. — HÜBNER, J.: Larvální toxokaróza. 1. vyd. Praha, Avicenum 1983, 177 s.

Došlo dne 13. 3. 1991

SVOBODOVÁ, V. — NEVOLE, M. (University of Veterinary Medicine, Brno): *Diagnostics of ovine sarcocystosis by IFAT and ELISA*. *Veter. Med. (Praha)*, 37, 1992 (2): 109–112.

The indirect fluorescent antibody test (IFAT) was compared with the enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) for the detection of specific antibodies to *Sarcocystis* sp. A set of 275 ovine blood samples was examined by both reactions. Cystozoites of *Sarcocystis gigantea* were used as the corpuscular antigen for the IFAT. For the diagnostics of sarcocystosis by the ELISA technique used the sandwich test of the antibody titration with a soluble antigen which was also prepared from *S. gigantea* macrocysts. Our studies confirmed that this antigen did not cross-react with *Toxoplasma gondii*. Titre 40 was determined as the limit one for the IFAT and titre 80 for the ELISA; which was confirmed by the direct detection of cysts in the muscles (Svobodová, 1989). The results of both methods are shown in Table I. 76.7 % of the blood samples reacted positively in the IFAT and 83.6 % in the ELISA. These methods were found to be suitable and can be utilized for the intravital routine diagnostics.

sheep; antibodies; indirect fluorescent antibody test; ELISA

Adresa autorů:

MVDr. Vlasta Svobodová, CSc., doc. MVDr. Miloslav Nevoles, CSc., Vysoká škola veterinární, Palackého 1–3, 612 42 Brno

STÚDIUM HODNÔT UKAZOVATEĽOV METABOLICKÉHO PROFILU VO VEĽKOCHOVE KÔZ V PRIEBEHU ROČNÝCH OBDOBÍ

M. Krokavec, K. Šimo, A. Martinko, M. Krokavcová

KROKAVEC, M. — ŠIMO, K. — MARTINKO, A. — KROKAVCOVÁ, M. (Okresná veterinárna správa — veterinárna nemocnica, Spišská Nová Ves): *Štúdium hodnôt ukazovateľov metabolického profilu vo veľkochove kôz v priebehu ročných období*. Veter. Med. (Praha), 37, 1992 (2): 113—118.

V období od marca 1984 do apríla 1986 sme sledovali u 144 klinicky zdravých kôz v priebehu jednotlivých ročných období 35 biochemických ukazovateľov. Uvádzané priemerné hodnoty a smerodajné odchýlky sledovaných ukazovateľov metabolického profilu sme získali z vyšetrení počas celého sledovaného obdobia. Štúdiom hodnôt zisťovaných ukazovateľov vo veľkochove kôz v priebehu ročných období sme nezistili, okrem vitamínu A a beta-karoténu, jednoznačnú sezónnu závislosť u žiadneho zo sledovaných ukazovateľov. Pomerne široký rozptyl hodnôt výsledkov rôznych autorov poukazuje na ich značnú variabilitu, ktorú ovplyvňujú najmä rôzne životné podmienky, rozdielnosť metodík jednotlivých vyšetrení, výživa a miera exploatácie.

koza; metabolický profil; priemerné hodnoty; dynamika; ročné obdobia

Chov kôz v ČSFR má bohatú históriu a tradíciu a bol u nás kedysi veľmi rozšírený. Tak napríklad v roku 1920 sa na území ČSR chovalo okolo 1,3 mil. kôz. V povojnových rokoch sa však stavy prudko znížili a v roku 1982 bolo u nás už len 52 424 kusov kôz. Z toho na Slovensku len 8 178. Národohospodársky význam chovu kôz spočíva nielen v získavaní mlieka a mäsa od týchto zvierat, ale najmä v produkcii kozích a kozlácich koží, ktoré predstavujú nepostrádateľnú surovinu pre náš rukavičkársky priemysel.

Literárnych údajov o ukazovateľoch látkového metabolizmu kôz nachádzame v dostupnej literatúre pomerne málo. V chove kôz je potrebné venovať sa celej rade otázok, ako sú výživa, produkcia, reprodukcia a ďalšie okruhy problémov (V r z g u l a, 1986). Priemerne hodnoty acidobázických ukazovateľov u kôz uvádzajú K o m á r e k a i. (1976). T k á č a O r s á g (1974) sledovali u klinicky zdravých kôz vplyv halotanovej anestézy (Narkotan Spofa) bez operačného zákroku a s operačným zákrokom na aktivitu enzýmov GOT, GPT, SODH a AF. G a r n i e r a i. (1983) zisťovali u vyše 100 kôz aktivitu niektorých makroprvkov a glukózy v sére a v krvi. A l d á s y a i. (1981) sledovali závislosť niektorých biochemických ukazovateľov krvi od fázy reprodukčného cyklu u 40 kôz.

Wojcik a i. (1986) získali od 30 kôz hodnoty vyšetrovaných ukazovateľov dusíkového, energetického a minerálneho profilu. Vrzgula a i. (1985) sledovali v priebehu jedného roka sezónnu dynamiku hladín makro- a mikroelementov, niektorých enzýmov a vitamínov i ukazovateľov acidobázickej homeostázy.

MATERIÁL A METÓDY

Výsledky uvádzané v tejto práci sme získali z vyšetrení vykonávaných v chove kôz PP Spišská Nová Ves, hospodárstvo Nálepko.

Kozy boli ustájené v novovybudovanom veľkokapacitnom objekte, voľne na hlbokkej podstielke po skupinách, podľa štádia reprodukčného cyklu. V prevážnej väčšine to boli kozy biele sánske bezrohé. Zoohygienické podmienky boli veľmi dobré. Zdravotná situácia v chove bola uspokojivá. Po odstavení kozliat boli kozy strojovo dojené. Počas pastevného obdobia kozy vyhýali na pastvu a prikrmovali v ustajňovacom objekte, a to KZ BAK 0,35 kg, alebo KZ ČOJ II 0,8 kg na kus a deň a senom 1–2 kg. Krmná dávka v zimnom období pozostávala z 2 kg kvalitného lúčneho sena, 0,4 kg KZ ČOJ II a 0,3 kg ťatelinových úsuskov.

Odber biologického materiálu sme uskutočnili v nasledovných termínoch: v roku 1984 12. 3., 18. 6., 3. 9. a 3. 12.; v roku 1985 22. 4., 15. 7., 14. 10. a 20. 12.; v roku 1986 bol urobený jeden odber 21. 4.

Krv sme odoberali vždy od skupiny 16 klinicky zdravých kôz v rôznom štádiu pohlavného cyklu (nesledoval sa vybraný súbor tých istých kôz) punkciou *vena jugularis* anaeróbne do jednorázovej heparinizovanej striekačky k stanoveniu acidobázických ukazovateľov, do skúmavky s prídavkom fluoridu sodného a heparínu na stanovenie glukózy a do 4 skúmaviek na získanie séra. Odber sme robili asi 2 h po rannom kŕmení a vzorky boli k spracovaniu dopravené do 3 h od začatia odberu. Súčasne s odberom krvi sme odoberali vzorky trusu k parazitologickému vyšetreniu a vzorky pitnej vody ako i skŕmovaných krmív k posúdeniu kŕmnej dávky.

V krvi sme stanovili acidobázické ukazovatele ekvilibračnou metódou podľa Astrupa a glukózu Bio-la testom s ortotolidínom. V sére sme stanovovali celkové bielkoviny refraktometricky, bielkovinové frakcie elektroforeticky. Fosfor, chloridy, močovinu, cholesterol, celkové lipidy, celkový bilirubín, AST, ALT, GMT, LDH, AP fotokolorimetricky Bio-la testom. Ca, Mg, Cu, Fe sme stanovovali atómovou absorpčnou spektroskopiou. Vitamín A bol stanovený UV metódou, beta-karotén fotometricky, vitamín E kolorimetricky, ketolátky spektrofotometricky s nitroprussitom sodným, selén fotokolorimetricky po reakcii s 3,3'-diaminobenzidínom a extrakcií do toluénu.

K uvádzaným výsledkom sme sa dopracovali tak, že sme pri každom odbere hodnotili všetky sledované ukazovatele jednotlivých profilov metabolického testu, z ktorých sme pri každom odbere vypočítali priemerné hodnoty a smerodajné odchýlky pre jednotlivé ukazovatele. Získané konečné priemerné hodnoty so smerodajnými odchýlkami (tab. I a II) sme vypočítali zo zistených hodnôt získaných pri jednotlivých vyšetreniach za celé sledované obdobie.

VÝSLEDKY A DISKUSIA

Priemerné hodnoty natívneho pH sa pohybovali od 7,38 do 7,44 a boli vyššie oproti hodnotám, ktoré uvádza Komárek a i. (1976) a Vrzgula a i. (1985). Podobne vyššie hodnoty sme zistili i u parciálneho tlaku CO_2 , keď tieto sa pohybovali v priemere od 5,70 do 6,20 kPa.

Namí zistené hodnoty prebytku báz v rozpätí od 1,0 do 5,8 mmol.l⁻¹ v priemere boli vyššie ako hodnoty, ktoré u kôz uvádza Komárek a i. (1976) a výrazne vyššie oproti hodnotám zistených Vrzgulom a i. (1985). Priemerné hodnoty štandardného bikarbonátu sa pohybovali od 25,2 do 29,4 mmol.l⁻¹, pričom tieto hodnoty boli vyššie oproti výsledkom vyššie citovaných autorov. Pri sledovaní ukazovateľov acidobázickej homeostázy sme nezaznamenali výraznejších rozdielov v hodnotách počas jednotlivých ročných období.

Hladiny celkových bielkovín sa počas sledovaného obdobia významnejšie, nelíšili a pohybovali sa v priemere od 66,0 do 80,0 g.l⁻¹. U sledovaných bielkovinových frakcií sme nezaznamenali podstatnejšie rozdiely. U imunoglobulínov sme preukazne najvyššie hodnoty zisťovali v jesennom období. Priemerné hodnoty močoviny sa pohybovali od 5,28 do 7,73 mmol.l⁻¹ s najvyššími hodnotami v zimnom období.

Priemerné hodnoty glukózy sa pohybovali v rozmedzí 2,24–2,98 mmol.l⁻¹ a nevykazovali podstatnejších zmien počas jednotlivých ročných období. Nami zistené hodnoty glukózy sú zhodné s údajmi autorov Wojcik a i. (1986), ale sú nižšie ako priemerné hodnoty uvádzané Kolbom (1980). Priemerné hodnoty ketolátok sa pohybovali od 0,02 do 1,33 mmol.l⁻¹. Hodnoty cholesterolu boli v priemere počas celého obdobia pomerne vyrovnané a pohybovali sa od 1,68 do 2,24 mmol.l⁻¹. To isté platí i o hodnotách celkových lipidov, ktoré sa nachádzali v rozpätí 2,63 až 3,38 g.l⁻¹.

Hodnoty sérového vápnika sa pohybovali v priemere od 2,12 do 2,50 mmol.l⁻¹ a boli vyššie oproti údajom, ktoré uvádzajú Kolb (1980), Aldasy a i. (1981) a Wojcik a i. (1986), boli však vyššie ako hodnoty, ktoré získal Vrzgula a i. (1985). Hodnoty fosforu v krvnom sére kolísali v priemere od 1,44 do 2,51 mmol.l⁻¹ a boli približne zhodné s priemernými hodnotami uvádzanými Vrzgulom a i. (1985). Priemerné hodnoty horčička boli v priebehu celého sledovania vyrovnané. Pohybovali sa v rozmedzí 0,83–0,89 mmol.l⁻¹ a korešpondujú s údajmi, ktoré publikoval Wojcik a i. (1986) a Vrzgula a i. (1985).

Hladiny železa mali kolísajúci priebeh a ich priemerné hodnoty sa nachádzali v rozpätí od 15,8 do 28,6 μmol.l⁻¹. V podstate sa zhodujú s výsledkami autorov Wojcik a i. (1986) a Vrzgula a i. (1985). Sezónnu závislosť sme pri získaných hodnotách železa nezistili. Priemerné hodnoty selénu boli medzi 3,14 a 13,22 μmol.l⁻¹.

Nami zistené hodnoty sodíka sa pohybovali od 140,03 do 154,7 mmol.l⁻¹ a sú zhodné s údajmi Aldasyho a i. (1981), ale sú nižšie ako hodnoty uvádzané Kolbom (1980) a Vrzgulom a i. (1985). Vplyv ročného obdobia na priemerné hodnoty draslíka v sére (4,51–5,85 mmol.l⁻¹) a v krvi (16,08–25,64 mmol.l⁻¹) sme nezistili. U chloridov v priebehu sledovaného obdobia sme zaznamenávali hodnoty v priemere od 97,01 do 115,4 mmol.l⁻¹ s priemernou hodnotou 102,1 mmol.l⁻¹ za celé sledované obdobie, ktorá sa približuje priemernej hodnote 104,3 mmol.l⁻¹ (Kolb, 1980).

Priemerné hodnoty vitamínu A kolísali v rozmedzí 0,76–5,77 μmol.l⁻¹, beta-karoténu 0,24–0,54 μmol.l⁻¹ a vitamínu E od 5,6 do 9,8 μmol.l⁻¹. Najvyššie hodnoty vitamínov sme zisťovali v letnom období.

Hodnotiac výsledky enzýmatického profilu, konštatujeme, že priemerné hodnoty jednotlivých ukazovateľov sa pohybovali následovne: asparát-aminotransferáza od 0,30 do 0,69 μkat.l⁻¹, alanínaminotransferáza od 0,11 do 0,28 μkat.l⁻¹, laktátdehydrogenáza od 1,52 do 2,58 μkat.l⁻¹. Gamma-glutamyltransferáza kolísala v rozpätí od 0,57 do 1,2 μkat.l⁻¹ a hladiny alkalické fosfatázy sa pohybovali od 1,38 do 6,59 μkat.l⁻¹. Pre stanovenie aktivity enzýmov platí viac než pre ostatné vyšetrenia, že výsledky sú bezprostredne závislé od metodiky stanovenia. Vzhľadom k tomu sa naše výsledky zhodujú s výsledkami, ktoré uvádza Tkáč a Orság (1974) a Vrzgula a i. (1985).

Z vyšetrení vykonaných počas celého obdobia sme získali priemerné hodnoty a smerodajné odchýlky sledovaných ukazovateľov metabolického profilu u kôz, ktoré uvádzame v tab. I a II.

Pri koprologickom vyšetrení sme zisťovali nálezy lariev *Müllerius capillaris* u 10–100 %, *Dictyocaulus filaria* u 7–20 %, *Protostrongylus Kochi* u 10–40 %, vajíčka strongyloidného typu u 15–100 %, *Trichostrongylus* sp. u 8–50 % a *Nematodirus* sp. u 5–10 % z vyšetrovaných vzoriek.

Vzhľadom k tomu, že v sledovanom chove sa zistené parazitózy klinicky neprejavovali, sme ich pri štatistickom spracovaní biochemických výsledkov nezohľadňovali.

Rozdiely v hodnotách sledovaných biochemických ukazovateľov, ktoré sme zaznamenali oproti hodnotám autorov citovaných v tejto práci, sú

I. Priemerné hodnoty a smerodajné odchýlky ukazovateľov acidobázického, duskového, energetického, makro- a mikrominérálneho profilu — The average values and standard deviations of the parameters of acid-base, nitrogen, energy, macro- and micromineral profile

Metabolický profil ¹	Sledovaný ukazovateľ ⁶	Hodnoty ⁷	±
Acidobázický profil ²	nat. pH	7,41 log mole	0,03
	p CO ₂	5,99 kPa	0,39
	BE	3,90 mmol . l ⁻¹	2,1
	SBi	27,86 mmol . l ⁻¹	1,9
	BB	46,38 mmol . l ⁻¹	3,9
Dusíkový profil ³	CB	70,8 g . l ⁻¹	6,0
	gamma-globulíny ⁸	0,37 1/1	0,07
	beta-globulíny ⁹	0,19 1/1	0,04
	alfa-globulíny ¹⁰	0,1 1/1	0,02
	albumíny ¹¹	0,37 1/1	0,06
	imunoglobulíny ¹²	40,9 Turb. U	5,0
	močovina ¹³	7,12 mmol . l ⁻¹	1,45
Energetický profil ⁴	glukóza ¹⁴	2,60 mmol . l ⁻¹	0,34
	cholesterol ¹⁵	1,97 mmol . l ⁻¹	0,39
	celkové lipidy ¹⁶	3,15 g . l ⁻¹	0,68
	ketolátky ¹⁷	0,38 mmol . l ⁻¹	0,25
Makro- a mikro-minerálny profil ⁵	Ca	2,28 mmol . l ⁻¹	0,18
	Mg	0,90 mmol . l ⁻¹	0,07
	P	1,86 mmol . l ⁻¹	0,37
	Cu	17,6 μmol . l ⁻¹	2,8
	Fe	23,67 μmol . l ⁻¹	4,8
	Se	9,09 μmol . l ⁻¹	2,91

¹metabolic profile, ²acid-base profile, ³nitrogen profile, ⁴energy profile, ⁵macro- and micromineral profile, ⁶target parameter, ⁷values, ⁸gamma-globulins, ⁹beta-globulins, ¹⁰alpha-globulins, ¹¹albumins, ¹²immunoglobulins, ¹³urea, ¹⁴glucose, ¹⁵cholesterol, ¹⁶total lipids, ¹⁷ketone bodies

II. Priemerné hodnoty a smerodajné odchýlky ukazovateľov elektrolytového, vitamínového, enzýmatického a hepatálneho profilu — The average values and standard deviations of the parameters of electrolytic, vitamin, enzymatic and hepatic profile

Metabolický profil ¹	Sledovaný ukazovateľ ⁶	Hodnoty ⁷	±
Elektrolytový profil ²	Na	148,5 mmol . l ⁻¹	2,8
	K v sére ⁸	4,95 mmol . l ⁻¹	0,37
	K v krvi ⁹	19,9 mmol . l ⁻¹	3,1
	Cl ⁻	102,1 mmol . l ⁻¹	8,6
Vitamínový profil ³	vitamín A ¹⁰	2,33 μmol . l ⁻¹	0,63
	beta-karotén ¹¹	0,28 μmol . l ⁻¹	0,13
	vitamín E ¹²	7,67 μmol . l ⁻¹	2,19
Enzýmatický profil ⁴	AST	0,46 μkat . l ⁻¹	0,07
	ALT	0,18 μkat . l ⁻¹	0,06
	LDH	1,92 μkat . l ⁻¹	0,51
	GMT	0,83 μkat . l ⁻¹	0,17
	AP	3,81 μkat . l ⁻¹	3,06
Hepatálny profil ⁵	celkový bilirubín ¹³	3,7 μmol . l ⁻¹	1,45

¹metabolic profile, ²electrolytic profile, ³vitamin profile, ⁴enzymatic profile, ⁵hepatic profile, ⁶target parameter, ⁷values, ⁸K in blood serum, ⁹K in blood, ¹⁰vitamin A, ¹¹beta-carotene, ¹²vitamin E, ¹³total bilirubin

III. Priemerné hodnoty a smerodajné odchýlky vitamínu A a beta-karoténu počas jednotlivých ročných období — The average values and standard deviations of vitamin A and beta-carotene contents throughout the seasons of the year

	Jar ¹	Leto ²	Jeseň ³	Zima ⁴
Vitamín A (μmol . l ⁻¹) ⁵	1,7 ± 0,44	3,33 ± 0,46	2,0 ± 1,05	2,56 ± 1,11
beta-karotén (μmol . l ⁻¹) ⁶	0,36 ± 0,19	0,45 ± 0,13	0,28 ± 0,2	< 0,2

¹spring, ²summer, ³autumn, ⁴winter, ⁵vitamin A (μmol per l), ⁶beta-carotene (μmol per l)

najmä v rôznych životných podmienkach vyšetrovaných zvierat a v rozdielnych metodikách jednotlivých vyšetrení, vo výžive a miere exploatácie.

Z našich výsledkov vyplýva, že sme u väčšiny hodnôt sledovaných ukazovateľov metabolického profilu nezistili podstatnejšie zmeny v priebehu jednotlivých ročných období. Sezónnu závislosť sme zistili pri dynamike hodnôt vitamínu A a beta-karoténu. Vychádzajúc z priemerných, ale i individuálnych hodnôt konštatujeme, že najnižšie hladiny vitamínu A sme zaznamenali na začiatku jarného obdobia (pred pastvou). V zimnom období v roku 1984 i v roku 1985 sme zisťovali v sére len stopy beta-karoténu. Priemerné hodnoty a smerodajné odchýlky vitamínu A a beta-karoténu počas jednotlivých ročných období sú uvedené v tab. III.

Literatúra

- ALDASY, P. — BAJÁKY, P. — ERÜS, T.: Vér alapertek tejhasznú kecskeállományban. *Magy. állatorv. Lap.*, 36, 1981, s. 536—538.
- GARNIER, F. — BENOIT, E. — JAQUET, J. P. — DELATOUR, P.: Serumenzymuntersuchung bei der Ziege: Gebrauchswerte von CPK, LDH, ICDH und SDH. In: *Beiträge der 1. Konferenz der Internationalen Gesellschaft für Animal Clinical Biochemistry (ACB) von 28. 8.—3. 9. 1983 in Schwäbisch Hal (BDR)*, 1983, s. 361—366.
- KOLB, E.: *Lehrbuch der Physiologie der Haustiere*, Jena, VEB G. Fischer Verlag 1980.
- KOMÁREK, J. — ŠTROS, K. — SYKORA, J. — KYNČLOVÁ, J. — JADRNY, L. — SELINGER, P.: Hodnoty acidobázické rovnováhy krve některých druhů domácích zvířat. *Veter. Med. (Praha)*, 21, 1976, s. 51—59.
- TKAČ, J. — ORSÁG, A.: Vplyv halotanovej anestézy bez operačného zákroku na aktivitu enzýmov GOT, GPT, SODH a AF u kôz. *Veter. Med. (Praha)*, 19, 1974, s. 151—156.
- TKAČ, J. — ORSÁG, A.: Aktivita enzýmov GOT, GPT, SODH a AF v krvnom sére kôz po cisárskych rezoch. *Veter. Med. (Praha)*, 19, 1974, s. 505—509.
- VRZGULA, L. — SEIDEL, H. — GARDÁŠ, J.: Yearly dynamics of haematological and biochemical indices in the blood serum of goats. *Folia veterinaria*, 29, 1985, č. 1—2, s. 53—59.

Došlo dňa 1. 2. 1991

KROKAVEC, M. — ŠIMO, K. — MARTINKO, A. — KROKAVCOVÁ, M. (District Veterinary Office — Veterinary Hospital, Spišská Nová Ves): *A study of the values of metabolic profile parameters in the large-scale breeding of goats throughout the seasons of the year*. *Veter. Med. (Praha)*, 37, 1992 (2): 113—118.

Thirty-five biochemical parameters were investigated in 144 clinically healthy goats throughout the seasons of the year from March 1984 to April 1986. The average values and standard deviations of the investigated parameters of metabolic profile which are presented in this paper were obtained from examinations performed throughout the whole period of investigation. The average values of biochemical parameters are presented in Tabs. I and II. Our study of the values of the given parameters in the large-scale breeding of goats throughout the seasons of the year did not show a clear seasonal dependence of any of the investigated parameters with the exception of vitamin A and beta-carotene contents. The average values and standard deviations of vitamin A and beta-carotene contents recorded throughout the year seasons are shown in Tab. III. Based on the average, and also individual values, it can be seen that the lowest levels of vitamin A were recorded at the beginning of the spring season (before the goats began to graze). In the winter seasons of 1984 and 1985 there were only traces of beta-carotene in the blood serum. A relatively great variance of the values mentioned by different authors demonstrates their great variability, which is influenced particularly by different environmental conditions, various methods of investigation, different nutrition and exploitation of the animals.

goat; metabolic profile; average values; variations; seasons of the year

Adresa autorov:

MVDr. Milan Krokavec, Ing. Milan Šimo, MVDr. Albert Martinko, MVDr. Mária Krokavcová, Okresná veterinárna správa — veterinárna nemocnica, Duklianska č. 46, 052 80 Spišská Nová Ves

PREVENTIVNÍ POUŽITÍ TYLOSINU VE VČELSTVECH OHROŽENÝCH MOREM PLODU A JEHO REZIDUA V MEDU A CUKERNÝCH ZÁSOBÁCH

M. Máchová, V. Drobníková, D. Titěra, A. Vejdovská, O. Křišťanová, Š. Henzl

MÁCHOVÁ, M. — DROBNÍKOVÁ, V. — TITĚRA, D. — VEJDOVSKÁ, A. — KŘIŠŤANOVÁ, O. — HENZL, Š. [Výzkumný ústav včelařský, Dol; Výzkumný ústav pro biofaktory a veterinární léčiva — výzkumný a vývojový závod, Kouřim]: *Preventivní použití tylosinu ve včelstvech ohrožených morem plodu a jeho rezidua v medu a cukerných zásobách*. Veter. Med. [Praha], 37, 1992 [2]: 119—125.

V práci jsou předloženy výsledky o preventivním podání tylosinu včelstvům ohroženým morem plodu a výsledky stanovení reziduí tohoto antibiotika v medu a cukerných zásobách. Včelstva snášela podzimní ošetření postřikem medikovaného cukerného roztoku dobře a v jarním období přešla do normálního rozvoje. Rezidua byla stanovena difúzní plotnovou metodou s účinkem na testovací mikroorganismus *Bacillus subtilis* ATCC 6633. Citlivost metody činila 5 mg v 1 kg krmiva. Rezidua tylosinu při nevhodném způsobu ošetření v době ukládání zásob představovala 8 % z původně aplikované léčebné dávky. Výskyt reziduí tylosinu v medu a cukerných zásobách je závislý na době podání léku. Koncentrace zjištěných reziduí neklesla ani po jednoročním skladování uvedených krmiv při pokojové teplotě. Vzhledem k výsledkům je k úvahám o použití preventivní chemoterapie moru včelího plodu antibiotikem tylosin nutno přistupovat opatrně.

včely; mor včelího plodu; *Bacillus larvae*; tylosin; rezidua tylosinu; preventivní ošetření; med; cukerné zásoby

Mor včelího plodu je infekční onemocnění včelího plodu, vyvolané sporulujícím mikroby *B. larvae*. Podle zákona platného v Československu patří mor plodu k nebezpečným nákazám hospodářských zvířat a nemocná včelstva se vším spalitelným příslušenstvím jsou likvidována spálením. Nákazou ohroženým včelstvům, tj. takovým, u nichž nákaza nebyla prokázána, ale jsou podezřelá z nakažení, je věnována zvýšená pozornost, popř. profylaktická péče.

Doposud byl takto ohroženým včelstvům podáván do zimních zásob natrium sulfathiazol. V posledních asi 15 letech se však začaly objevovat zprávy o zvyšování rezistence kmenů *B. larvae* na sulfonamidy (Otte, 1979; Gliński a Rzedzicki, 1977; Turell, 1974). Při ověřování citlivosti kmenů *B. larvae* z českých zemí byla rovněž zjištěna rezistence na natrium sulfathiazol, sulfathoxidin a sulfisoxazol (Drobníková, 1983, 1985).

V roce 1970 Hitchcock aj. s úspěchem použili na léčbu moru včelího plodu antibiotikum tylosin v celkové dávce 1,5–3 g tylosinu na včelstvo. Antibiotikum je široce rozšířeno v krmivářství a veterinární praxi. Netoxičnost pro včely a inhibiční účinek tylosinu na růst *B. larvae*, ověřený v laboratorních podmínkách (Drobníková, 1985, 1986; Drobníková aj., 1987) byl předpokladem pro jeho další prověřování k případnému profylaktickému využití ve včelařské praxi.

V této práci jsou předloženy výsledky o preventivním podání tylosinu ohroženým včelstvům a stanovení reziduí v medu a cukerných zásobách.

MATERIÁL A METODY

K pokusům jsme použili přípravek Tylan Elanco 200 injekční a. u. v. s obsahem 200 mg tylosinu v 1 ml roztoku, vyrobený v Biovetě, Ivanovice na Haně, v licenci firmy Eli Lilly S. A. Účinná látka je makrolidové antibiotikum tylosin.

PŘÍPRAVA MEDIKOVANÉHO CUKERNÉHO ROZTOKU PRO POUŽITÍ VE VČELSTVU VE FORMĚ POSTŘIKU

K Tylanu se po kapkách přidá 96% ethylalkohol v poměru 7:3. Získaný roztok se kvantitativně vmíchá do 200–400 ml 3% roztoku cukru. Množství cukernatého roztoku se řídí silou včelstva.

Použili jsme jednorázový postřík s dávkou Tylanu 2 ml (0,4 g tylosinu) a 2–3× opakovaný postřík s celkovou dávkou 13,5 ml Tylanu (2,7 g tylosinu) na včelstvo.

Zvolená dávka 13,5 ml Tylanu (2,7 g tylosinu) vychází z výsledků práce autorů Hitchcock aj. (1970), kteří s úspěchem vyzkoušeli léčení včelstev, napadených morem plodu, opakovaným podáváním léčebné dávky ve výši 0,5 g tylosinu na jedno ošetření. Celkem bylo včelstvům aplikováno od 1,5 do 3,0 g tylosinu. Navrhovaná dávka byla zapracována do metodiky profylaktického ošetřování včelstev v ochranném pásmu moru plodu, vypracované ve VÚVČ (Drobníková aj., 1987). Jedná se o méně účinné orální podání antibiotika, jehož vylučování v biologicky aktivní formě, např. výkaly prasat, představuje až 91 % (Dvořák aj., 1982). U včel však není možná jiná aplikace.

Včelstvo bylo podle zaměření pokusu buď jednorázově, nebo opakovaně postříkáno vždy 200 ml medikovaného cukerného roztoku. Všechny plásty i se včelami byly vyjmuty a z obou stran jemně postříkány ručním postříkovačem.

VARIANTY POKUSU

A. Profylaktické jednorázové ošetření 160 včelstev 2 ml Tylanu v ochranném pásmu moru plodu na okrese Praha-východ. Ošetření bylo provedeno v době po doplnění zimních zásob v říjnu 1988.

B. Podzimní ošetření zdravého včelstva s uloženými cukernými zásobami na zimu dávkou 13,5 ml Tylanu, rozdělenou do dvou ošetření v rozmezí 14 dnů. Ošetření bylo provedeno na včelnici ve vhodné teple a slunečné dny. Včelstvo obsedalo 5 plástů.

C. Podzimní ošetření zdravého včelstva s uloženými cukernými zásobami na zimu dávkou 13,5 ml Tylanu, rozdělenou do tří ošetření v rozmezí 36 dnů. Ošetření bylo provedeno na včelnici ve vhodné teple a slunečné dny. Včelstvo obsedalo 9 plástů.

D. Podzimní ošetření zdravého včelstva s průběžným podáváním cukerného sirupu. Zazimované nakrmené včelstvo bylo přeneseno ze včelnice do proletové haly, ve které byla nastavena teplota na 20 °C. Po aklimatizaci byly druhý den po přenesení odstraněny ze včelstva plně zásobní plástky a přidány prázdné plásty. Včelstvu pak byl průběžně podáván 63% cukerný roztok, celkem bylo zkrmeno 6 kg cukru. Během 3., 5. a 7. dne krmení byl proveden léčebný postřík včelstva 13,5 ml Tylanu. 9. den včelstvo dobralo cukerný roztok. Od tohoto dne byla teplota postupně snižována až dosáhla venkovní teploty. Po vyrovnání teplot bylo ošetřené včelstvo přemístěno zpět na včelnici. Včelstvo obsedalo 9 plástů.

E. Kontrolní včelstvo, u kterého nebyl prováděn žádný léčebný postřik. Včelstvo bylo zakrmené na zimu. Obsedalo 9 plástů.

Ze všech pokusných včelstev byly na jaře vytočeny zbylé cukerné zásoby, ve kterých byla stanovována rezidua tylosinu.

PŘÍPRAVA KONTROLNÍCH VZORKŮ NA STANOVENÍ REZIDUÍ TYLOSINU

Byl použit med a cukerné zásoby vytočené ze zdravých neléčených včelstev. Výchozí úvaha předpokládala, že zkoušené dávky 2, 13,5 a maximální 31,5 ml Tylanu se dostanou do 10 kg krmiva, potřebného pro přezimování včelstva. Pro větší pravděpodobnost zjištění přítomnosti tylosinu byly dávky v kontrolních vzorcích zdvojnásobeny, tj. připraveny vzorky odpovídající 4, 27 a 63 ml Tylanu na 10 kg krmiva. Do 0,5 kg krmiva bylo odměřeno příslušné množství Tylanu a vzorky byly intenzivně míchány k zabezpečení homogenizace materiálu. Všechny vzorky byly bezprostředně po přípravě vyšetřeny na stanovení koncentrace tylosinu. Po jednorocním skladování při pokojové teplotě v uzavřených transfúzních lahvích byl test na určení koncentrace tylosinu zopakován.

Ke stanovení koncentrace tylosinu byla použita difúzní plotnová metoda s účinkem na testovací mikroorganismus *B. subtilis* ATCC 6633. Jako standard byla použita ověřená substance tylosinu (Podniková norma PNY 17-01-85). Koncentrace byla vyjádřena v $\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$. Inhibice samotného medu nebyla uvažována. Při použití testovacího mikroorganismu *B. cereus* var. *mycoides* ATCC 11778, používaného na stanovení koncentrace oxytetracyklinu, uvádí Wilson (1974) inhibiční hodnoty pro samotný med 0,25 $\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$.

VÝSLEDKY A DISKUSE

STANOVENÍ KONCENTRACE TYLOSINU V KONTROLNÍCH VZORCÍCH A SLEDOVÁNÍ KONCENTRACE TYLOSINU PO ROČNÍM SKLADOVÁNÍ

Metoda uvedená v PNY byla dosud používána ke stanovení koncentrace tylosinu ve vodných roztocích, v roztocích organických rozpouštědel, případně v suspenzi technického tylosinu. Pro stanovení reziduí tylosinu v medu a cukerných zásobách musela být příprava vzorku modifikována. Výsledky jsou uvedeny v tab. I.

I. Koncentrace tylosinu v kontrolních vzorcích ihned po přípravě vzorků a po ročním skladování — Tylosin concentrations in control samples immediately after the sample preparation and after a year storage

Prostředí ve kterém byl tylosin stanovován ¹	Množství Tylanu přidaného do 0,5 kg krmiva ² (ml)	Teoretická koncentrace přidaného tylosinu ³ ($\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$)	Ihned zjištěná koncentrace tylosinu ⁴ ($\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$)	Po roce zjištěná koncentrace tylosinu ⁵ ($\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$)
Med ⁶	0,20	0,08	0,005	0,04
Med ⁶	1,35	0,54	0,46	0,60
Cukerné zásoby ⁷	1,35	0,54	0,33	0,37
Med ⁶	3,15	1,26	1,37	1,44
Cukerné zásoby ⁷	3,15	1,26	1,32	1,33

¹the medium in which tylosin residues were determined, ²amount of Tylan added to 0.5 kg feed, ³theoretical concentration of added tylosin, ⁴immediately determined tylosin concentration, ⁵tylosin concentration determined after a year, ⁶honey, ⁷sugar stores

Difúzní plotnovou metodu pro stanovení koncentrace tylosinu v medu a cukerných zásobách lze použít. Citlivost této metody činí 5 mg tylosinu v 1 kg medu nebo cukerných zásobách. Obdobnou citlivost stanovení reziduí oxytetracyklinu v medu uvádí Wilson [1974]. Výsledky po jednoročním skladování dokazují, že nedošlo k poklesu účinnosti tylosinu. Drobné výkyvy při určování koncentrace jsou způsobeny jednak nedokonalou homogenizací Tylanu ve viskózním prostředí medu nebo cukerného roztoku, jednak nepatrným odparem vody. Vzorky byly skladovány v transfúzních lahvích, uzavřených gumovými zátkami a zajištěnými kovovou obroučkou, ale zřejmě i tak došlo k odparu. Sušina medu, resp. cukerných zásob, stanovena nebyla.

STANOVENÍ REZIDUÍ TYLOSINU V CUKERNÝCH ZÁSOBÁCH VČELSTEV OŠETŘENÝCH TYLANEM

Skupina včelstev pokusné skupiny byla sledována v celém průběhu zimování. Nebyly zjištěny žádné nenormální úkazy, včelstva v jarním období přešla do normálního rozvoje.

Ve vytočených cukerných zásobách, zbylých po vyzimování včelstev, která byla ošetřena 2 ml Tylanu, nebyla zjištěna žádná rezidua tylosinu.

Vzhledem k zániku ochranného pásma moru plodu ze stanoviště, na kterém byl prováděn klinický pokus s ověřováním Tylanu v dávce 2 ml na včelstvo, byly další pokusy s ošetřením včelstev 13,5 ml Tylanu provedeny ve včelstvech VÚVČ v Dole. Varianty pokusu jsou ve shodě s metodikou označeny písmeny B—E. Výsledky stanovení reziduí tylosinu ve vytočených cukerných zásobách, zbylých po vyzimování pokusných včelstev, jsou uvedeny v tab. II.

Rezidua byla zjištěna u vzorku D, kde byl Tylan aplikován současně s podáváním zimních cukerných zásob. Při přepočtu podávaného a vytočeného cukerného sirupu na sušinu bylo zjištěno, že bylo podáno 443 mg tylosinu na 1 kg sušiny cukru. Reziduum tylosinu v cukerných zásobách po vytočení na jaře činilo 35 mg tylosinu na 1 kg sušiny cukru a představovalo 8 % z původně aplikovaného tylosinu.

Výskyt reziduí tylosinu v medu a cukerných zásobách je závislý na době podání léku. Není proto vhodné aplikovat tylosin ve snůškovém období včelstva a jako jediná vhodná doba pro aplikaci během včelařské sezóny zůstává doba mezi vytočením medu a před nakrmením na zimu. Při této aplikaci po posledním vytočení medu by však bylo nutné zajistit, aby se zbytky zimních zásob nedostaly do snůšky příštího roku, jako tomu bylo např. při podání tetracyklinu (Corner a Gochnauer, 1971).

Tylosin je termobilní a dobře hydrolyzovatelný v kyselém prostředí (Hamill, 1961; Bělík, 1980). Odštěpením cukerné složky se hydrolyzuje na desmycosin, který má rovněž antibiotickou aktivitu (Bycroft, 1988). Teprve další hydrolýzou vznikají inaktivní metabolity. Tyto vlastnosti by teoreticky umožňovaly tepelně ošetřit případné zbytky vytočených, zředěných a okyselených zásob. Makrolidová antibiotika se však také vyznačují schopností tvořit rychle nastupující chromozomální rezistenci u bakterií (Trejbalová a Trejbal, 1988). Ke vzniku rezistence dochází často právě při podprahovém dávkování antibiotik

II. Rezidua tylosinu ve vytočených cukerných zásobách po vyzimování u včelstev ošetřených 13,5 ml Tylanu a neošetřeného kontrolního včelstva — Tylosin residues in the extracted sugar stores after wintering in bee colonies treated with 13.5 ml Tylan and in an untreated control colony

Varianty ¹	B	C	D	E
Prostředí, ve kterém byl tylosin stanovován ²	cukerné zásoby ¹⁰	cukerné zásoby ¹⁰	cukerné zásoby ¹⁰	cukerné zásoby ¹⁰
Množství aplikovaného tylosinu do včelstva ³ (ml)	13,5	13,5	13,5	0
Koncentrace cukerného roztoku při podání ⁴ (%)	63	63	63	63
Podáno celkem cukerného roztoku ⁵ (kg)			9,6	
Koncentrace cukerných zásob při vytočení ⁶ (%)	80	78,3	79,0	79,1
Koncentrace tylosinu při podání (mg . kg ⁻¹ sušiny) ⁷			443,2	
Koncentrace tylosinu ve vytočených zásobách ⁸ (mg . kg ⁻¹)	0	0	27,5	0
Koncentrace tylosinu ve vytočených zásobách (mg . kg ⁻¹ sušiny) ⁹			34,8	

¹treatments, ²the medium in which tylosin was determined, ³amount of tylosin applied to a bee colony, ⁴sugar syrup solution concentration at administration, ⁵total amount of sugar syrup solution administered, ⁶concentrations of sugar stores at extraction, ⁷tylosin concentrations at administration (mg per kg dry matter), ⁸tylosin concentrations in extracted sugar stores, ⁹tylosin concentrations in extracted sugar stores (mg per kg dry matter), ¹⁰sugar stores

(Hejzlar aj., 1980). Domníváme se proto, že o chemoterapii lze uvažovat pouze v těch případech, kdy by došlo k rozšíření nákazy moru plodu v určité oblasti v takové intenzitě, že by již nebylo únosné použití osvědčené radiální metody.

Poděkování

Autoři děkují dr. Billové z Ústavu pro kontrolu veterinárních biopreparátů a léčiv za účinnou pomoc při kontrolních stanoveních reziduí tylosinu.

Literatura

- BĚLÍK, J.: Tylosin. (Dílčí závěrečná zpráva.) Kouřim, Výzkumný ústav pro biofaktory a veterinární léčiva 1980.
 BYCROFT, B. W.: Dictionary of antibiotics and related substances. In: BYCROFT, B. W. (ed.), Chapman and Hall Ltd., London 1988.
 CORNER, J. — GOCHNAUER, T. A.: The persistence of tetracycline activity in medicated syrup stored by wintering honeybee colonies. J. Apic. Res., 10, 1971, s. 67—71.

- DROBNÍKOVÁ, V.: Studium bacteriofágů a plasmidu *Bacillus larvae*. [Dílčí závěrečná zpráva.] Dol, Výzkumný ústav včelařský 1983.
- DROBNÍKOVÁ, V.: Výzkum tlumení bakteriálních nákaz včel. [Dílčí závěrečná zpráva.] Dol, Výzkumný ústav včelařský, 1985.
- DROBNÍKOVÁ, V.: Výzkum tlumení moru včeliho plodu. [Dílčí závěrečná zpráva.] Dol, Výzkumný ústav včelařský 1986.
- DROBNÍKOVÁ, V. — PYTELOVÁ, I. — MALÁ, J.: Výzkum infekčních onemocnění včel. [Dílčí závěrečná zpráva.] Dol, Výzkumný ústav včelařský 1987.
- DVOŘÁK, M. — BROŽ, J. — STRAKOVÁ, J. — ŠEVČÍK, B.: Sledování farmakokinetiky, vylučování a reziduí technického tylosinu čs. původu u prasat. Biol. Chem. Veter. [Praha], 1982, č. 1, s. 77—85.
- GLIŃSKI, Z. — RZEDZICKI, J.: Evaluation of the sensitivity of *Bacillus larvae* to antibiotics and sulfonamids isolated in Poland in 1962—1971. Pol. Arch. wetery., 20, 1977, s. 9—16.
- HAMILL, R. L. et al.: Tylosin, a new antibiotics: II. Isolation, properties and preparation of desmycosin, a microbiologically active degradation product. Antibiot. et Chemother., 11, 1961, s. 328—335.
- HEJZLAR, M. — HYLAR, B. — TEPLÝ, M.: Antibiotika. Praha, SNTL 1980.
- HITCHCOCK, J. D. — MOFFETT, J. O. — LACKETT, J. J. — ELLIOTT, J. R.: Tylosin for control of American foulbrood disease in honey bees. J. econ. Entom., 63, 1970, s. 204 to 207.
- OTTE, E.: Die Empfindlichkeit von *Bacillus larvae* stammen gegen chemoterapeutica. In: XXIII. Int. Bienenzuchtkongress, Apimondia, Bucharrest, 1972, s. 462—463.
- PODNIKOVÁ NORMA Výzkumného ústavu pro biofaktory a veterinární léčiva, Pohorí-Chotouň: PNY 17-01-85, Tylosin technický, 9 s.
- TREJBALOVÁ, M. — TREJBAL, E.: Aktuálne farmakoterapeutiká II. Martin, Osveta 1988.
- TURELL, M. J.: A history of the use of drugs in the prevention and cure of American foulbrood. Amer. Bee J., 1974, s. 13.
- WILSON, W. T.: Residues of oxytetracycline in honey stored by *Apis mellifera*. Environ. Entom. 3, 1974, s. 674—676.

Došlo dne 22. 2. 1991

MÁCHOVÁ, M. — DROBNÍKOVÁ, V. — TITĚRA, D. — VEJDOVSKÁ, A. — KŘÍŠTANOVÁ, O. — HENZL, Š. (Research Institute of Bee-keeping, Dol; Research Institute of Feed Supplements and Veterinary Drugs, Kouřim): Preventive use of tylosin in the colonies endangered by the foulbrood and residues of tylosin in honey and syrup stored by honeybees. Veter. Med. [Praha], 37, 1992 (2): 119—125.

In the preceding laboratory experiments the high effectiveness of the antibiotic tylosin was tested with respect to the foulbrood disease pathogen *Bacillus larvae*, along with its nontoxicity to honey-bees. The present contribution indicates the results of preventive administration of tylosin to honeybee colonies endangered by the foulbrood and the results of this antibiotic residue determination in honey and syrup stored by honeybees after the therapeutic use of this medicament. Tests included the application of tylosin in the form of bee colony spraying by a medicated sugar syrup solution in which two concentrations were applied, 0.4 and 2.7 g tylosin were administered in the form of the preparation Tylan Elanco 200 injection a.u.v. with the content 200 mg active substance in 1 ml solution. In view of the target of the experiments, evidence of residues, the spray was intentionally applied to honeybee colonies at the feeding of sugar stores for winter or to colonies with already stored reserves. The total dose of the medicament was applied to colonies either in one application or in several partial in time divided sprays. Honeybee colonies tolerated the autumn treatment well and developed normally in the spring period. From all experimental bee colonies the remaining sugar stores were extracted in the spring and residues of tylosin were determined. For a comparison, control honey samples and extracted syrup stores with the inmixed tylosin concentration were prepared. The tylosin concentrations were equal to doses of 4, 27 and 63 ml Tylan per 10 kg feed. Tylosin residues were determined on agar diffusion plates containing a growth of *Bacillus subtilis* ATCC 6633. The determination method of tylosin in honey and sugar stores proved to be suitable, the sensitivity of the method made 5 mg in 1 kg feed. The concentration of the found

residues in the control samples did not sink even after one-year storing of the above mentioned feeds at a room temperature (Tab. I). The occurrence of tylosin residues in the extracted sugar stores from the experimental bee colonies proved to be dependent on the administration of the medicament. Some residues were found at the colony where Tylan was applied simultaneously with the application of sugar stores (Tab. II). The residues in the colony treated in this way represented 8 % of the originally applied autumn medical dose. With respect to the above-mentioned results and because of the well-known capability of the macrolid antibiotics to form the rapidly beginning chromosomal resistance of bacteria, it is necessary to apply the preventive chemotherapy of the foulbrood based on the antibiotic tylosin after careful consideration.

honey-bees; foulbrood; *Bacillus larvae*; tylosin; tylosin residues; preventive treatment; honey; sugar stores

Adresy autorů:

Marie Máchová, prom. biol., CSc., RNDr. Věra Drobníková, CSc., ing. Dalibor Titěra, CSc., Výzkumný ústav včelařský, Dol, 252 66 Libčice nad Vltavou
Alena Vejvodská, ing. Olga Křišťanová, ing. Štěpán Henzl, Výzkumný ústav pro biofaktory a veterinární léčiva — pobočka Výzkumný a vývojový závod, 281 61 Kouřim

POKYNY PRO AUTORY VĚDECKÉHO ČASOPISU VETERINÁRNÍ MEDICÍNA

Časopis Veterinární medicína uveřejňuje původní práce, recenze apod.

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

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

Je třeba, aby autoři přesně dodržovali tyto pokyny:

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

Technická úprava rukopisu

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

Úprava vlastní práce

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

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

Souhrn

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

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

Klíčová slova (Key words, index terms)

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

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

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

Úvod

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

Materiál a metody

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

Výsledky

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

Diskuse

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

Poděkování

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

Literatura

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

Literatura musí odpovídat ČSN 01 0197.

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

Adresa autora

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



**VÝHODNÝ LEASING
STROJŮ A ZAŘÍZENÍ
NEJEN PRO ZAČÍNÁJÍCÍ
PODNIKATELE**

ADEKO, a. s., Vám nabízí

- kapitálovou účast v jiných podnikatelských subjektech
- společné podnikání
- poradenskou, konzultační a zprostředkovatelskou činnost v oboru ekologie
- investorskou a investiční činnost
- řešení odbytových potíží výrobcům a obchodním organizacím formou leasingového financování

ADEKO, a. s.

Slezská 7

12 56 Praha 2

tel.: 25 83 42

fax: 20 72 29



Rukopisy odevzdány k tisku 31. 1. 1992 — Podepsáno k tisku 24. 4. 1992

Vědecký časopis VETERINÁRNÍ MEDICÍNA • Vydává Akademie zemědělských věd ČSFR — Ústav vědeckotechnických informací pro zemědělství • Vychází měsíčně • Redaktorka ing. Zdeňka Radošová • Redakce: 120 56 Praha 2, Slezská 7, telefon 25 75 41 • Vytiskly OSTRAVSKE TISKÁRNY, s. p., Ostrava 1, Novinářská 7 • © Ústav vědeckotechnických informací pro zemědělství, Praha 1992

Rozšiřuje PNS. Informace o předplatném podá a objednávky přijímá PNS-ÚED Praha, Kafkova 19, 160 00 Praha 6.