

VĚDECKÝ ČASOPIS



VETERINÁRNÍ MEDICÍNA

4

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

AKADEMIE ZEMĚDĚLSKÝCH VĚD ČSFR
ÚSTAV VĚDECKOTECHNICKÝCH INFORMACÍ
PRO ZEMĚDĚLSTVÍ

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

Vedoucí redaktorka ing. Zdeňka Radošová

OBSAH

Kolomazník J.: Fyziologie volného telení krav	193
Paulík Š., Švrček Š., Beníšek Z., Húska M., Ďurove A.: Využití kožného testu pre hodnotenie aktuálnej úrovne celulárnej imunity a jej úrovne po experimentálnej aplikácii glukánu a levamizolu u výkrmových býčkov	203
Vilček Š., Forgáč O., Hipíková V.: Izolácia a kontrola funkčnej kvality mRNA bovinného leukocytárneho interferónu	213
Zeleňák I., Jalč D., Plachá I., Sviatko P., Vendrák T., Siroka P., Gyulai F.: Vplyv prídavku medi a kobaltu na stráviteľnosť fibróznych krmív u oviec	221
Kačmár P., Legáth J., Neuschl J.: Koncentrácie ortute v orgánoch a tkanivách oviec po záťaži organizmu extrémne nízkymi jej dávkami	231
Mráz A., Košutzký J.: Klinické účinky a morfológické zmeny po nízkych dávkach ochratoxínu a u brojlerových kurčiat	237
Mezerová J., Snášil M., Němeček L.: Použití xylazinu s ketaminem k úvodu halotanové anestézie u psa	243
Pajerský A., Švarc R., Medvedová M., Ložiskové zmeny v pľúcach zajaca poľného vyvolané parazitom <i>Protostrongylus commutatus</i> (Diesing, 1851)	249

CONTENTS

Kolomazník J.: The physiology of free parturition of cows	200
Paulík Š., Švrček Š., Beníšek Z., Húska M., Ďurove A.: Applicability of a skin test to the evaluation of the actual level of cellular immunity and its level after an experimental application of glucan and levamisole in fattening bulls	212
Vilček Š., Forgáč O., Hipíková V.: Isolation and control of the function quality of mRNA bovine leucocyte interferon	220
Zeleňák I., Jalč D., Plachá I., Sviatko P., Vendrák T., Siroka P., Gulai F.: The effect of copper and cobalt supplementation on the digestibility of fibrous feeds in sheep	228
Kačmár P., Legáth J., Neuschl J.: Mercury concentrations in sheep organs and tissues after loading the organism with extremely low doses	234
Mráz A., Košutzký J.: Clinical effects and morphological lesions after low ochratoxin A levels in broiler chicks	242
Mezerová J., Snášil M., Němeček L.: The administration of xylazine and ketamine of halothane anaesthesia in dogs	247
Pajerský A., Švarc R., Medvedová M.: Layer changes in the lungs of hare provoked by the parasite <i>Protostrongylus commutatus</i> (Diesing, 1851)	255

J. Kolomazník

KOLOMAZNÍK, J. [Vysoká škola zemědělská, Brno]: *Fyziologie volného telení krav*. Veter. Med. (Praha), 37, 1992 (4): 193—201.

U 339 kusů krav (kříženek českého strakatého skotu a holštýnského červenostrakatého skotu) byl sledován průběh volného telení. V pokusu byla zjištěna jak změna chování zvířat, tak průměrné prodloužení gravidity o 1,35 dne; u býčků o 1,72 dne (průměr 286,5 dne při směrodatné odchylce 5,22), u jaloviček o 1,06 dne (285,6 dne, směrodatná odchylka 5,24); vypuzovací stadium porodu trvá v průměru do dvou hodin. Přímé vypuzení telete trvá do 15 minut. Byl zjištěn pokles výskytu zadržení lůžek o 43,7 %. Ve sledování dalších ekonomických a zdravotních vlivů se pokračuje.

kráva; spontánní porod; gravidita; etologie

V řadě zemědělských podniků se setkáváme s množstvím závažných problémů v oblasti reprodukce skotu. Zralý aj. (1990) uvádějí, že v roce 1987 bylo léčeno 68,6 % ze stavu krav, přičemž u většiny bylo skutečně více léčebných zákroků. Nepříznivou situaci našich chovů dokládá téměř 40% brakace, délka života 2,5 laktace, při průměrné doživosti 3 880 l v roce 1989. Početní stavy k 1. 1. 1990 uvádí Maule (1990) na 1 795,1 tis. krav. Hospodářská zvířata chováme většinou v prostředí, v němž nemůžeme dodržet ekologické podmínky, na něž byli přizpůsobeni jejich divoce žijící předkové. Musí tedy žít v podmínkách, které jim určil a vymezil člověk, podmínkách určených chovatelem, víc podle jeho ekonomických zájmů než podle fyziologické potřeby zvířat.

Ustájením jsou zvířata daleko vzdálena přirozeným podmínkám, které zaručovaly a podporovaly jejich zdraví. Toto porušení ekologie je nutno vyrovnat obecně platnými hygienickými opatřeními, optimální výživou, ošetřením, cílenou reprodukcí apod. V řadě vyspělých zemí probíhají zootechnická, plemenářská a selekční opatření pro snížení výskytu obtížných porodů. Při dosavadním hodnocení běžných porodů se uvádí průměrná délka březosti u našich plemen na 285—287 dnů, s výchylnou od 270—300 dnů.

Hlavní pozornost průběhů porodů byla věnována u masných plemen. Schaeffer a Wilton (1981) v rozsáhlém porovnávání 18 mezi-plemenných kombinací masných plemen zjistili významný vliv plemenné příslušnosti na průběh porodu. V podstatě lze všechny systémy hodnocení průběhu porodů zúžit na dvoustupňový systém, který uvádějí

Suchánek a Nejezchleba (1986), a to na porod normální a porod obtížný. Většina zahraničních autorů ve shodě s výše uvedenými autory ještě rozděluje porod obtížný na podkategorie porod těžší a porod s komplikacemi. Procentuální výskyt obtížných porodů v běžných podmínkách se ve světě pohybuje v rozmezí 10–25 % (Mahon aj., 1976; Smidt aj., 1977).

Hlavní vlivy působící na průběh porodu studovala řada autorů (Mey aj., 1978; Pollak a Freeman, 1976; Oldenbroek, 1980 aj.). Patří k nim především pořadí porodu matky, pohlaví a hmotnost telete, porod dvojčat, délka březosti, vliv býka a vliv chovu nebo technologické jednotky.

V našich podmínkách zhodnotili některé, zejména zdravotnické aspekty při klasických porodech Kudláč a Kozumplík (1979), Štráfelda (1990). Jiné vlivy a zdravotní zkušenosti z provozu volné skupinové porodny krav popsali Řezníček a Derda (1990). Řada autorů uvádí, že dědivost porodů je nízká, např. Philipson aj. (1979) uvádějí u různých evropských plemen koeficient heretability 0,03 až 0,20 a Schaeffer a Wilton (1981) u masných plemen koeficient 0,10. Kolomazník (1989, 1990) po mnohaletém sledování uvádí snížení výskytu puerperálních komplikací ze 41,9 na 15,4 % při přestavbě velkokapacitních kravínů na stlané technologie.

Jedním z limitujících předpokladů optimálního rozvoje chovu skotu je dosažení optimálního počtu zdravých a dobře odchovaných telat. Dobrý zdravotní stav je do značné míry podmíněn geneticky, avšak na jeho vývoj významně působí faktory vnějšího prostředí, především v kritických fázích vývoje telat. Např. Doležal aj. (1989) srovnává přírůstky hmotnosti při různých typech vzdušného odchovu a doporučuje hledání nových netradičních způsobů, které naplní biologické požadavky telat.

Zkušenosti z etologického sledování zvířat popisují Kovalčík a Kovalčíková (1990), kdy jako prioritní zdůrazňují vytvoření tzv. pohody zvířat, při které je možné při základní znalosti chování zvířat posoudit veškeré reakce na dané podmínky, včas zabezpečit případnou úpravu a včas zabránit ztrátám.

MATERIÁL A METODY

Výzkumná sledování byla prováděna ve třech lokalitách s průměrnou úrovní dosahovaných výsledků v průběhu celého roku. Spontánně probíhající volné porody byly sledovány pod širým nebem ve stlaných kotcích, umístěných na vnější straně stájí, kde byly soustřeďovány dva měsíce před porodem skupiny přibližně po dvaceti vysoko-březích kravách a jalovicích po celý rok, bez ohledu na počasí. Mimo metody přímého nepřetržitého pozorování byla vyhodnocována řada zooveterinárních údajů, které byly o těchto skupinách zvířat vedeny, zejména o zvířatech, která z časových důvodů nebylo možno přímo sledovat. U přímého pozorování byl především hodnocen a zaznamenáván časový průběh probíhajícího porodu, včetně všech změn v chování jak samotné krávy, tak chování ve skupině zvířat či chování jednotlivých skupin zvířat mezi sebou.

Podle stejných kritérií jsme hodnotili chování narozených telat k matce, chování telat mezi sebou a chování k jiným plemenicím. Při práci jsme používali metodu nezúčastněného pozorování, tedy zásadu nezasahovat při absolutní většině pozorovaných dějů mimo situaci hrozcící úhynem mláďete. Stejnou zásadou byla minimalizace všech negativních vlivů pozorováním, které by mohly ovlivnit jak chování jednotlivých zvířat, tak chování celé skupiny.

U všech takto odchovávaných zvířat byla shodně vypočtena a vyhodnocena délka gravidity, věk při porodu, pořadí porodu, mezidobí, servis perioda, průběh porodu, výskyt poporodních komplikací, dále pak poměr pohlaví telat včetně průměrů dosažené gravidity, parametry zdraví telat od porodu do odstavu, hmotnost a věk mláďete při odstavu, druh komplikací a léčení při případných onemocněních a řada dalších pomocných ukazatelů. Zvláště pečlivě byly vyhodnocovány všechny případy zmetání, mrtvě narozených telat a porodů s komplikacemi, u kterých byla nutná lidská pomoc. Komparačně byl srovnán vliv pohlaví na délku gravidity.

Jako kontrolní byly podle stejných kritérií hodnoceny porody a výsledky odchovu telat, které u těchto konkrétních zvířat proběhly o rok dříve v běžných podmínkách ve vazných nebo volných stájích při srovnatelné výživě.

VÝSLEDKY A DISKUSE

Přímým nezúčastněným etologickým pozorováním probíhajících spontánních volných porodů byly zjištěny značné rozdíly od průběhu klasických porodů jak v chování matek, tak nově narozených telat k nim a celkově zvířat mezi sebou. Jako hlavní symptom je možno charakterizovat výrazně těsné kontakty zvířat, které jsou velmi krátkou dobu po porodu nebo budou ve velmi krátké době rodit. Tato zvířata se drží při sobě, olizují se, očichávají se a společně pečují jak o nově narozená telata, tak společně požírají vypuzené plodové obaly. Činnost těchto zvířat se velmi často matce mláďete nelíbí, ale tato zvířata přitahovaná pravděpodobně pachem plodových vod, vytvářejí často kruh kolem čerstvě narozeného mláďete. Ostatní zvířata stáda se pouze na úvod seznámí s novým přírůstkem a pak o nově narozené tele ztratí výraznější zájem. Tato situace trvá přibližně jednu hodinu po porodu, tedy přibližně do doby, kdy je tele již důkladně olízáno a poměrně je již oschlé. Pak se matka drží u telete a při delším pozorování je při ležení patrné stupňovité rozvrstvení stáda, kdy tele leží vždy chráněno matkou a celková lokalizace zvířat charakterizuje vztahy nadřazenosti a podřazenosti ve stádě.

Během našich pozorování se nám nikdy nestalo, že by rodily dvě matky ve stejnou dobu, i když několikrát bylo možno pozorovat vypuzovací stadiu porodu u několika krav. Dokonce se nám jeví, že plemence „čeká“, tedy olizuje cizí tele, žere cizí lůžko a jak také ostatní ztrácejí výraznější zájem o tele, začíná rodit sama. Dalším charakteristickým příznakem je výrazné zkrácení všech časových etap porodu. Domníváme se, že při tomto způsobu odchovu jde o určitý návrat k chování nedomestikovaného skotu. U případů, které jsme sledovali, netrvala doba od prasknutí prvních plodových obalů do vlastního porodu déle než dvě hodiny a vlastní vypuzení mláďete trvalo 4–8 minut.

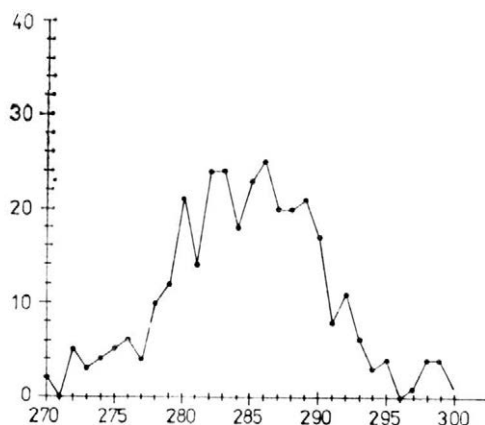
Tedy při znalosti základních symptomů chování zvířat je možné se značným stupněm pravděpodobnosti posoudit jejich reakci na dané podmínky, včas zabezpečit případnou úpravu, a tím zabránit ztrátám. Předčasné zasahování do procesu porodu považujeme za nežádoucí, má za následek zvýšení počtu porodních a poporodních komplikací. Nutnou zásadou je pouze vytvoření pohody zvířat zabezpečením dostatečného množství nutričně adekvátního krmiva a lehkého přístupné pitné vody. Tato pohoda se výrazně projeví v chování zvířat ve stádě.

Charakteristika sledované skupiny krav je uvedena v tab. I. Při rozboru hmotnosti při odstavu jsou zřejmé mezipohlavní rozdíly, kdy býčci jsou přibližně o 1 kg těžší. Vyhodnocením gravidity těchto zvířat bylo zjištěno, že při spontánních porodech si v průměru o 1,35 dne prodlužují graviditu. Tento jev je výraznější při porodu býčků, kdy gravidita

I. Základní charakteristika pokusných skupin — Basic characteristics of the test groups

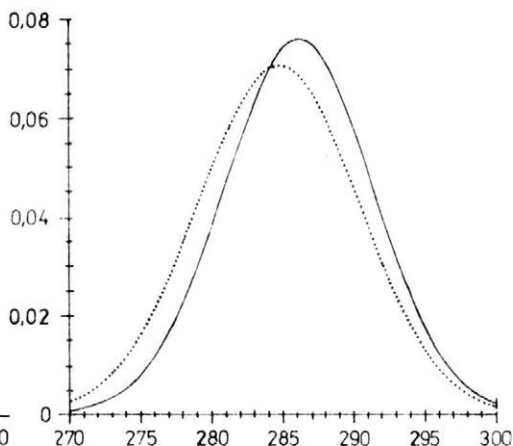
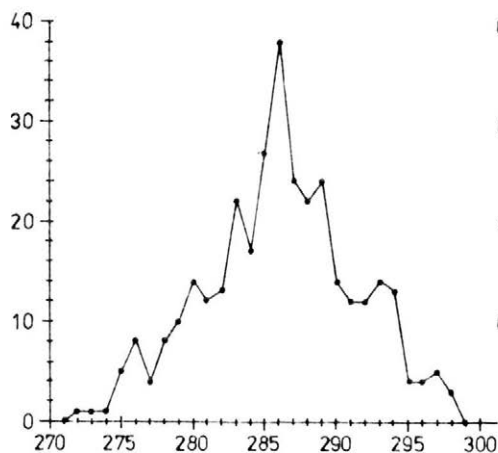
	Klasický porod ¹		Volný porod ²	
	průměr ³	odchylka ⁴	průměr ³	odchylka ⁴
Věk [dny] ⁵	1 021	239,1	1 394	252,5
Věk [roky] ⁶	2,79	0,65	3,81	0,69
Odstav [dny] ⁷	17,40	5,33	17,10	7,55
Hmotnost telat [kg] ⁸	49,12	6,21	49,98	6,83
Hmotnost jaloviček [kg] ¹⁰	49,96	6,48	50,74	6,92
Hmotnost býčků [kg] ⁹	48,42	5,94	49,20	6,66
Gravidita při porodu býčků [dny] ¹¹	284,84	5,33	286,56	5,22
Gravidita při porodu jaloviček [dny] ¹²	284,58	5,91	285,64	5,24

¹ traditional parturition, ² free parturition, ³ average, ⁴ deviation, ⁵ age [days], ⁶ age [years], ⁷ weaning [days], ⁸ calf weight [kg], ⁹ bullock weight, ¹⁰ heifer weight, ¹¹ pregnancy duration in the delivery of bullocks [days], ¹² pregnancy duration in the delivery of heifers [days]



1. Rozložení gravidit klasických porodů; osa x — délka gravidity ve dnech, osa y — frekvence výskytu — The distribution of pregnancies in traditional parturitions; x-axis — pregnancy duration in days, y-axis — frequency of occurrence

je delší v průměru o 1,72 dne (směrodatná odchylka 6,92), než u jaloviček v průměru 1,06 dne (směrodatná odchylka 6,66) v porovnání ke klasickému porodu těch samých zvířat o rok dříve. Mezdobí těchto porodů v průměru činilo 366,7 dne (směrodatná odchylka 35,9). Servis perioda mezi porody sledovaného souboru zvířat byla 81,7 dne (směrodatná odchylka 33,7). Do sledování byly zařazeny všechny gravidity,



2. Rozložení gravidit volných porodů; osa x — délka gravidity ve dnech, osa y — frekvence výskytu — The distribution of pregnancies in free parturitions; x-axis — pregnancy duration in days, y-axis — frequency of occurrence

3. Srovnání Gaussových křivek gravidity — délka gravidity ve dnech; — volný porod;klasický porod — Comparison of the Gaussian curves of pregnancy in free and traditional parturitions; x-axis — pregnancy duration in days; — free parturition; traditional parturition

které byly ve fyziologické normě, tedy v rozsahu 270—300 dní, a to u 332 zvířat. Rozložení gravidit klasických porodů je znázorněno na obr. 1, stejné rozložení gravidit volných porodů vyjadřuje obr. 2. Ze srovnání obou grafů vyplývá větší soustředění spontánních volných porodů do méně dnů, při maximálním výskytu porodů 287. den gravidity. Na obr. 3 jsou hodnoty frekvence gravidit sestaveny do Gaussovy křivky. Test špičatosti Gaussovy křivky nás upozorňuje na lepší fyziologické rozložení spontánních volných porodů.

Další výsledky uvádí tab. II, kde je potřeba zdůraznit zejména kladný vliv volných porodů na snížení výskytu syndromu zadržných lůžek. U námi sledovaného souboru tento výskyt při volných porodech poklesl o 43,7 %. Tedy ze 4,94 % výskytu ze stavu krav při klasických porodech na 2,78 % výskytu ve sledovaném souboru při použití technologie spontánních volných porodů.

Tab. III nám ukazuje procentuální srovnání poměru výskytu zmetání, mrtvě rozených telat a procenta výskytu dvojčat mezi klasickým a volným porodem těch samých zvířat. Výrazný je zejména pokles výskytu zmetání při provozování technologie volných porodů a odchovů.

Z dosažitelné odborné literatury nám doposud není známo obdobné srovnání klasických a volných porodů. Naše dosažené výsledky sledování volných porodů můžeme prozatím srovnat jen ve dvou ukazatelích

II. Rozbor výsledků porodů sledovaného souboru krav — Analysis of the results of parturitions in the test population of cows

Průměrné hodnoty ¹	Klasický porod ² n = 100 %	Volný porod ³	
		n	%
Gravidita [dny] ⁴	284,74	286,09	100,47
Gravidita při porodu býčků [dny] ⁵	284,84	286,56	100,60
Gravidita při porodu jaloviček [dny] ⁶	284,58	285,64	100,37
Gravidita při mrtvě narozených telatech [dny] ⁷	288,20	284,75	98,80
Retence sekundin [%] ⁸	4,94	2,78	56,27
Porodů [ks] ⁹	328	339	103,35
Počet býčků ¹⁰	160	165	103,12
Počet jaloviček ¹¹	151	163	107,94
Dvojčata [ks] ¹²	6	2	33,33
Zmetání [ks] ¹³	6	5	83,33
Mrtvě narozené [ks] ¹⁴	5	4	80,00

¹ average values, ² traditional parturition, ³ free parturition, ⁴ pregnancy duration [days], ⁵ pregnancy duration in the delivery of bullocks [days], ⁶ pregnancy duration in the delivery of heifers [days], ⁷ pregnancy duration in the delivery of stillborn calves [days], ⁸ afterbirth retention [%], ⁹ parturitions [number], ¹⁰ number of bullocks, ¹¹ number of heifers, ¹² twins [number], ¹³ abortions [number], ¹⁴ stillborn calves [number]

III. Srovnání procentního podílu z živě narozených telat v jedné lokalitě a u stejných zvířat — Comparison of the percentage of liveborn calves on one farm and in the same animals

	Klasický porod ¹	Volný porod ²
Zmetání ³	1,35	0,87
Mrtvě narozeno ⁴	3,98	3,62
Výskyt dvojčat ⁵	0,91	0,29

¹ traditional parturition, ² free parturition, ³ abortions, ⁴ stillborn calves, ⁵ twin occurrence

(procento výskytu mrtvě narozených telat a procento zadržných lůžek) s výsledky Řezníčka a Derdy (1990), kteří při rámcovém sledování zdravotního stavu obdobné skupiny zvířat uvádějí procento výskytu mrtvě rozených telat od 2,49 do 2,56 a procento výskytu zadržných lůžek od 11,66 do 14,49.

Námi sledovaný soubor zvířat vykazoval vyšší procento výskytu mrtvě rozených telat (3,68) a výrazně nižší procento výskytu zadržných lůžek (2,78). Zřejmě tyto výsledky souvisí jak s rozdílnou krmnou dávkou

a rozdílným zdravotním stavem zvířat, zejména v rozdílné úrovni metabolického narušení vnitřních orgánů neadekvátní výživou (zadržena lůžka), tak s rozdílnou úrovní sledování probíhajících spontánních volných porodů (mrtvě rozená telata).

V námi hodnoceném souboru zvířat probíhal tento dozor převážně jen v pracovní době ošetřovatelů, kteří krmili i v dalších stájích s klasickým provozem, tedy pouze po několik hodin denně.

Z dosavadních výsledků sledování volných porodů je možno konstatovat tyto hlavní přednosti před klasickými systémy provádění porodů krav:

- při volných spontánních porodech probíhají veškeré procesy bez rušivého zásahu člověka s plným uplatněním zafixovaných mateřských pudů zvířat;
- pro příští životaschopnost telete je ničím nenahraditelné důkladné olízáni, pro matku je olízáni a sání z vemene stejně důležité — vyvolává totiž oxytocinový efekt, tak důležitý pro vypuzení zbytků plodových vod a lůžka, tedy pro optimální nástup involuce dělohy;
- tento způsob odchovu vytváří těsnější vazby matek na telata a pravděpodobně zabezpečuje dobré napití telat mlezivem;
- při spontánním volném telení dochází běžně k placentofagii;
- i když nebylo prováděno ošetření pupků po porodu, dochází jen velmi výjimečně k výskytu omphalophlebitid;
- celková doba porodu je nejen zkrácena, ale následně ve svém důsledku snižuje výskyt všech poporodních komplikací;
- při spontánním volném telení jsou zvířata uchráněna od většiny stresových stavů; pro rychlý návyk je však nutné vytvářet porodní skupiny krav ze zvířat přibližně stejné hmotnosti, odrohovaných nebo všechny s rohy a s dostatečným předstihem (nejméně dva měsíce před porodem) pro vytvoření vhodné stádové hierarchie;
- po sestavení skupiny je nutná kontrola, zda jsou všechna zvířata do stáda přijata (výskyt šrámů po rozích či po boji) a při nálezů takového zvířete je nutné ho ze skupiny vyřadit;
- při samovolném volném telení odpadá převážná většina manuální práce ošetřovatelů a zootechniků, jejich činnost musí být zaměřena na pozorování chování zvířat, zhodnocení a rozhodnutí, zda je třeba odborného zásahu; tato činnost ovlivňuje množství mrtvě rozených telat a musí být požadována i od nočních hlídačů;
- z hlediska povětrnostních vlivů nebyly zjištěny negativní důsledky na zdraví zvířat, zásadou však musí být zajištění dostatečného množství suché podestýlky a ochrana před větrem.

ZÁVĚR

Při použití technologie spontánních volných porodů nastává prodloužení gravidity zvířat v průměru u býčků o 1,72 dne (průměr 286,5 dne při směrodatné odchylce 5,22), u jaloviček o 1,06 dne (285,6 dne, směrodatná odchylka 5,24). Při spontánním porodu dochází ke zkrácení délky vypuzovacího stadia na maximálně dvě hodiny; vlastní vypuzení telete trvá 10–15 minut. Byl zjištěn úbytek výskytu zadržovaných lůžek ze 4,94 na 2,78 % a rozdíl v hmotnosti mezi pohlavími při odstavu telat;

hmotnost u býčků je o 1,54 kg vyšší při obou porodních systémech. Podrobné sledování následných ekonomických a zdravotních výhod bude dále vyhodnoceno.

Literatura

- DOLEŽAL, O. — DOLEČEK, F. — KNÍŽEK, J.: Vzdušný odchov telat do 6 měsíců. In: Sbor. Ref. Perspektivy odchovu telat, Třeboň 1989, s. 48—51.
- KOLOMAZNÍK, J.: Vliv technologií velkokapacitních kravínů na zdravotní stav zvířat. *Náš chov*, 49, 1989, č. 9, s. 401—402.
- KOLOMAZNÍK, J. et al.: Produkční schopnost skotu ve vztahu k interiéru a podmínkám chovu. [Závěrečná výzkumná zpráva.] Brno, Vysoká škola zemědělská 1990.
- KOVALČÍK, K. — KOVALČIKOVÁ, B.: Uplatnění etologie v zootechnice. *Náš chov*, 50, 1990, č. 8, s. 350—351.
- KUDLÁČ, E. — KOZUMPLÍK, J.: Příčiny a formy perinatálních a perinatálních ztrát u skotu a možnosti jejich prevence. *Náš chov*, 39, 1979, č. 7, s. 287—289.
- MAHON, G. T. A. et al.: Statistical efficiency in bull progeny testing for calving difficulty. *Livestock Prod. Sci.*, 3, 1976, s. 147—153.
- MAULE, K.: Hodnocení výsledků živočišné výroby v roce 1989. *Náš chov*, 50, 1990, č. 6, s. 241—244.
- MEY, G. J. W.: Calving difficulties and perinatal mortality in four daughter groups of MRY bulls. *Livestock Prod. Sci.*, 5, 1978, s. 405—413.
- OLDENBROEK, J. K.: Breed and crossbreeding effects in a crossing experiment between Dutch Friesian and Holstein Friesian cattle. *Livestock Prod. Sci.*, 7, 1980, s. 235—241.
- PHILIPSON, J. et al.: Sire evaluation standards and breeding strategies for limiting dystocia and still birth. *Livestock Prod. Sci.*, 6, 1979, s. 111—125.
- POLLAK, E. J. — FREEMAN, A. E.: Parameter estimation and size evaluation for dystocia and calf size in Holsteins. *J. Dairy Sci.*, 59, 1976, s. 1817—1824.
- ŘEZNÍČEK, J. — DERDA, J.: Zkušenosti z provozu volné skupinové porodny krav. *Veterinářství*, 40, 1990, č. 1, s. 6—7.
- SCHAEFFER, L. R. — WILTON, J. W.: Comparison of single and multiple trait beef sire evaluation. *Can. J. anim. Sci.*, 61, 1981, s. 565—573.
- SMIDT, D. et al.: Ergebnisse mehrjähriger Aufzeichnungen über Geburtsverlauf und Kälberverluste in vier Versuchsbetrieben. *Tierzüchter*, 29, 1977, s. 248—252.
- SUCHÁNEK, B. — NEJEZCHLEBA, J.: Průběh porodů, mortalita a hmotnost telat při narození u kříženců F 10 český strakatý × červený holštýnský skot. [Výzkumná zpráva.] Rapotín, Výzkumný ústav pro chov skotu 1976.
- ŠTRÁFELDA, J.: Hodnocení průběhu porodů u krav chovaných v ČSR. *Živoč. Vyr.*, 35, č. 2, 1990, s. 97—103.
- ZRALÝ, Z. et al.: Uterostimul — nový neantibiotický přípravek k léčbě poporodních zánětů dojníc. *Náš chov*, 50, 1990, č. 9, s. 392—393.

Došlo dne 2. 7. 1991

KOLOMAZNÍK, J. (University of Agriculture, Brno): *The physiology of free parturition of cows*. *Veter. Med. (Praha)*, 37, 1992 (4): 193—201.

In the year 1990 free parturitions of 339 cows were followed on three farms; these parturitions were compared with the last parturitions of these cows when the tender's assistance was available. The spontaneous free parturitions were followed in the open air in litter boxes which were located outside the barns where the groups of about twenty highly pregnant cows and heifers were housed for two months before their parturitions all the year round irrespective of the weather conditions. In addition to direct continuous observations, a host of zooveterinary data filed for these groups of animals were evaluated, concerning particularly those animals which could not be directly followed for the time reasons. Through direct observations the time schedule of the given parturition was evaluated and recorded above all, including all changes in the behaviour of the cow itself, and also behavioural changes in the group of animals or the behaviour of particular groups of animals toward each other. Applying the same criteria, the behaviour of born calves toward the mother, behaviour of calves toward each other and their behaviour toward other breeding cows was evaluated. The method of disinterested observation was used, this means the principle of non-interference with the most actions observed, with the exception of such situations that could result in the calf death. Another principle was to minimize through these

observations all negative effects that could influence the behaviour of individual animals and also the behaviour of the whole group. The characteristics calculated in the same way in all animals kept in this way; pregnancy duration, age at parturition, parturition order, calving interval, service period, parturition course, occurrence of postpartal complications, male to female ratios in calves including the averages of the given pregnancy, calf health parameters recorded from birth to weaning, calf weight and age at weaning, sort of complications and treatment of potential diseases, and other additional parameters. Care was taken to evaluate all abortions, still-born calves and dystocias when the tender's assistance was required. By comparison, the effect of sex on pregnancy duration was evaluated. The parturitions and the results of calf rearing documented in these animals in the previous year when they were kept in tie or loose stalls in normal conditions on relatively the same diet, were taken as controls and they were evaluated by the same criteria. Given the hitherto results of the observations of free parturitions, it is possible preliminarily to review the main regularities and advantages in comparison with the traditional systems of cow parturition execution: In free parturitions all processes take place without the man's interference and with full manifestation of fixed maternal instincts of the animals. Allover licking cannot be replaced by any other treatment with respect to the calf's viability. On the mother's side, the licking and the calf sucking from the udder is also of vital importance; the oxytocin effect is evoked, which is so important for the expulsion of parturitions was not only shortened, but it also resulted in the lower occurrence of uterus involution. This sort of breeding helps create closer linkages between the mother and the calves, and it also provides probably for the calf sufficient intake of colostrum. The placentophagy is common in free parturitions. Although the navels were not treated after parturitions, omphalophlebitis occurred sporadically. The total time of parturitions was not only shortened, but it also resulted in the lower occurrence of all postpartal complications. The animals avoid most stress situations in free parturitions. For accelerated habituation of the animals it is necessary to build the groups of cows of about the same weight, dehorned or all with horns; these groups of expectant cows should be built in time (at least two months before parturitions) to facilitate the origin of the convenient her hierarchy. After the group building the check is required if all animals have been accepted to the herd (scratches from horns or after fight), and if there is such a hurt animal, it must be eliminated from the group. In free parturitions most of the manual work done by tenders and zootechnicians is removed. Their activities should consist in observations of the animal behaviour, in the evaluation and decisions concerning their skilled assistance. The tender's activity will influence the number of stillborn calves, and it will also be required from night-shift tenders. The weather conditions were not found to have any negative impacts on the animal health. But the requirement is to provide a sufficient amount of dry litter and wind protection. If the technology of free parturitions is used, the pregnancy of cows is prolonged on an average by 1.72 days in the bullocks (the average of 286.5 days with the standard deviation 5.22), and by 1.06 days in the heifers (285.6 days, standard deviation 5.24). Other results about the test population of the cows are shown in Tabs. I—III. The expulsion phase is shortened to maximally two hours in free parturitions. The expulsion proper of the calf lasts 10 to 15 min. Placenta retentions decreased from 4.94 to 2.78 %. There were differences in the weight between the males and females when the calves were weaned; the bullock weight was higher by 1.54 kg in both calving systems. Figs. 1 to 3 show the distribution of the pregnancies of traditional and free parturitions and the density of pregnancy frequency in the experimental and control groups. The economic and health consequences continue to be investigated.

cow; free parturition; pregnancy; ethology

Adresa autora:

MVDr. Jiří Kolomazník, Vysoká škola zemědělská, Zemědělská 1, 613 00 Brno

Upozorňujeme čtenáře, že v dvojčísle 5—6/92 časopisu

VETERINÁRNÍ MEDICÍNA

mají být uveřejněny tyto příspěvky:

Levkutová M., Bajová V.: Vplyv prípravku Zindep na hladinu B-lymfocytov u gravidných kráv

Holovská K., Lenártová V., Rybošová E., Oriňák A., Stachová M.: Vlastnosti a regulácia glutamátdehydrogenázy izolovanej z bachora kmeňa *Bacteroides rumenicola* ssp. *rumenicola* u daniela

Raszyk J.: Praktický imunologický kožný test u selat

Vendrák T., Jalč D., Zelenák I., Siroka P.: Vplyv defaunácie na fermentáciu *in vitro*

Legáth J.: Zmeny v zastúpení aminokyselín v hydrolyzátoch baktérií adherovaných na stenu bachora oviec pri skrmovaní diéty s nízkym a vysokým obsahom dusíka

Maraček I., Maračeková Z., Hendrichovský V., Mareta M.: Objem jadier buniek zrnitej vrstvy a vnútorného puzdra najväčšieho dominantného aj atretického terciárneho folikulu oviec v procese selekcie

Molnárová M., Arendarčík J., Molnár P.: Antiproteolytické aktivity krvnej plazmy a cervikálneho hlienu oviec po hormonálnom ovplyvnení ovárií a ožarovaní gama lúčmi (2,45 Gy) v anestrii

Jankela J.: Vplyv mastných kyselín v krmive na aktivitu xantin dehydrogenázy u prepelice japonskej

Mezerová J., Němeček L., Snášil M.: Kontinuální intravenózní nestézie psa směsí xylazinu, ketaminu a guaifenezinu

Bukovjan K., Bukovjanová E., Fojtík P., Dvořák M., Matoušková E.: Vybrané biogenní prvky v krevní plazmě zaječí zvěře (*Lepus europaeus* Pall.)

VYUŽITIE KOŽNÉHO TESTU PRE HODNOTENIE AKTUÁLNEJ ÚROVNE CELULÁRNEJ IMUNITY A JEJ ÚROVNE PO EXPERIMENTÁLNEJ APLIKÁCIÍ GLUKÁNU A LEVAMIZOLU U VÝKRMOVÝCH BÝČKOV

Š. Paulík, Š. Švrček, Z. Beníšek, M. Húska, A. Ďurove

PAULÍK, Š. — ŠVRČEK, Š. — BENÍŠEK, Z. — HÚSKA, M. — ĎUROVE, A. (Univerzita veterinárskeho lekárstva, Košice): *Využitie kožného testu pre hodnotenie aktuálnej úrovne celulárnej imunity a jej úrovne po experimentálnej aplikácii glukánu a levamizolu u výkrmových býčkov*. Veter. Med. (Praha), 37, 1992 (4): 203—212.

Hodnotili sme použiteľnosť kožného testu indukovaného dinitrofluorobenzénom (DNFB) pre určovanie aktuálnej úrovne celulárnej imunity (CI) *in vivo* a jej stavu po experimentálnom imunomodulačnom zásahu o 80 kusov výkrmových býčkov vo veku 10—11 mesiacov na dvoch hospodárstvach (po 40 zvierat). Pri zvolenom metodickom postupe predstavovala východzia priemerná hodnota reakčného čísla u 80 býčkov $4,5 \pm 1,5$ mm, pričom až u 77,5 % zvierat sa jeho úroveň pohybovala v rozmedzí 3,6—9,6 mm, u 18,7 % od 2,0 do 3,5 mm a len u 3,8 % pod 2,0 mm. Zjavná expresia reakcie poukazuje na možnosť využívania uvedeného metodického postupu kožného testu za použitia DNFB k určovaniu úrovne CI u hovädzieho dobytku. Zaznamenané priemerné hodnoty CI ($4,0 \pm 1,3$ mm), koncentrácie celkových sérových Ig ($28,3 \pm 4,4$ j ZST) a sérového IgG ($18,4 \pm 3,5$ g · l⁻¹) na hospodárstve 1 boli signifikantne nižšie ($P < 0,01$, resp. 0,05) než na hospodárstve 2 (t. j. $4,9 \pm 1,6$ mm; $32,5 \pm 3,8$ j ZST; $20,3 \pm 3,5$ g · l⁻¹), čo poukazuje na rozdielnu celulárnu a humorálnu imunologickú vybavenosť zvierat na porovnávaných hospodárstvach. Rozdiel na uvedených hospodárstvach bol zaznamenaný aj pri určovaní vplyvu použitých imunomodulačných látok na úroveň CI. Kým na hospodárstve 1 bol preukazný pozitívny efekt glukánu (rozpuštný, fungálny; aplikovaný v dávke 5, resp. 10 mg · kg⁻¹ ž. h.) na kožnú oneskorenú precitlivelostnú reakciu, tak v porovnaní k jej úrovni pred jeho aplikáciou ($P < 0,05$), ako aj v porovnaní k úrovni u kontrolnej skupiny zvierat ($P < 0,05$, resp. 0,01) po aplikácii, na hospodárstve 2 nebol takýto vplyv zaznamenaný. Pri levamizole (5 mg · kg⁻¹ ž. h.) sme pozitívny účinok na CI nezistili ani na jednom hospodárstve.

výkrmové býčky; kožný test; celulárna imunita; dinitrofluorobenzén; imunomodulácia; glukán; levamizol; sérové imunoglobulíny

Kožné testy umožňujú hodnotiť imunitný stav pacienta, t. j. získať informáciu o jednej zo zložiek imunologickej reaktivity, celulárnej imunity (CI). Jedným z parametrov využívaných k určeniu CI u zvierat je oneskorená precitlivelosť, meraná kožnou odpoveďou po senzibilizácii (Hodgin a i., 1978; Woodard a i., 1978; Thilsted a i., 1979 a ďalší). Z chemických senzibilizátorov využívaných v kožnom teste sú aj 2,4-dinitrofluorobenzén (DNFB; Hansbrough a i., 1983; Smith

a i., 1987), resp. 2,4-dinitrochlórbenzén (DNCB; Brummersted a Basse, 1973; Reddi a i., 1981). V posledných rokoch veľmi aktuálnym problémom je imunomodulácia. Imunomodulátory sú substancie rôzneho pôvodu, pričom mnohé z nich majú schopnosť pozitívne modulať imunitnú odpoveď (Sedlacek a i., 1986). V našej práci sme použili levamizol a glukán.

Cieľom práce bolo zistiť použiteľnosť kožného testu indukovaného DNFB pre kvantitatívne stanovenie aktuálnej úrovne CI a jej úrovne po experimentálnom imunomodulačnom zásahu u výkrmových býčkov.

MATERIÁL A METÓDA

POKUSNÉ ZVIERATÁ

U osemdesiatich býčkov o priemernej hmotnosti 300 kg (približný vek 10–11 mesiacov) bola na dvoch hospodárstvach (po 40 zvierat) stanovená aktuálna (počiatočná) úroveň CI kožným testom a úroveň humorálnej imunity kvantifikáciou celkových sérových imunoglobulínov (CS—Ig) a sérového IgG. Na základe stupňa aktuálnej úrovne CI bolo dvadsať býčkov na každom hospodárstve rozdelených do štyroch experimentálnych skupín (po 5 zvierat); s približne rovnakou priemernou hodnotou kožnej reakcie. U týchto zvierat bola sledovaná úroveň CI po aplikácii použitých imunomodulátorov.

POKUSNÉ SKUPINY ZVIERAT

Prvá skupina býčkov (skupina K) slúžila ako kontrola (bez aplikácie imunomodulátorov). Ďalším skupinám zvierat bol v deň stanovenia aktuálnej úrovne CI a ich rozdelenia do skupín aplikovaný levamizol (Nilverm inj., Bioveta Nitra) subkutánne, v dávke $5 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ ž. h. (skupina L); resp. roztok glukánu (rozpuštný, fungálny — hľiva ustricová, Bioveta Nitra) intramuskulárne, v dávke $5 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ ž. h. (skupina G5); resp. $10 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ ž. h. (skupina G10).

KVANTIFIKÁCIA CELULÁRNEJ IMUNITY SENZIBILIZÁCIOU DNFB

DNFB bol použitý vo forme acetón—olivový olej (4:1) v 0,5% (pre senzibilizáciu) a 0,2% (pre čelenž) koncentracii; aplikovaný intradermálne, v objeme 0,2 ml. Čelenž bola vykonaná na 14. deň po senzibilizácii, t. j. deň pred aplikáciou imunomodulátorov (pre stanovenie aktuálnej úrovne CI) a na 30. deň po ich aplikácii (pre stanovenie imunomodulačného vplyvu). Reakcia bola odčítaná za 24 hodín po čelenži zmeraním hrúbky kože mikrometrom. Rozdiel hodnoty pred čelenžou a 24 hodín po čelenži označujeme ako lokálne zhrubnutie kože (LZK), resp. reakčné číslo vyjadrené v mm. Hodnota LZK charakterizuje úroveň CI *in vivo* u hovädzieho dobytká (Reddi a i., 1981).

STANOVENIE KONCENTRÁCIE SÉROVÝCH IMUNOGLOBULÍNŮV

Koncentrácia celkových sérových Ig (CS—Ig) bola stanovená turbidimetrickou metódou podľa McEwana a i. (1970). Za fyziologické rozpätie sme považovali koncentráciu 26–46 j. ZST (Slanina a i., 1979). Koncentráciu sérového IgG sme stanovili metódou jednoduchej radiálnej imunodifúzie (Mancini a i., 1965) za použitia antiséra IgG a štandardy (Bioveta Nitra, MVDr. J. Zajac). Za fyziologické rozpätie sme považovali koncentráciu získanú na základe vysoko signifikantnej korelácie ($P < 0,01$) medzi koncentráciou CS—Ig a koncentráciou sérového IgG. Na hospodárstve 1 úrovni 26–46 j. ZST zodpovedala koncentrácia $17,3\text{--}26,9 \text{ g} \cdot \text{l}^{-1}$ IgG; na hospodárstve 2 to predstavovalo koncentráciu $16,9\text{--}27,5 \text{ g} \cdot \text{l}^{-1}$ IgG.

ŠTATISTICKÁ VÝZNAMNOSŤ

Použili isme *t*-test pre párované hodnoty (*Pt*-test), Studentov *t*-test (*St*-test) a korelačnú analýzu (Poláček, 1984).

VÝSLEDKY

Na možnosť využitia kožného testu indukovaného DNFB k získaniu informácie o aktuálnom stave CI u hovädzieho dobytku poukazujú stanovené hodnoty LZK na 80 býčkoch na dvoch hospodárstvach (hosp.). Celkove len u 3 zvierat (3,8 %) sme zaznamenali hodnotu kožnej reakcie pod 2,0 mm, u 15 zvierat od 2,0 do 3,5 mm (18,7 %) a až u 77,5 % (62 zvierat) nad 3,5 mm (od 3,6 do 9,6 mm).

Percentuálne zastúpenie zvierat rozdelených do skupín podľa úrovne LZK na sledovaných hospodárstvach uvádza tab. I. Z nej vyplýva, že relatívne lepšia aktuálna vybavenosť zvierat z hľadiska CI bola na hosp. 2,

I. Percentuálne zastúpenie zvierat podľa aktuálnej úrovne celulárnej imunity — The percentual representation of animals according to the actual level of cellular immunity

Chov ¹ (n)	Lokálne zhrubnutie kože — LZK [mm] ²			
	do ³ 3,5* (n)	3,6—5,0 (n)	5,1—6,0 (n)	nad ⁴ 6,0 (n)
1 (40)	32,5 (13)	47,5 (19)	15,0 (6)	5,0 (2)
2 (40)	12,5 (5)	42,5 (17)	30,0 (12)	15,0 (6)

* = hodnota LZK pod 2,0 mm bola zistená u dvoch zvierat v chove 1 a jedného zvieraťa v chove 2 — * = the LZK value lower than 2.0 mm was recorded in two animals from breed 1 and in one animal from breed 2

¹breed, ²local skin reaction LZK [mm], ³less than, ⁴more than

II. Percentuálne zastúpenie zvierat podľa aktuálnej úrovne ukazovateľov humorálnej imunity — The percentual representation of animals according to the actual level of humoral immunity parameters

Chov ¹ (n)	Koncentrácia sérových imunoglobulínov ²			
	CS—Ig* [j. ZST]		IgG [g · l ⁻¹]	
	do 26 (n)	nad 26 (n)	do 17 (n)	nad 17 (n)
1 (40)	30,0 (12)	70,0 (28)	42,5 (17)	57,5 (23)
2 (40)	5,0 (2)	95,0 (30)	15,0 (6)	85,0 (34)

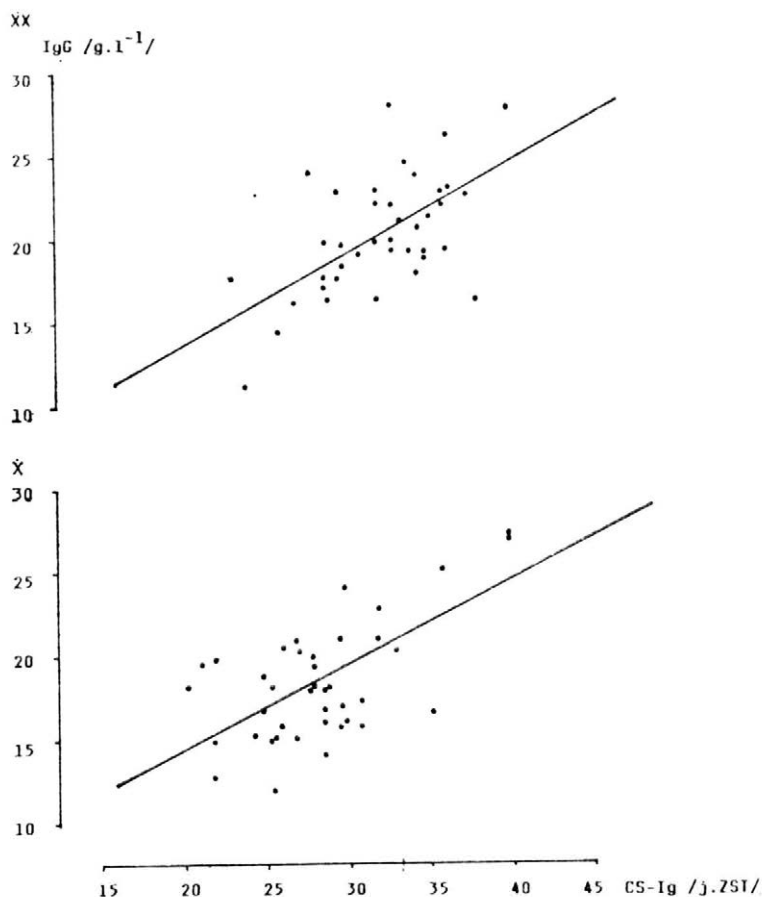
* = celkové sérové imunoglobulíny — * = total serum immunoglobulins

¹ breed, ² serum immunoglobulin concentration

na čo poukazuje rozdielne percento zvierat zaradených do skupín s hodnotami LZK do 3,5 mm a nad 5,0 mm. Potvrdzuje to aj priemerná hodnota LZK, ktorej úroveň $4,0 \pm 1,3$ mm na hosp. 1 bola signifikantne ($P < 0,01$) nižšia, ako na hosp. 2 ($4,9 \pm 1,6$ mm).

Odlišnosť imunologickej reaktivity zvierat sme na uvedených hospodárstvach zaznamenali aj pri hodnotení aktuálnej úrovne ukazovateľov humorálnej imunity. Pri býčkoch na hosp. 1 bola zistená koncentrácia CS—Ig ($28,3 \pm 4,4$ j. ZST) a sérového IgG ($18,4 \pm 3,5$ g · l⁻¹) štatisticky preukazne nižšia ($P < 0,01$, resp. 0,05) ako na hosp. 2 ($32,5 \pm 3,8$ j. ZST, resp. $20,3 \pm 3,5$ g · l⁻¹). Poukazuje na to aj rozdiel v percentálnom zastúpení býčkov s hypo- a normo-immunoglobulinémiou na uvedených hospodárstvach (tab. II). Takéto rozdelenie zvierat podľa koncentrácie sérového IgG nám umožnilo stanovenie fyziologického rozpätia, a to na základe preukázanej vysoko signifikantnej pozitívnej korelácie ($P < 0,01$) medzi hodnotami CS—Ig a sérového IgG (obr. 1).

Rozdiely imunologickej reaktivity zvierat na uvedených hospodárstvach sme zaznamenali aj pri určovaní vplyvu použitých imunomodu-



1. Korelácia hodnôt celkových sérových Ig a sérového IgG; x — chov 1 ($r = 0,61$; $P < 0,01$); xx — chov 2 ($r = 0,58$; $P < 0,01$) — The correlation of the values of total serum Ig and serum IgG; x — breed 1 ($r = 0,61$; $P < 0,01$); xx — breed 2 ($r = 0,58$; $P < 0,01$).

III. Kvantifikácia celulárnej imunitnej odpovede kožným testom po aplikácii imunomodulátorov — The quantification of cellular immunity response to a skin test after immunomodulator application

Skupina ¹	Lokálne zhrubnutie kože — LZK (mm; $\bar{x} \pm s$) ²		Pt-test*
	pred aplikáciou ³	po aplikácii ⁴	
K	3,9 $\pm$ 1,4	4,2 $\pm$ 0,7 ^{a b}	$P > 0,05$
L	4,0 $\pm$ 1,6	4,1 $\pm$ 0,9 ^{c d}	$P > 0,05$
G 5	4,5 $\pm$ 0,7	6,8 $\pm$ 1,5 ^{a c}	$P < 0,05$
G 10	4,1 $\pm$ 0,7	6,0 $\pm$ 0,6 ^{b d}	$P < 0,05$

* = *t*-test pre párované hodnoty; Studentov *t*-test: a, c = $P < 0,05$; b, d = $P < 0,01$; hodnoty označené rovnakým písmenom sú signifikantne rozdielne — * — *t*-test for paired values; Student's *t*-test: a, c = $P < 0,05$; b, d = $P < 0,01$; the values denoted with the same letter are significantly different

¹ group, ² locally reaction of skin LZK (mm; $\bar{x} \pm s$), ³ before application, ⁴ after application

lačných látok na úroveň CI. Kým na hosp. 1 (tab. III) sme u zvierat skupín G5 a G10 zaznamenali na 30. deň po aplikácii imunomodulátorov signifikantný vzostup priemernej hodnoty LZK tak v porovnaní k jej hodnote pred aplikáciou (*Pt*-test; $P < 0,05$), ako aj v porovnaní k jej úrovni so skupinou K (pri G5 — $P < 0,05$; pri G10 — $P < 0,01$) a L (pri G5 — $P < 0,05$; pri G10 — $P < 0,01$) po aplikácii (*St*-test), na hosp. 2 nebol takýto výrazný imunostimulačný efekt pozorovaný ani u jednej skupiny zvierat. Imunomodulačný efekt levamizolu (pri použitej dávke) nebol preukázaný u zvierat ani na jednom hospodárstve.

DISKUSIA

Bunkou sprostredkovaná imunitná odpoveď je dôležitou súčasťou imunitnej obrany organizmu proti intracelulárnym parazitom (Duffus, 1989). K testom, ktoré sa používajú k hodnoteniu úrovne bunečnej imunity u zvierat, patrí aj kožný test oneskorenej precitlivosti (Moreno — Lopéz, 1977; Woodard a i., 1981 a ďalší). Indukcia a expresia oneskorenej kožnej precitlivosti (OKP) pri použití DNFB je citlivým a kvantifikovateľným ukazovateľom CI *in vivo* (Hansbrough a i., 1983; Smith a i., 1987). U hovädzieho dobytku je kožná reakcia voči DNCB výsledkom lokálnych histologických zmien, ktoré sú charakterizované difúznou infiltráciou lymfocytov, makrofágov a malého počtu neutrofilov pod epidermis (Brummerstedt a Basse, 1973; Reddi a i., 1981).

Test OKP je bežne používaný v humánnej medicíne pri určovaní CI odpovede k rôznym senzibilizátorom (Procházková a i., 1986). O jeho využívaní u hovädzieho dobytku je pomerne málo údajov. Preto účel sú používané buď špecifické antigény, alebo chemické senzibilizátory. Príkladom špecifických antigénov k určeniu stupňa CI u hovädzieho dobytku je napr. PPD tuberkulín z *M. bovis* (Woodard

a i., 1978, 1981) a antigén PIV—3 (Moreno — Lopéz, 1977), ktoré boli v kožnom teste aplikované intradermálne v objeme 0,1, resp. 0,2 ml. Ako chemický senzibilizátor bol u tohto druhu zvierat použitý 2% DNCB v acetóne, aplikovaný perkutánne, v objeme 0,5 mm u dospelých zvierat (Reddi a i., 1981) a v dávke 0,1 ml u teliat (Jennings, 1979), alebo 2%, resp. 0,2% DNCB v alkohole, aplikovaný perkutánne, v množstve 2 ml u teliat (Brummerstedt a Basse, 1973). Paulík a Vrzgula (1989) použili u hovädzieho dobytká rôznej vekovej kategórie k senzibilizácii 0,5% DNFB v roztoku acetón—olivový olej, aplikovaný intradermálne, v množstve 0,1, resp. 0,2 ml. Rozdiel v metodickom postupe uvedených autorov bol aj pri navodzovaní senzibilizácie. Kým Brummerstedt a Basse (1973) ju vykonávali sedem a Reddi a i. (1981) tri dni po sebe, Jennings (1979) a Paulík a Vrzgula (1989) volili v tomto smere jednorázovú aplikáciu. Čelenž bola citovanými autormi vykonaná na 14. deň po senzibilizácii, rovnakou koncentráciou a množstvom a spôsobom aplikácie senzibilizátora, až na Paulíka a Vrzgulu (1989), ktorí v tomto prípade pozmenili koncentráciu (0,1 %) a spôsob podania (perkutánne).

V prezentovanej práci sme zvolili rovnaký metodický postup, ako v našej predošlej práci, okrem rozdielného spôsobu aplikácie (intradermálne) a koncentrácie (0,2 %) DNFB pri čelenži. Odčítanie kožnej reakcie bolo vyššie uvedenými autormi vykonané za 24, resp. 48 h po čelenži, pričom jej stupeň priamo v merateľných jednotkách vyjadroval Reddi a i. (1981) a Paulík a Vrzgula (1989). Brummerstedt a Basse (1973) zistili v porovnaní ku kontrolnej aplikácii podobný stupeň klinického obrazu kožnej reakcie po použití 2% a 0,2% DNCB, pričom však nepriaznivý efekt (tvorba krúst) aplikácie DNCB bol slabší v prípade nižšej koncentrácie. Podobné zistenie sme zaznamenali (Paulík a Vrzgula, 1989) pri čelenži (perkutánna aplikácia s DNFB o koncentracii 0,5 % a vyššej, čo sťažovalo presnejšie hodnotenie kožnej reakcie z dôvodu vytvorenia netypického zhrubnutia kože. Reddi a i. (1981) však uvádzajú, že nimi zvolený postup navodzovania senzibilizácie a expresie kožnej reakcie pri použití 2% DNCB (na plochu 28,3 cm²) bol dostatočný k vyvolaniu zreteľnej reakcie bez výraznejších nepriaznivých vedľajších afekcií na koži. Po intradermálnej aplikácii DNFB (0,2%) pri čelenži sme síce zaznamenali slabú lokálnu deštrukciu kože v mieste vpichu, táto však v žiadnom prípade neovplyvňovala presné zmeranie vzniklej kožnej indurácie.

Pri nami zvolenom metodickom postupe sledovania úrovne CI kožným testom sme u osemdesiatich sledovaných býčkov (vek 10—11 mesiacov) zaznamenali priemernú hodnotu LZK $4,5 \pm 1,5$ mm, čo je takmer zhodné ($5,0 \pm 1,9$ mm) s predošlým naším pozorovaním u tejto vekovej kategórie zvierat (Paulík a Vrzgula, 1989); pričom až u 77,5 % z nich jej úroveň sa pohybovala v rozmedzí 3,6—9,6 mm, u 18,7 % v rozmedzí 2,0—3,5 mm a len u 3,8 % (3 zvieratá) pod 2 mm. Dosiahnutý stupeň expresie oneskorenej kožnej precitlivelosti bol takmer v každom prípade zjavne vyjadrený a merateľný, čo poukazuje na možnosť využívania kožného testu za použitia DNFB k určovaniu aktuálnej úrovne CI u hovädzieho dobytká. Moreno — Lopéz a i. (1976) uvádzajú, že pozitívna kožná reakcia bola dobre viditeľná, palpovateľná a merateľná dokonca aj pri zhrubnutí kože len o 1,5 mm, čo zjavne dokresľuje dosiahnuté výsledky v prezentovanej práci, ako aj v predošlej práci

u mladších vekových kategórií teliat (Paulík a Vrzgula, 1989).

Reddi a i. (1981) zaznamenali priemernú hodnotu kožnej reakcie $10,0 \pm 2,0$ mm za 24 h po čelenži u dojnic veku 8–10 rokov. Slabšiu úroveň odozvy v našom sledovaní možno snáď pripísať rozdielnému postupu pri navodzovaní senzibilizácie (pričom jednorázová interdermálna senzibilizácia je praktickejšia), prípadne aj vekovej závislosti (Salvin a i., 1962; Moreno — Lopéz a i., 1976; Moreno — Lopéz, 1977; Hodgins a i., 1978; Paulík a Vrzgula, 1989).

Z pohľadu skupinového hodnotenia CI na základe kožného testu usudzujeme, že u zvierat na hosp. 2 bol jej aktuálny stav v porovnaní k zvieratám na hosp. 1 na vyššej úrovni, čo možno pripísať aj rozdielnym chovateľským, zdravotným a ošetrovateľským podmienkam. Reddi a i. (1981) uvádzajú, že DNCB test môže byť považovaný za štandardnú techniku pre určovanie CI odpovede u hovädzieho dobytku, avšak sú ešte potrebné ďalšie štúdiá k objasneniu jeho prospešného používania za odlišných špecifických a nešpecifických zdravotných pomerov.

Levamisol je syntetická imunomodulačná látka pôsobiaca hlavne v smere celulárnej imunity. Reštauropuje ju k normálu ak je depresovaná, ale nehyperstimuluje pri jej zachovalej funkčnosti. (Symoens a Rosenthal, 1977). V spektre účinnosti levamisolu je hlavne aktivácia T lymfocytov (Lichtenfeld a i., 1976; Paulík a i., 1989 a ďalší) a fagocytov (Al-Ibrahim a i., 1977; Jayappa a Loken, 1982 a ďalší), pravdepodobne ako cGMP inducer (Brunner a Muscoplat, 1980). Sú údaje aj o jeho pozitívnom účinku na opozdený typ precitlivosti po vystavení k senzibilizátoru (Strejček a Rovenský, 1978; Hennessy a i., 1987; Kusenda a i., 1988). V našom experimente sme pri jednorázovej dávke $5 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ ž. h. nezaznamenali pozitívny efekt levamisolu na OKP indukovanú DNFB. Hennessy a i. (1987) zaznamenali zvýšenie expresie kožného testu indukovaného PHA u prasiatok chovaných oddelene od matiek po dvojrázovom podaní levamisolu pri dávke $2 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ ž. h. U nami sledovaných skupín teliat bola počiatočná hodnota kožnej reakcie takmer rovnaká, zatiaľ čo spomínaný autori zaznamenali jej úroveň signifikantne nižšiu u pokusných prasiatok, v porovnaní ku kontrole (prasiatka pod prasnicou). Rozdielnosť dosiahnutých výsledkov snáď závisela od uvedených diferenciácií, pretože imunomodulačný účinok levamisolu značne závisí od funkčného stavu imunity, použitej dávkovej a časovej schémy aplikácie (Brunner a Muscoplat, 1980). Aj mnohými ďalšími autormi boli publikované rozdielne údaje pri klinickom overovaní levamisolu u rôznych druhov zvierat tak z hľadiska jeho účinnosti na CI a protilátkovú odpoveď, ako aj na redukcii morbiditu a mortality.

Glukány sú polysacharidové látky mikrobiálneho pôvodu (Whistler a i., 1976), s nešpecifickým imunomodulačným účinkom. Sú stimulantmi makrofágov, ako aj modulátormi celulárnej a humorálnej imunity (Burgaleta a i., 1978; Kimura a i., 1983; Holbrook a i., 1981 a ďalší). Z bunečných zložiek imunity ovplyvňujú hlavne cytotoxické a pomocné T lymfocyty a T bunky zúčastňujúce sa na oneskorenej precitlivosti (Chihara, 1985). Pri potencovaní špecifickej protilátkovej odpovede zohrávajú adjuvantný účinok (Sharma a i., 1984 a ďalší). Imunostimulačné účinky glukánov sú manifestované zvýšenou odolnosťou hostiteľa voči bakteriálnym, vírusovým, fungálnym, parazitárnym (Di Luzio a Williams, 1978; Williams a

Di Luzio, 1980; Cook a i., 1982; Browder a i., 1984 a ďalší) a neoplastickým (Williams a i., 1985 a ďalší) ochoreniam. V našom experimente sme zaznamenali zvýraznenie kožnej reakcie po jednorázovej aplikácii glukánu, čo poukazuje na jeho modulačný účinok v smere bunkou sprostredkovanej imunity. Podobne Masuko a i. (1982) a Abe a i. (1983) zistili zvýšenú úroveň oneskorenej precitlivelostnej reakcie pri sledovaní antitumorového efektu glukánov u myší. Šula a Nouza (1990) však pozorovali v prevažnej väčšine útlm tejto reakcie proti baraním erytrocytom, ak testované glukány (z *S. cerevisiae*) boli aplikované v čase senzibilizácie. Len v niektorých prípadoch táto reakcia preukázala pozitivitu, ktorá závisela okrem časového a dávkového schématu aj na genetickom pozadí použitých inbredných kmeňov myší. Údajov v tomto smere sledovania je málo, takže je dosť ťažko porovnávať nami dosiahnuté výsledky u hovädzieho dobytku s inými. Taktiež to sťažuje podať vysvetlenie k nami zaznamenananej rozdielnej účinnosti glukánu v dvoch odlišných chovoch zvierat. Snáď to mohlo byť závislé od rozdielnej počiatkovej úrovne imunologickej vybavenosti zvierat, ako to bolo zistené pri sledovaní tvorby interferónu po aplikácii glukánu (Hipíková a i., 1990), rozdielných chovateľských a zdravotných pomerov, prípadne ďalších v komplexe pôsobiacich zatiaľ neznámych faktorov.

Literatúra

- ABE, S. — TAKAHASHI, K. — TSUBOUCHI, M. — MIZUNO, D.: Combination therapy of murine tumors with lentinan, bacterial lipopolysaccharide and a streptococcus preparation, OK 432. *Gan.*, 74, 1983, s. 459—463.
- AL—IBRAHIM, M. S. — HOLZMAN, R. S. — LAURENCE, H. S.: Concentration of levamisole required for enhanced proliferation of human lymphocytes and phagocytosis by macrophages. *J. Infeed. Diseases*, 135, 1977, s. 517—523.
- BROWDER, J. W. — WILLIAMS, D. L. — KITAHAMA, A. — DI LUZIO, N. R.: Modification of post-operative. *C. albicans* sepsis by glucan immunostimulation. *Int. J. Immunopharmac.*, 6, 1984, s. 19—26.
- BRUMMERSTEDT, E. — BASSE, A.: Cutaneous hypersensitivity to 2—4-dinitrochlorobenzene in calves. *Nord. Veter. Med.*, 25, 1973, s. 392—398.
- BRUNNER, C. J. — MUSKOPLAT, C. C.: Immunomodulatory effects of levamisole. *JAUMA*, 176, 1980, s. 1159—1162.
- BURGALETA, C. — TERRITO, M. C. — QUAN, S. G. — GOLDE, D. W.: Glucan—activated macrophages: functional characteristics and surface morphology. *J. Reticuloendothel. Soc.*, 23, 1978, s. 195—204.
- COOK, J. A. — HOLBROOK, T. W. — DOUGHERTY, W. J.: Protective effect of glucan against visceral leishmaniasis in hamsters. *Infect. Immun.*, 37, 1982, s. 1261—1269.
- DI LUZIO, N. R. — WILLIAMS, D. L.: Protective effect of glucan against systemic *Staphylococcus aureus* septicaemia in normal and leukemic mice. *Infect. Immun.*, 20, 1978, s. 804—810.
- DUFFUS, W. P. H.: Immunity to infection. In: *Veterinary clinical immunology*. Philadelphia, W. B. Saunders Company 1989, s. 135—163.
- HANSBROUGH, J. F. — PETERSON, V. — KORTZ, E. — PIACENTINE, J.: Postburn immunosuppression in an animal model: monocyte dysfunction induced by burned tissue. *Surgery*, 93, 1983, s. 415—423.
- HENNESSY, K. J. — BLECHA, F. — POLLMANN, D. S. — KLUBER, E. F.: Isoprinosine and levamisole immunomodulation in artificially reared neonatal pigs. *Amer. J. Veter. Res.*, 48, 1987, s. 477—479.
- HIPÍKOVÁ, V. — SANGRET, M. — VRTIAK, O. J. — KUČA, V.: Vplyv karboxymetylglukánu na tvorbu interferónu leukocytyami teliat. In: *Zbor. Ref. Konf. Glugány a iné imunomodulačné polysacharidy*, Stará Lesná, DVP SAV 1990, s. 9.
- HODGIN, E. C. — MCGUIRE, T. C. — PERRYMAN, L. E. — GRANT, B. D.: Evaluation of delayed hypersensitivity responses in normal horses and immunodeficient foals. *Amer. J. Veter. Res.*, 39, 1978, s. 1161—1167.

- HOLBROOK, T. W. — COOK, J. A. — PARKER, B. W.: Glucan-enhanced immunogenicity of killed erythrocytic stages of *Plasmodium berghei*. Infect. Immun., 32, 1981, s. 542—546.
- CHIHARA, G.: The antitumour and tumour metastasis—inhibitory activities of lentinan in preclinical animal models and its possible immune mechanism. In: Basis mechanisms and clinical treatment of tumor metastasis. New York, Acad. Press 1985, s. 535—547.
- JAYAPPA, H. G. — LOKEN, K. I.: Enhancement of the chemotactic response of bovine polymorphonuclear leucocytes by levamisole. Amer. J. Veter. Res., 43, 1982, s. 2138—2142.
- JENNINGS, P. A.: Leucocyte adherence inhibition; a micro assay demonstrating antigen recognition in cattle. Res. Veter. Sci., 26, 1979, s. 111—113.
- KIMURA, A. — SHERWOOD, R. L. — GOLDSTEIN, E.: Glucan alteration of pulmonary antibacterial defense. J. Reticuloendothel. Soc., 34, 1983, s. 1—4.
- KUSENDA, J. — KALAFUI, F. — NOVOTNÁ, E. — KLOBUŠICKÁ, M.: Imunorešturačný účinok levamizolu u potkanov s transplantovanými syngénnymi nádormi. Imunologický zpravodaj, 3, 1988, s. 93.
- LICHTENFELD, J. L. — DESNER, M. R. — WIERNIK, P. H. — MARDINEY, M. R.: Modulating effects of levamisole on human lymphocyte response *in vitro*. Canc. Treat. Rep., 60, 1976, s. 571—574.
- MANCINI, G. — CARBONARA, A. O. — HEREMANS, J. F.: Immunochemical quantitation of antigens by single radial immunodiffusion. Immunochemistry, 2, 1965, s. 235—254.
- MASUKO, Y. — NAKAJIMA, H. — TSUBOUCHI, J. — YAMAZAKI, M. — MIZUNO, D. — ABE, S.: Changes of antitumor immunity of hosts with murine mammary tumors regressed by lentinan: Potentiation of antitumor delayed hypersensitivity reaction. Gan., 73, 1982, s. 790—794.
- McEWAN, A. D. — FISHER, E. W. — SELMAN, J. E. — PENHALE, W. J.: A turbidity test for the estimation of immune globulin levels in neonatal calf serum. Clin. chim. Acta, 27, 1970, s. 155—163.
- MORENO—LOPEZ, J.: Cell-mediated immunity to Parainfluenza-3 (PIV-3) in cattle. Evaluation of *in vivo* and *in vitro* tests. Zbl. Veter.-Med., R. B, 24, 1977, s. 231—240.
- MORENO—LOPEZ, J. — TÖRNQVIST, M. — MÖLLERBERG, L. — MOREIN, B.: Skin hypersensitivity to Parainfluenza-3 virus in cattle. II. Induction by vaccination and specificity. Zbl. Veter.-Med. R. B, 23, 1976, s. 801—808.
- PAULÍK, Š. — VRZGULA, L. — Možnosť použitia dinitrofluorobenzénu k preukázaniu bunecnej imunitnej odpovede u teliat. Veter. Med. (Praha), 34, 1989, s. 321—328.
- PAULÍK, Š. — SLANINA, L. — DUBAJ, J. — BOROŠKOVÁ, Z. — BENKOVÁ, M. — SZÉCHENYI, Š.: Vplyv krvného derivátu s imunomodulátorom na imunobiokovínový profil u teliat v klinických podmienkach. Veter. Med. (Praha), 34, 1989, s. 705—715.
- POLÁČEK, M.: Základy biometrie pre veterinárnych lekárov. Bratislava, Príroda 1984, 100 s.
- PROCHÁZKOVÁ, J. et al.: Vybrané diagnostické metódy lekárskej imunológie. Praha, Avicenum 1986, 368 s.
- REDDI, M. V. — RAJAN, A. — SULOCHANA, S.: Evaluation of the cell-mediated immune response in cattle induced by 2,4-dinitrochlorobenzene. Veter. Immunol. Immunopathol. 2, 1981, s. 483—489.
- SALVIN, S. B. — GREGG, M. B. — SMITH, R. F.: Hypersensitivity in newborn guinea pigs. J. exp. Med., 115, 1962, s. 707—722.
- SEDLACEK, H. H. — DICKNEITE, G. — SCHORLEMMER, H. U.: Chemotherapeutics: a questionable or a promising project. Comp. Immun. Microbiol. infect. Diseases, 9, 1986, s. 99—119.
- SHARMA, A. — HAQ, A. V. — SIDDIQUI, M. U. — AHMAD, S.: Immunization of guinea-pigs against *Entamoeba histolytica* using glucan as an adjuvant. Int. J. Immunopharmacol., 6, 1984, s. 483—491.
- SLANINA, E. — BESEDA, I. — LEHOCKÝ, J. — SOKOL, J. — VAJDA, V. — VÁLKA, J. — VAŠKO, L.: Metabolický profil hovädzieho dobytky vo vzťahu k zdraviu a úžitkovosti. Košice, ŠVS MPVŽ SSR, 1979, s. 21—22.
- SMITH, S. M. — LEVY, N. S. — HAYES, C. E.: Impaired immunity in vitamin A — deficient mice. J. Nutr., 117, 1987, s. 857—865.
- STREJČEK, J. — ROVENSKÝ, J.: Levamizol (prehľadný referát). Prakt. Lék. (Praha), 58, 1978, s. 505—507.
- SYMOENS, J. — ROSENTHAL, M.: Levamisole in the modulation of the immune response; the current experimental and clinical state. J. reticuloendothelial Soc., 21, 1977, s. 175—221.
- ŠULA, K. — NOUZA, K.: Vliv glukánů na buněčnou imunitu u myši *in vivo*. In: Zbor. Ref. Glukány a iné imunomodulačné polysacharidy, Stará Lesná DVP SAV 1990, s. 34.

- THILSTED, J. P. — SHIFRINE, M. — WIGER, N.: Correlation of *in vitro* and *in vivo* tests for cell-mediated immunity in the dog. *Amer. J. Veter. Res.*, 40, 1979, s. 1313—1315.
- WHISTLER, R. L. — BUSHWAY, A. A. — SINGH, P. P. — NAKAHARA, W. — TOKUZEN, R.: Noncytotoxic, antitumor polysaccharides. *Adv. carbohyd. Chem. Biochem.*, 32, 1976, s. 235—239.
- WILLIAMS, D. L. — Di LUZIO, N. R.: Glucan-induced modification of murine viral hepatitis. *Science*, 208, 1980, s. 67—69.
- WILLIAMS, D. L. — SHERWOOD, E. R. — McNAMEE, R. B. — JONES, E. L. — Di LUZIO, N. R.: Therapeutic efficacy of glucan in a murine model of hepatic metastatic disease. *Hepatology*, 5, 1985, s. 198—206.
- WOODARD, L. F. — RENSHAW, H. W. — BURGER, D.: Cell-mediated immunity in neonatal calves: delayed-type hypersensitivity and lymphocyte blastogenesis following immunization with a mycobacterial immunopotentiating glycolipid and tuberculo proteins of mycobacterium bovis. *Amer. J. Veter. Res.*, 39, 1978, s. 579—584.
- WOODARD, L. F. — ECKBLAD, W. P. — OLSON, D. P.: Antibody and delayed hypersensitivity responses of neonatal calves delivered from protein-restricted dam. *Amer. J. Veter. Res.*, 42, 1981, s. 222—224.

Došlo dňa 17. 7. 1991

PAULÍK, Š. — ŠVRČEK, Š. — BENÍŠEK, Z. — HÚSKA, M. — ĎUROVE, A. (University of Veterinary Medicine, Košice): *Applicability of a skin test to the evaluation of the actual level of cellular immunity and its level after an experimental application of glucan and levamisol in fattening bulls*. *Veter. Med. (Praha)*, 37, 1992 (4): 203—212.

Applicability of a skin test induced by dinitrofluorobenzene (DNFB) to quantification of the actual level of cellular immunity (CI) *in vivo* and its level after an experimental immunomodulation intervention were evaluated in two breeds (40 animals in each) of fattening bulls (10—11 months old). At the selected methodical procedure of intensity determination of the delayed type of hypersensitivity (DTH), its average value reached 4.5 ± 1.5 mm in 80 animals, while in 77.5 % of bulls its level ranged from 3.6 to 9.6 mm, in 18.7 % from 2.0 to 3.5 mm and in 3.8 % remained less than 2.0 mm. Evident expression of the reaction points to the possibility of application of the used methodical procedure of the skin test using DNFB to quantify the level of CI response *in vivo* in cattle. Percentual representation of animals according to the intensity of skin reaction (Tab. I) and concentration of total serum immunoglobulins (CS—Ig) and serum IgG (Tab. II) indicates the different cellular and humoral state of animals in investigated breeds. This is also confirmed by the recorded average values of mentioned parameters which were significantly lower ($P < 0.01$; or 0.05) in animals of the first breed (4.0 ± 1.3 mm; 28.3 ± 4.4 U ZST, 18.4 ± 3.5 g · l⁻¹) than in breed 2 (4.9 ± 1.6 mm; 32.5 ± 3.8 U ZST; 20.3 ± 3.5 g · l⁻¹). The animals of each breed were divided into four experimental groups with the approximately equal actual levels of DTH (Tab. III). Immunomodulation effects of a single administration of soluble fungal glucal (*Pleurotus ostreatus*) at the dose 5 mg (RFG 5 group) and 10 mg · kg⁻¹ (RFG 10 group) and levamisol (Nilverm inj.) at the dose 5 mg · kg⁻¹ (L 5 group) on CI response tested on day 30 after application were compared to the control. While animals of breed 1 demonstrated positive glucal effects, for both doses used on DTH reaction to DNFB, both in comparison to its level before application ($P < 0.5$) and to the level of control animals after its application ($P < 0.05$; or 0.01), (Tab. III), similar effects of glucan were recorded in the bulls of breed 2 no. Potentiating effects of levamisol (5 mg · kg⁻¹) on DTH to DNFB were observed in none of the breeds.

fattening bulls; skin test; cellular immunity; dinitrofluorobenzene; immunomodulation; glucan; levamisol; serum immunoglobulins

Adresa autorov:

MVDr. Štefan Paulík, CSC., prof. MVDr. Štefan Švrček, CSC., MVDr. Zdeněk Beníšek, CSC., MVDr. Miroslav Húška, MVDr. Anna Ďurove, Univerzita veterinárskoho lekárstva, Komenského 73, 041 81 Košice

IZOLÁCIA A KONTROLA FUNKČNEJ KVALITY mRNA BOVINNÉHO LEUKOCYTÁRNEHO INTERFERÓNU

Š. Vilček, O. Forgáč, V. Hipíková

VILČEK, Š — FORGÁČ, O. — HIPÍKOVÁ, V. (Ústav experimentálnej veterinárnej medicíny, Košice; Univerzita veterinárskeho lekárstva, Košice): *Izolácia a kontrola funkčnej kvality mRNA bovinného leukocytárneho interferónu*. Veter. Med. Praha), 37, 1992 (4): 213—220.

Za účelom konštrukcie banky cDNA bola z bovinných leukocytov indukovaných 5 h s NDV (vírus indukujúci interferón) izolovaná celková bunková RNA. Pri izolácii bol použitý guanidín-izotiokyanát a ultracentrifugácia v gradiente CsCl. Elektroforézou v MOPS pufri boli vo vzorkách RNA detekované pasy 18S a 28S. Zo zmesi RNA bola mRNA separovaná afinitnou chromatografiou na oligo (dT)-celulóze. Funkčná kvalita mRNA BoIFN- α bola overovaná mikroinjekciou do oocytov *Xenopus laevis*. Meraním inhibície cytopatického efektu bolo potvrdené, že injikované oocyty syntetizujú $320-64 \text{ OU} \cdot \text{ml}^{-1}$ BoIFN- α (16—32 U/50 μl).

bovinný leukocytárny interferón; informačná RNA; mikroinjekcia; žabie oocyty

Jednou z významných biologicky aktívnych látok imunitného systému je interferón (IFN). IFN je látka bielkovinovej povahy s antivírusovými a inými biologickými účinkami, perspektívne antivírusové a imunomodulačné liečivo (Borecký, 1983). Bunky ho syntetizujú na podnet induktora vo veľmi malom množstve, a preto donedávna bol ťažko dostupný. Techniky rekombinantnej DNA otvorili nové možnosti získania nielen IFN, ale aj iných vzácnych bielkovín klónovaním a expresiou génov v heterológnych bunkách (Turňa a i., 1990). Kým v súčasnosti je výroba ľudských rekombinantných IFN zhruba zvládnutá (Pestka, 1983), pre rekombinantné IFN hospodárskych zvierat sa ešte len hľadajú najvýhodnejšie postupy ich prípravy v laboratórnom merítke. Takto už bol napr. pripravený prasačí (Lefevre a La Bonnardiére, 1986), konský (Himmler a i., 1986), bovinný leukocytárny (Capon a i., 1985; Velan a i., 1985a, b) a bovinný imunný (Cerretti a i., 1986) rekombinantný IFN.

Zvýšená pozornosť sa venuje štúdiu bovinných rekombinantných IFN. Bolo zistené, že BoIFN- α je kódovaný bohatou rodinou génov (Capon a i., 1985). Iné štúdie naznačili jeho perspektívne využitie vo veterinárnej medicíne (Ohmann a i., 1987).

Pri izolácii IFN génov sa vychádza z chromozómovej banky génov, alebo banky cDNA, kedy východiskovým produktom pre prípravu banky cDNA je mRNA separovaná z celkovej RNA (Maniatis a i., 1982).

Na našom pracovisku sme sa sústredili na konštrukciu bovinnej banky cDNA s cieľom izolovať gény kódujúce bovinný leukocytárny IFN (BoIFN- α). Prvým stupňom prípravy banky cDNA je izolácia špecifickej mRNA.

V predloženej práci sme sa zamerali na izoláciu mRNA bovinného leukocytárneho IFN a overenie jej translačnej aktivity mikroinjekciou do žabích oocytov *X. laevis*.

MATERIÁL A METÓDY

INDUKCIA BoIFN- α

Leukocyty sme vyizolovali centrifugáciou 80 ml heparinizovanej krvi z vrstvy „buffy coat“, pričom erytrocyty sme lyzovali premývaním s roztokom NH_4Cl o pH 8,3. K suspenzii leukocytov o koncentrácii $1,5 \cdot 10^7$ buniek ml^{-1} v 10% MEM sme pridali 20–40 HJ ml^{-1} vírusu Newcastlekej choroby. Po 5hodinovej inkubácii pri teplote 37 °C sme suspenziu buniek scentrifugovali pri 500 g $\cdot$ min $^{-1}$ a získali sediment $1,2 \cdot 10^8$ buniek.

IZOLÁCIA CELKOVEJ RNA (Chirgwin a i., 1979)

K sedimentu indukovaných buniek sme pridali 10 ml lytického roztoku (4M GITC — Serva; 5mM citrónan sodný — pH 7,0; 0,1 M β -merkaptotanol; 0,5 % Sarkozyl — Serva). Do homogenátu lyzovaných buniek sme potom pridali 4 g kryštalického CsCl (Loba Feinchemie), roztok opatrne naniesli na 1,5 ml vrstvu 5,7 M CsCl v 0,1 M EDTA — pH 7,5 a centrifugovali vo výkyvnom rotore 11 h pri 100 000 g za izbovej teploty na ultracentrifúge fy MSE typ Superspeed 65. Sediment sme rozpustili v 400 μ l roztoku o zložení (10 mM tris-HCl — pH 7,4; 5 mM EDTA; 1 % SDS) a RNA prečistili dvojnásobnou extrakciou zmesou chroform: 1-butanol — 4:1. RNA jsme z vodnej fáze vyvrážali 2,5 objemami 96 % etanolu v prítomnosti 0,25 M octanu sodného (pH 5,2) cez noc pri teplote –20 °C.

ELEKTROFORÉZA RNA

Elektroforetickú analýzu RNA sme robili podľa autorov Lehrach a i. (1977) v MOPS pufrí.

IZOLÁCIA mRNA (Aviv a Leder, 1972)

Polyetylenovú kolónku o priemere 8 mm sme naplnili 300 mg oligo(dT)-celulózy (Pharmacia) a premýli 10 ml premývacieho roztoku (20 mM tris-HCl — pH 7,5; 1 mM EDTA; 0,5 M NaCl; 0,2 % SDS). Po nanesení 100 μ l vzorky celkovej RNA (rozpustená v autoklávovanej redetstilovanej vode) sme kolónku eluovali s 0,5 ml premývacieho roztoku. Zachytenú mRNA sme z kolónky vyeluovali roztokom o zníženej iónovej sile (20 mM tris-HCl — pH 7,5, 1 mM EDTA, 0,2 % SDS). RNA v eluate sme vyvrážali etanolom v prítomnosti 0,25 M octanu sodného (pH 5,2) cez noc pri –20 °C.

KONŠTRUKCIA MIKROINJEKTORA (Vilček, 1988)

Na injekciu nl objemov roztoku mRNA do žabích oocytov sme použili mikroinjektor vlastne jkonštrukcie. Jemný definovaný posun piestu 10 μ l mikrostriekačky typu Hamilton zabezpečil tlak ramena mikroskrutky. Na koniec injekčnej ihly mikrostriekačky sme nasunuli jemnú hadičku (dĺžka 2 cm) a pripojili sklenený hrot o vonkajšom priemere 20 μ m. Tento rozmer sme dosiahli opatrným vyťahovaním tenkej kapiláry (priemeru 1 mm) nad plameňom. Do striekačky sme najprv natiahli silikónový olej a až potom asi 2 μ l vzorky RNA. Mikroinjektor bol ďalej zložený z mikroskopického stolčeka, ktorý umožňoval posun mikrostriekačky rôznymi smermi. Presnosť dávkovania mikroinjektora sme overovali injekciou rôznych objemov radioaktívneho roztoku ($\text{Na}_2^{51}\text{CrO}_4$).

Žabie oocyty sme získali z dospelých samičiek žiab *X. laevis* imobilizovaných anestéziou iadom. Chirurgickým zákrokom sme odstránili časť ovária a oocyty sme vložili do Barthovho roztoku (88 mM NaCl, 1 mM KCl, 0,33 mM $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$, 0,41 mM CaCl_2 , 0,82 mM MgSO_4 , 2,4 mM NaHCO_3 , 2mM tris-HCl — pH 7,6). Na mikroinjekciu sme vyberali vizuálne zrelé, jasné, bielo-čierné oocyty o priemere asi 1 mm. Vpichovanie ihly mikroinjektora cez membránu oocytov oddelených po jednom kuse v injekčnom boxe sme kontrolovali pod mikroskopom. Do každého oocytu (20 ks) sme injikovali 30 nl analyzovaného roztoku mRNA rozpustnej v autoklárovanej redestilovanej vode. Oocyty sme inkubovali po 5–7 ks v 100 μl Barthovho roztoku 24 h pri izbovej teplote. Inkubačný roztok sme potom scentrifugovali pri $400 \text{ g} \cdot 20 \text{ min}^{-1}$ a supernatant sme odobrali na stanovenie antivírusovej aktivity IFN.

STANOVENIE IFN [Tilles a Finland, 1968]

Oocytami syntetizovaný leukocyárny BoIFN— α uvoľňovaný do inkubačného roztoku sme stanovili na bovinných MDBK bunkách mikrotitračnou metódou inhibície cytopatického efektu s použitím VSV ako čelenžného vírusu. Antivírusový účinok IFN sme porovnali s účinkom medzinárodného štandardu HuIFN— α (VÚ SAV Bratislava) a vyjadřili v $\text{U} \cdot \text{ml}^{-1}$.

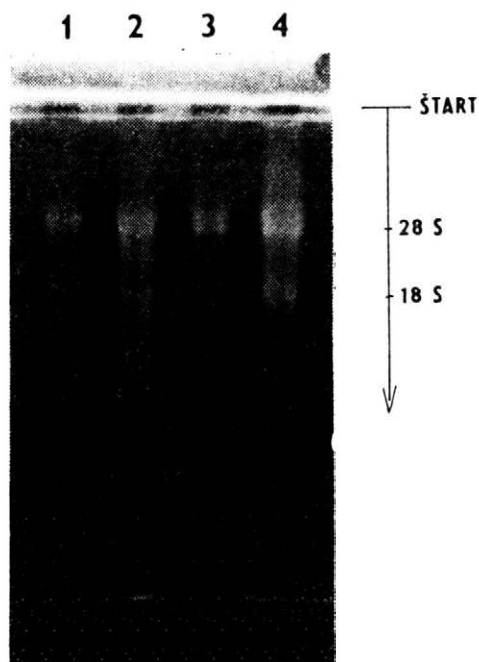
VÝSLEDKY A DISKUSIA

Jedným z metodických postupov získavania génov kódujúcich biologicky aktívne látky je konštrukcia banky cDNA z mRNA. Výhoda takého prístupu je v tom, že banka obsahuje len gény, ktoré sa aktívne zúčastňujú na transtripcii. V prípade IFN, induktorom indukované bunky najprv syntetizujú mRNA a až potom sa syntetizujú interferónové molekuly. Z viacerých štúdií vyplynulo, že vrchol syntézy mRNA—IFN je len 1,5 až 6 h po indukcii buniek, neskôr je mRNA degradovaná [Sehgal a i., 1977; Cavalieri a i., 1977]. Preto sme pre naše štúdie vybrali interval 5 h po indukcii leukocytov vírusom NDV.

Prvým stupňom pri izolácii mRNA—IFN je izolácia celkovej RNA z indukovaných buniek. RNA je možné z eukaryotických buniek získať napr. extrakciou fenolom [Sehgal a i., 1977; Raj a Pitha, 1977], pomocou zmesi LiCl-močovina [Auffray a Rougeon, 1980], izoláciou s guanidín hydrochloridom [Adams a i., 1977], guanidínizotiocyanatom a ultracentrifugáciou v gradiente CsCl [Glisin a i., 1974; Chirgwin a i., 1979]. Z celkovej RNA sa mRNA separuje najčastejšie na oligo(dT)-celulóze [Aviv a Leder, 1972].

Pre naše účely sme zvolili na izoláciu celkovej RNA postup s využitím GITC a ultracentrifugáciou v gradiente CsCl.

Elektroforetickou analýzou sme potvrdili, že vyizolovaná celková RNA z leukocytov indukovaných NDV má dva charakteristické pásy eukaryotických RNA odpovedajúce veľkosti 18S a 28S (obr. 1). Z tejto vzorky, v ktorej prevláda predovšetkým rRNA, sme minoritnú mRNA izolovali metódou afinintnej chromatografie na oligo(dT)-celulóze. Pretože v priebehu celej izolácie hrozí nebezpečenstvo degradácie mRNA ribonukleázami, starostlivo sme dbali, aby sklo bolo sterilné a autoklávané, všade, kde to bolo možné, sme využili silikónové polyetylénové skúmavky, pracovali sme v gumenných rukaviciach a mRNA sme rozpúšťali v redestilovanej autoklárovanej vode. K eliminácii ribonukleáz sa pri izolácii RNA často využívajú rôzne inhibítory ribonukleáz, napr. RNazín, vanadylové komplexy, DEP a pod. [Maniatis a i., 1982]. Nami zvo-



1. Elektroforetická analýza celkovej RNA vyizolovanej z bovinných leukocytov indukovaných NDV (1,5% agaróza, MOPS elektroforetický pufer, 15 mA—1,5 h, farbenie etidium bromidom); 1,3 — RNA (2,5 μ g v 20 μ l roztoku) riedená redistilovanou vodou 1:1; 2,4 — koncentrovaná RNA (5 μ g v 20 μ l roztoku) — Electrophoretic analysis of total RNA separated from bovine leukocytes induced with NDV (1.5% agarose, MOPS electrophoretic buffer, 15 mA—1.5 h, ethidium bromide staining); 1,3 — RNA (2.5 μ g in 20 μ l solution) diluted with redistilled water 1:1; 2,4 — concentrated RNA (5 μ g in 20 μ l solution)

¹ start

lený metodický postup izolácie RNA využíva GITC ako denaturačné činidlo a ako silný inhibítor ribonukleáz (Chirgwin a i., 1979).

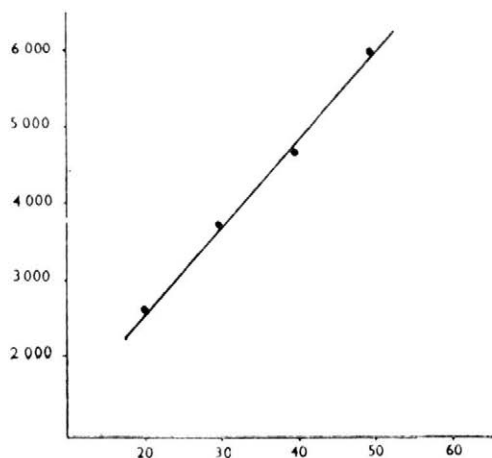
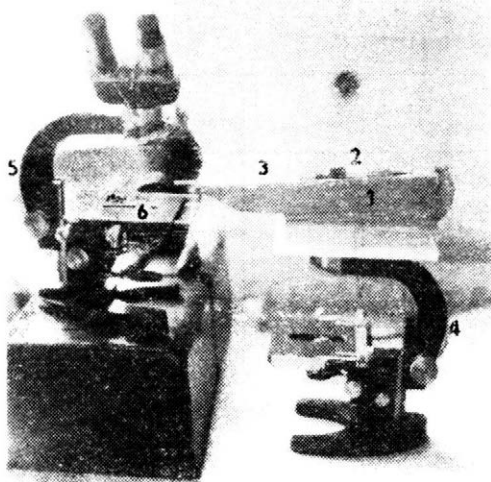
Izolovaná mRNA, ktorá je zložená z rôznych špecifických mRNA, ešte nezabezpečuje, že je biologicky aktívna a že v zmesi sa nachádza v našom prípade aj mRNA—BoIFN— α .

Pre kontrolu funkčnej kvality vyizolovanej mRNA—IFN sa osvedčila predovšetkým mikroinjekcia do žabích oocytov (Reynolds a i., 1975), alebo aj *in vitro* translácia v lyzátoch králičích retikulocytov (Pelham a Jackson, 1976), bezbunečnom ribozomálnom systéme živočíšnych buniek (Pestka a i., 1975) a v extraktoch pšeničných klíčkov (Thang a i., 1975).

Z viacerých možností overovania translačnej funkcie mRNA—BoIFN— α sme zvolili mikroinjekciu do žabích oocytov, ktorú prvýkrát metodicky rozpracoval Gurdon a i. (1971). Výhodou oocytov *X. laevis* v porovnaní s bezbunečnými translačnými systémami je to, že oocyty oveľa výkonnejšie využívajú exogénne mRNA, spotrebujú oveľa menej vzácnej vzorky mRNA, syntetizovaná bielkovina je posttranslačne modifikovaná a keď je v eukaryotických bunkách vylučovaná z buniek, a to je prípad IFN, vylučujú ju aj oocyty.

Pre mikroinjekciu sa používajú komerčné mikroinjektory, napr. fy Alcatel, Zeiss. V našich podmienkach sme použili jednoduchý mikroinjektor vlastnej konštrukcie (obr. 2), ktorý spĺňal požadované nároky, injekciu 30 nl roztoku do živých oocytov. Pri kalibrovaní dávkovacích vlastností mikroinjektora sme pomocou roztoku ⁵¹Cr zistili v rozmedzí objemov 20—60 nl priamočiaru závislosť (obr. 3).

2. Celkový pohľad na zariadenie pre mikroinjekciu mRNA do žabích oocytov; 1 — mikroinjektor, 2 — mikroskrutka, 3 — mikrostriekačka fy Hamilton, 4 — teleso mikroskopu zabezpečujúce vertikálny pohyb, 5 — mikroskop na pozorovanie oocytov pri mikroinjekcii, 6 — stolček mikroskopu, na ktorý sa vloží injekčný box s oocytami s možnosťou horizontálneho pohybu — A general view of the apparatus for mRNA microinjections into frog oocytes; 1 — microinjector, 2 — microscrew, 3 — microsyringe of the Hamilton firm, 4 — microscope body providing for vertical movement, 5 — microscope for the examination of oocytes during microinjection, 6 — microscope stage where an injection box with oocytes is placed; the stage can be moved horizontally



3. Kalibrácia objemu roztoku po mikroinjekcii do oocytov *X. laevis* pomocou mikroinjektora vlastnej konštrukcie; osa x — objem injektovaného roztoku [nl]; osa y — aktivita ⁵¹Cr [impulzy za min] — Calibration of the solution volume after microinjection into the oocytes of *X. laevis* using a microinjector of our own construction; x-axis — injected solution volume [nl]; y-axis — ⁵¹Cr activity [impulses per min]

Mikroinjekčné štúdie potvrdili úspešnú izoláciu mRNA—BoIFN— α . Po translácii mRNA žabími oocytami sme v inkubačnom roztoku dokázali antivírusovú aktivitu BoIFN— α o titri 16—32 U $\cdot$ 50 μ l⁻¹, t. j. po prepočte 320—640 U $\cdot$ ml⁻¹ (tab. I). Napriek tomu zdôrazňujeme, že nie každá izolácia mRNA BOFIN— α bola úspešná (tab. I, pokus 3), čo je zrejme spôsobené degradáciou RNA ribonukleázami. V niektorých prípadoch sme tiež pozorovali toxické účinky inkubačného roztoku oocytov na MDBK bunky (na nich sa testuje antivírusová aktivita BoIFN— α), snáď spôsobené uvoľňovaním neznámeho toxického produktu zo žabích oocytov.

I. Dôkaz translačných vlastností mRNA—BoIFN— α mikroinjekciou do oocytov *X. laevis*
— Evidence of translation properties of mRNA—BoIFN— α by means of micro-injection into the oocytes of *X. laevis*

Pokus ¹	Titer BoIFN— α (U/50 μ l) ²
1	16
2	32
3	—
4	16–32

¹ experiment, ² titre of BoIFN— α (U/50 μ l)

Novšie poznatky naznačujú, že pri izolácii génov môže byť s výhodou využitá PCR metóda založená na *in vitro* amplifikácii vybratého úseku DNA [Saiki a i., 1985], napr. aj konkrétneho génu [Seow a i., 1990]. To značne zjednodušuje ďalší postup izolácie génov. Zvolený gén sa môže amplifikovať priamo z mRNA, ktorá sa reverznou transkriptázou prepíše do cDNA.

Úspešná izolácia mRNA—BoIFN— α otvára možnosti konštrukcie banky cDNA. Súbežne s tým sme rozpracovali aj metodický postup prípravy genómovej banky [Vilček a i., 1989]. Tým sme vytvorili podmienky pre prípravu ľubovoľnej banky s cieľom izolácie eukaryotických génov pre rôzne biologicky aktívne látky.

Podakovanie

Autori ďakujú MVDr. P. Smejkalovi za technickú pomoc pri mikroinjekcii roztokov do žabích oocytov.

Literatúra

- ADAMS, S. L. — SOBEL, M. E. — HOWARD, B. H. — OLDEN, K. — YAMADA, K. H. — DeCROMBRUGGHE, B. — PASTAN, I.: Levels of translatable mRNA for cell surface protein, collagen precursors and two membrane proteins are altered in Rous sarcoma virus-transformed chick embryo fibroblasts. *Proc. nat. Acad. Sci. U.S.A.*, 74, 1977, s. 3399–3403.
- AUFFRAY, C. — ROUGEON, F.: Purification of mouse immunoglobulin heavychain messenger RNAs from total myeloma tumor RNA. *Eur. J. Biochem.*, 107, 1980, s. 303–314.
- AVIV, H. — LEDER, P.: Purification of biologically active globin messenger RNA by chromatography on oligothymidylic acid–cellulose. *Proc. nat. Acad. Sci. U.S.A.*, 69, 1972, s. 1408.
- BORECKÝ, L.: Vírusy, imunita a interferón. Martin, Osveta 1983, 476 s.
- CAPON, D. J. — SHEPARD, H. M. — GOEDDEL, D. V.: Two distinct families of human and bovine interferon— α genes are coordinately expressed and encode functional polypeptides. *Mol. Cell. Biol.*, 5, 1985, s. 768–779.
- CAVALIERI, R. L. — HAVELL, E. A. — VILČEK, J. — PESTKA, S.: Induction and decay of human fibroblast interferon mRNA. *Proc. nat. Acad. Sci. U.S.A.*, 74, 1977, s. 4415–4419.
- CERRETTI, D. P. — MCKEREGHAN, K. — LARSEN, A. — COSMAN, D. — GILLIS, S. —

- BAKER, P. E.: Cloning, sequence, and expression of bovine interferon- γ . *J. Immunol.*, 136, 1986, s. 4561—4564.
- CHIRGWIN, J. M. — PRZYBYLA, A. E. — McDONALD, R. J. — RUTTER, W. J.: Isolation of biologically active ribonucleic acid from sources enriched in ribonuclease. *Biochemistry*, 18, 1979, s. 5294—5299.
- GLISIN, V. — CRKVENJAKOV, R. — BYUS, C.: Ribonucleic acid isolated by cesium chloride centrifugation. *Biochemistry*, 13, 1974, s. 2633—2637.
- GURDON, J. B. — LANE, C. D. — WOODLAND, H. R. — MARBAIX, G.: Use of frog eggs and oocytes for the study of messenger RNA and its translation in living cells. *Nature*, 233, 1971, s. 177—182.
- HIMMLER, A. — HAUPTMANN, R. — ADOLF, G. R. — SWETLY, P.: Molecular cloning and expression in *Escherichia coli* of equine type I interferons. *DNA*, 5, 1986, s. 345—356.
- LEFEVRE, F. — LA BONNARDIERE, C.: Molecular cloning and sequencing of a gene encoding biologically active porcine α -interferon. *J. Interferon Res.*, 6, 1986, s. 349—360.
- LEHRACH, H. — DIAMOND, D. — WOZNEY, J. M. — BOEDTKER, H.: RNA molecular weight determinations by gel electrophoresis under denaturing conditions. A critical reexamination. *Biochemistry*, 16, 1977, s. 4743.
- MANIATIS, T. — FRITSCH, E. F. — SAMBROOK, J.: Molecular cloning. A laboratory manual. Cold Spring Harbor Laboratory 1982.
- OHMANN, H. B. — LAWMAN, M. J. P. — BABIUK, L. A.: Bovine interferon: its biology and application in veterinary medicine. *Antiviral Res.*, 7, 1987, s. 187—210.
- PELHAM, H. R. B. — JACKSON, R. J.: An efficient mRNA-dependent translation system from reticulocyte lysates. *Eur. J. Biochem.*, 67, 1976, s. 247—256.
- PESTKA, S.: The human interferons—from protein purification and sequence to cloning and expression in bacterial: before, between and beyond. *Arch. Biochem. Biophys.*, 221, 1983, s. 1—37.
- PESTKA, S. — MCINNES, J. — HAVELL, E. A. — VILČEK, J.: Cell-free synthesis of human interferon. *Proc. nat. Acad. Sci. U.S.A.*, 72, 1975, s. 3898—3901.
- RAJ, N. B. K. — PITHA, P. M.: Relationship between interferon production and interferon messenger RNA synthesis in human fibroblasts. *Proc. nat. Acad. Sci. U.S.A.*, 74, 1977, s. 1483—1487.
- REYNOLDS, F. H. — PREMKUMAR, E. — PITHA, P. M.: Interferon activity produced by translation of human interferon messenger RNA in cell-free ribosomal systems and in *Xenopus oocytes*. *Proc. nat. Acad. Sci. U.S.A.*, 72, 1975, s. 4881—4885.
- SAIKI, R. K. — SCHARF, S. — FALOONA, F. — MULLIS, K. B. — HORN, G. T. — ERLICH, H. A. — ARNHEIM, N.: Enzymatic amplification of β -globin genomic sequences and restriction site analysis for diagnosis of sickle cell anemia. *Science*, 230, 1985, s. 1350.
- SEHGAL, P. B. — DOBRESTEIN, B. — TAMM, I.: Interferon messenger RNA content of human fibroblasts during induction, shutoff and superinduction of interferon production. *Proc. nat. Acad. Sci. U.S.A.*, 74, 1977, s. 3409—3413.
- SEOW, H. F. — ROTHEL, J. S. — RADFORD, A. J. — WOOD, P. R.: The molecular cloning of ovine interleukin 2 gene by the polymerase chain reaction. *Nucl. Acid. Res.*, 18, 1990, s. 7175.
- THANG, M. N. — THANG, D. C. — DeMAYER, E. — MONTAGNIER, L.: Biosynthesis of mouse interferon by translation of its messenger RNA in a cell-free system. *Proc. nat. Acad. Sci. U.S.A.*, 72, 1975, s. 3975—3977.
- TILLES, J. G. — FINLAND, M.: Microassay for human and chick cell interferons. *Appl. Microbiol.*, 16, 1968, s. 1706—1707.
- TURNÁ, J. — KRČMÉR, V. — KETTNER, M. — ANTAL, M. — AUGUSTÍN, J.: Rekombinantné DNA a biotechnológia. Bratislava, Alfa 1990, 689 s.
- VELAN, B. — COHEN, S. — GROSFELD, H. — LEITNER, M. — SHAFFERMAN, A.: Bovine interferon α genes. Structure and expression. *J. Biol. Chem.*, 260, 1985a, s. 5498—5504.
- VELAN, B. — COHEN, S. — GROSFELD, H. — SHALITA, Z. — SHAFFERMAN, A.: Cloning of a bovine interferon- α gene subfamily and comparisons between genetically engineered and leukocyte bovine interferons. *Develop. Biol. Standard.*, 60, 1985b, s. 355—369.
- VILČEK, Š.: Mikroinjektor. ZN prijatý na ÚEVM v Košiciach 25. 5. 1988, č. 74/88.
- VILČEK, Š. — VRTIAK, O. J. — FORGÁČ, O. — TAKACSOVÁ, I. — SMEJKAL, P. — HIPÍKOVÁ, V. — GDOVINOVÁ, A.: Získavanie a vlastnosti nukleových kyselín biologicky aktívnych látok. [Záverečná správa.] Košice, Ústav experimentálnej veterinárnej medicíny 1989, 59 s.

Došlo dňa 17. 7. 1991

VILČEK, Š. — FORGÁČ, O. — HIPÍKOVÁ, V. (Institute of Experimental Veterinary Medicine, University of Veterinary Medicine, Košice): *Isolation and control of the function quality of mRNA bovine leucocyte interferon*. Veter. Med. (Praha), 37, 1992 (4): 213—220.

For the construction of the cDNA library total cellular RNA was separated from bovine leucocytes induced with NDV (inductor of interferons) for five hours. Guanidinisoethiocyanate and ultracentrifugation in the gradient of CsCl were used for the separation of the total RNA (Chirgwin et al., 1979). Bands 18S and 28S were detected in the samples of RNA by electrophoresis in an MOPS buffer (Fig. 1). mRNA was separated from the mixture of RNA via affinity chromatography on oligo(dT)—cellulose (Aviv and Leder, 1972). The function quality of mRNA BoIFN- α was verified by microinjection into the oocytes of *Xenopus laevis* using a microinjector of our own construction (Fig. 2). The microinjector was calibrated by injection of a radioactive ^{51}Cr solution (Fig. 3). It was found out on the basis of CPE inhibition measurements that the injected oocytes synthesized 320—640 U/ml BoIFN- α (16—32 U/50 μl ; Tab. 1).

bovine leucocyte interferons; messenger RNA; microinjection; frog oocytes

Adresy autorov:

Ing. Štefan Vilček, CSc., RNDr. Vlasta Hipíková, Univerzita veterinárskeho lekárstva, Komenského 73, 041 81 Košice
RNDr. Ondrej Forgáč, Ústav experimentálnej veterinárnej medicíny, Dukelských hrdinov 1, 040 01 Košice

VPLYV PRÍDAVKU MEDI A KOBALTU NA STRÁVITEĽNOSŤ FIBRÓZNYCH KRMIV U OVIEC

I. Zelenák, D. Jalč, I. Plachá, P. Sviatko, T. Vendrák, P. Siroka, F. Gyulai

ZELEŇÁK, I. — JALČ, D. — PLACHÁ, I. — SVIATKO, P. — VENDRÁK, T. — SIROKA, P. — GYULAI, F. (Ústav fyziológie hospodárskych zvierat SAV, Košice; Štátny veterinárny ústav, Košice): *Vplyv prídavku medi a kobaltu na stráviteľnosť fibróznych krmív u oviec*. Veter. Med. (Praha), 37, 1992 (4): 221—229.

Sledoval sa vplyv prídavku medi, kobaltu a medi + kobaltu na *in vitro* stráviteľnosť sena, upravených bukových pilín a celulózy bachorovou šťavou oviec kŕmených kompletnou kŕmnou dávkou, kompletnou kŕmnou dávkou s obsahom 15 % upravených bukových pilín a diétou pozostávajúcou z 80 % sena a 20 % jačmeňa. Z výsledkov vyplynulo, že prídavok medi a kobaltu mal pozitívny vplyv na stráviteľnosť sena, upravených bukových pilín a celulózy pri použití kompletných kŕmnych dávok. Pri diéte pozostávajúcej zo sena a jačmeňa sa stráviteľnosť pilín ani celulózy nezvýšila. Vplyv mikroelementov na UMK bol variabilný. Aplikácia Cu a Co do bachora oviec kŕmených kompletnou kŕmnou dávkou s 15% obsahom upravených bukových pilín zvýšila počet protozoí z rodu *Isotricha* a *Dasytricha*, pričom sa celkový počet protozoí nemenil. Pri diéte pozostávajúcej zo sena a jačmeňa sa významne znížil celkový počet protozoí len po aplikácii Cu.

ovce; meď; kobalt; stráviteľnosť; protozoá

Minerálne látky majú nezastupiteľné miesto v potrave zvierat, pretože predstavujú jednu zo zložiek, ktorá je nevyhnutná pre ich normálny rast a zdravie. 96 % celkovej hmotnosti zvierat tvoria štyri prvky — kyslík, vodík, uhlík a dusík. Sedem ďalších prvkov — vápnik, fosfor, draslík, síra, sodík, chlór a horčík tvoria zbývajúce 4 %. Organizmus zvierat potrebuje približne ďalších 15 prvkov, avšak ich celková potreba je menšia než 0,01 % ich hmotnosti (Young, 1986). Tieto prvky tvoria skupinu tzv. mikroelementov. Napriek malej potrebe majú veľký význam pre organizmus zvierat. Niektoré z nich sú esenciálne, iné síce majú metabolický účinok, ale nie sú nepostrádateľné a sú aj také, ktoré sa do organizmu dostanú len náhodnou kontamináciou. Mikroelementy plnia v biologických systémoch štyri základné funkcie (Keen a Graham, 1989). Sú súčasťou telových tekutín; tvoria kofaktory v enzymatických reakciách; viažu, transformujú a uvoľňujú kyslík a môžu byť súčasťou štrukturálnych zložiek neenzymatických makromolekúl. U prežúvavcov sú dôležité nielen pre rôzne biochemické reakcie v makroorganizme zvierat (Chesters a Arthur, 1988), ale aj pre činnosť mik-

roorganizmov, ktoré sa podieľajú na fermentácii potravy v ich tráviacom trakte (Thivend, 1985). Mikrobiálny ekosystém je hlavnou príčinou, že potrava v bachore podlieha veľkým zmenám. Deje sa tak pôsobením enzymatických systémov, ktorých pôvodcami sú mikroorganizmy.

Je známe, že aj celulóytická aktivita je stimulovaná prívodom stopových prvkov. Stena bakteriálnej bunky je schopná fixovať stopové prvky väzbami, ktoré sú v kyslom prostredí reverzibilné. Preto potrebu stopových prvkov pre baktérie nie je možné stanoviť podľa ich hladiny v mase mikroorganizmov. Na druhej strane prebytok stopových prvkov môže inhibovať mikrobiálnu fermentáciu.

V našej práci sme sa zamerali na sledovanie vplyvu kobaltu a medi na stráviteľnosť sena, celulózy a upravených bukových pilín u oviec. Sledoval sa tiež vplyv na protozoálnu populáciu v bachore.

MATERIÁL A METÓDA

Stráviteľnosť sena, celulózy a upravených bukových pilín sa stanovila metódou *in vitro* podľa autorov Mellenberger a i. (1970). Bachorová štava sa získavala od šiestich dospelých baranov plemena merino, kŕmených rôznymi diétami. Diéta 1 predstavovala kompletnú kŕmnu dávku pozostávajúcu zo 600 g lúčneho sena, 200 g kŕmnej zmesi, 200 g kukurice, 120 g melasy a minerálnej zmesi (vyjadrené v sušine). V diéte 2 sa 15 % sušiny sena nahradilo upravenými bukovými pilinami, ostatné komponenty boli rovnaké ako v diéte 1. Diéta 3 sa skladala z 800 g lúčneho sena a 200 g jačmenného šrotu. Bukové piliny boli upravené defibračnou metódou (Bučko a i., 1987). Po rannom podaní krmiva sa aplikovala baranom cez fistulu do bachora med vo forme $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ tak, aby výsledná hladina Cu v kŕmnej dávke bola $12 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$, kobalt vo forme $\text{CoSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ v množstve, ktoré zabezpečilo jeho celkový obsah v diéte $2 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ alebo Cu + Co spolu. Pri každej diéte sa na začiatku pokusu pred začatím aplikácie mikroelementov odoberala od všetkých zvierat bachorová štava na získanie kontrolných hodnôt. V bachorovej štave boli stanovené unikavé masné kyseliny (UMK) plynovou chromatografiou a počty prvkov. Bachorová štava sa odoberala po uplynutí troch hodín od podania ranného krmiva.

VÝSLEDKY A DISKUSIA

Zo získaných výsledkov vyplynulo, že prídavok medi a kobaltu do kŕmnych dávok oviec ovplyvnil *in vitro* stráviteľnosť sena, pilín i celulózy (tab. I).

Bachorová štava od zvierat kŕmených kompletnou kŕmnou dávkou sa vyznačovala signifikantne vyššou stráviteľnosťou sena, keď sa do bachora pridala Cu ($P < 0,05$), Co i Cu + Co ($P < 0,001$). Stráviteľnosť celulózy mala podobnú tendenciu po pridaní Cu i Co, významná však bola len v prípade Co ($P < 0,05$). Pridanie Cu + Co malo za následok nevýznamné zníženie stráviteľnosti celulózy. Vysoko významný efekt malo pridanie mikroelementov vo všetkých troch formách ($P < 0,001$) na stráviteľnosť upravených bukových pilín bachorovou štavou oviec kŕmených diétou s 15% obsahom pilín, i keď východzia stráviteľnosť pilín štavou zvierat, ktoré nedostávali mikroelementy (kontrola), bola pomerne nízka (44,9 %). Podobný trend bol aj v stráviteľnosti celulózy, avšak po pridaní Co nebolo zvýšenie stráviteľnosti signifikantné. Bachorová štava zvierat kŕmených senom (80 %) a jačmeňom (20 %) sa vyznačovala najväčšou stráviteľnosťou. Stráviteľnosť pilín dosiahla hodnotu 60 % a celulózy 95,9 % bez prídavku mikroelementov (kontrola). V tomto prípade sa vplyv prídania mikroelementov na stráviteľnosť pilín prejavil len v prípade Co, keď došlo k signifikantnému poklesu ich stráviteľnosti ($P < 0,001$). Aj stráviteľnosť celulózy sa signifikantne zní-

I. Stráviteľnosť sena, pilín a celulózy po aplikácii mikroelementov — Hay, beech sawdust and cellulose digestibility after micro-element supplementation

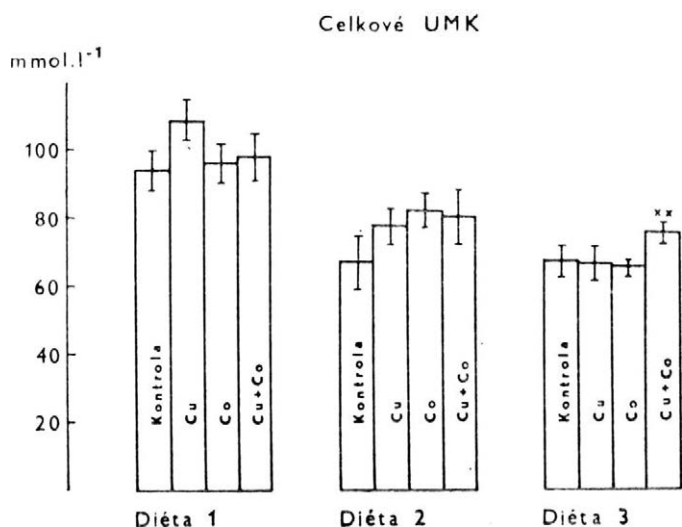
Minerálny doplnok ¹	Kompletná kŕmna dávka ²		Kompletná kŕmna dávka + 15 % pilín ³		Seno (80 % + jačmeň (20 %) ⁴	
	seno ⁵	celulóza ⁶	piliny ⁷	celulóza ⁶	piliny ⁷	celulóza ⁶
—	59,9 ± 0,60	87,0 ± 3,23	44,9 ± 0,76	64,7 ± 0,53	60,0 ± 0,51	95,9 ± 1,02
Cu	61,6 ± 0,42*	93,1 ± 2,83	49,6 ± 0,48***	73,2 ± 3,18*	59,5 ± 0,87	89,6 ± 1,12**
Co	62,9 ± 0,32***	95,2 ± 1,28*	53,2 ± 1,75***	78,8 ± 6,88	54,9 ± 0,82***	91,0 ± 1,64*
Cu + Co	63,0 ± 0,55**	78,9 ± 6,30	53,7 ± 1,13***	84,8 ± 2,29***	58,6 ± 1,04	96,5 ± 1,61

* — $P < 0,05$; ** — $P < 0,01$; *** — $P < 0,001$

Odchýlka od priemerov predstavuje hodnoty S. E. — The deviation from the means represents the S. E. values

¹ mineral supplement, ² complete food ration, ³ complete food ration + 15 % beech sawdust, ⁴ hay (80 %) + barley (20 %),

⁵ hay, ⁶ cellulose, ⁷ beech sawdust



1. Koncentrácia celkových unikavých mastných kyselín (UMK) v bachorovom obsahu baranov po aplikácii Cu, Co a Cu + Co; ** — $P < 0,01$ — The concentrations of total volatile fatty acids in the rumen fluid of rams after Cu, Co and Cu + Co supplementation; ** — $P < 0.01$

žila po podaní Cu ($P < 0,01$) a Co ($P < 0,05$), podanie Cu + Co však jej stráviteľnosť neovplyvnilo.

Z uvedeného vyplýva, že prídavok Cu a Co mal pozitívny vplyv na stráviteľnosť sena, upravených bukových pilín a celulózy pri použití kompletných kŕmnych dávok, pri ktorých mala bachorová šťava menšiu fermentačnú aktivitu. Pri použití diéty, ktorá sa vyznačovala vysokou fermentačnou aktivitou bachorovej šťavy (seno + jačmeň), minerálny prídavok už nezvyšoval stráviteľnosť pilín ani celulózy.

Koncentrácia UMK v bachorovej šťave oviec pod vplyvom minerálneho prídavku sa prakticky nemenila (obr. 1). Bola zaznamenaná len tendencia k vyšším hodnotám u zvierat kŕmených kompletnou kŕmnou dávkou bez pilín i s pilinami. K signifikantnému zvýšeniu koncentrácie UMK v bachore došlo len u oviec kŕmených senom a jačmeňom po pridaní Cu + Co ($P < 0,01$).

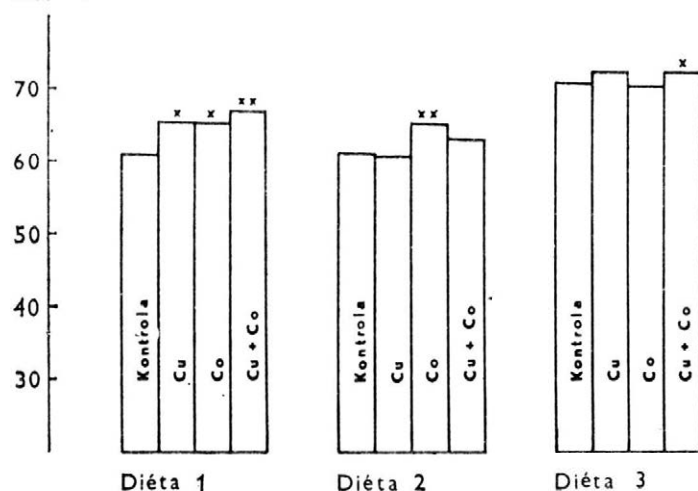
Mol % kyseliny octovej v bachorovej šťave oviec kŕmených kompletnou kŕmnou dávkou signifikantne stúplo pri použití všetkých troch doplnkov (obr. 2). Pri kŕmnej dávke s 15% obsahom pilín sa zvýšilo len pri doplnku Co a pri diéte seno + jačmeň pri doplnku Cu + Co. Mol % kyseliny octovej pri tejto diéte bolo vyššie ako pri diétach 1 a 2 ($P < 0,001$).

Mol % kyseliny propiónovej pri diéte 1 malo pri použití doplnku klesajúcu tendenciu, čo bolo signifikantné pri použití Co (obr. 3). Pri diéte 2 boli hodnoty po doplnku Cu + Co významne vyššie, podobne ako po Cu a Co pri diéte 3.

Mol % kyseliny maslovej malo tiež klesajúci trend pri použití doplnkov, čo bolo pri diéte 1 a 2 po doplnku Cu + Co signifikantné, pri diéte 3 bol pokles významný po doplnku Cu a Cu + Co (obr. 4). Signifikantne

Kyselina octová

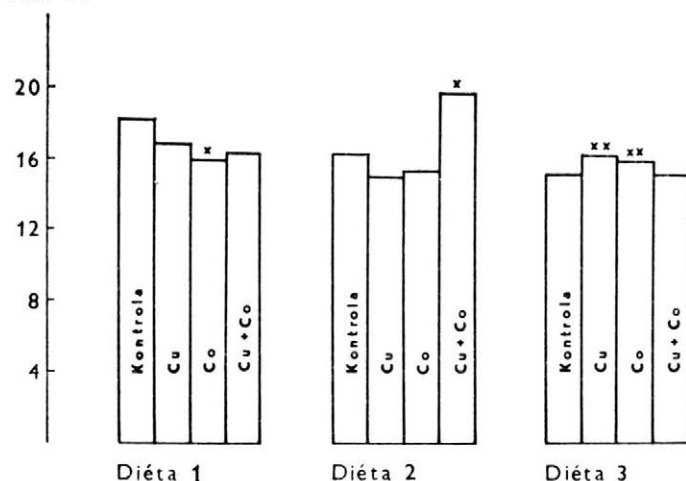
mol %



2. Mol % kyseliny octovej v bachorovom obsahu baranov po aplikácii Cu, Co a Cu + Co; * — $P < 0,05$; ** — $P < 0,01$ — Molar percentage of acetic acid in the rumen fluid of rams after Cu, Co and Cu + Co supplementation; * — $P < 0,05$; ** — $P < 0,01$

Kyselina propionová

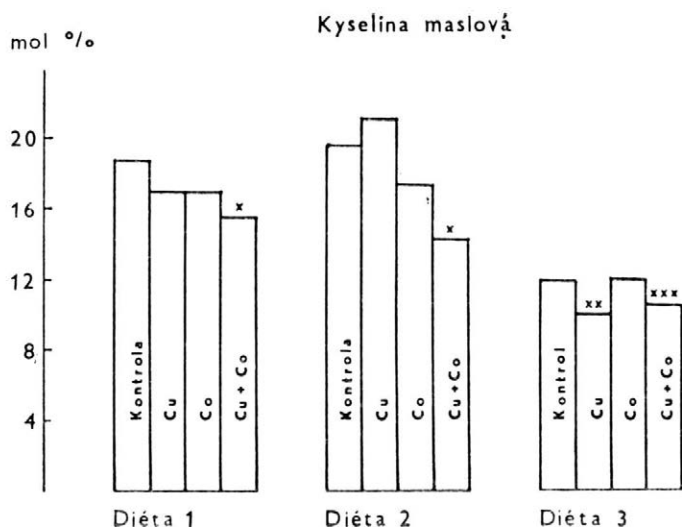
mol %



3. Mol % kyseliny propionovej v bachorovom obsahu baranov po aplikácii Cu, Co a Cu + Co; * — $P < 0,05$; ** — $P < 0,01$ — Molar percentage of propionic acid in the rumen fluid of rams after Cu, Co and Cu + Co supplementation; * — $P < 0,05$; ** — $P < 0,01$

nižšie hodnoty boli zaznamenané pri diéte 3 v porovnaní s diétami 1 a 2, a to vo všetkých troch doplnkoch, vrátane kontroly ($P < 0,001$).

Možno povedať, že celkové UMK a mol % kyseliny octovej smerovali k vyšším hodnotám pri použití minerálnych doplnkov, kým mol % kyseliny maslovej sa znížilo. V prípade kyseliny propionovej bol vplyv mikroelementov variabilnejší. Hodnoty UMK boli ovplyvnené aj charakterom jednotlivých diét.



4. Mol % kyseliny maslovej v bachorovom obsahu baranov po aplikácii Cu, Co a Cu + Co; * — $P < 0,05$; ** — $P < 0,01$; *** — $P < 0,001$ — Molar percentage of butyric acid in the rumen fluid of rams after Cu, Co and Cu + Co supplementation; * — $P < 0,05$; ** — $P < 0,01$; *** — $P < 0,001$

Aplikácia Cu a Co do bachora baranov mala vplyv aj na protozoálnu populáciu (tab. II, III). Pri kompletnej krmnej dávke s obsahom 15 % upravených bukových pilín Cu, a ešte výraznejšie Co, zvýšili počty protozoí rodov *Isotricha* a *Dasytricha*. Celkový počet protozoí sa významne nemenil. Pri diéte pozostávajúcej zo sena a jačmeňa (80:20) došlo k významnému zníženiu len celkového počtu protozoí po aplikácii Cu. Zloženie diét malo výrazný vplyv na celkový počet protozoí. Pri kompletnej krmnej dávke s obsahom pilín boli ich počty výrazne vyššie než pri druhej diéte (seno + jačmeň).

Pri zostavovaní pokusu sme vychádzali z hypotézy, že divalentné kationy Cu^{++} a Co^{++} by mohli uľahčiť priľnutie bachorových baktérií s negatívne nabitým povrchom k povrchu krmovín, ktoré majú tiež negatívny náboj [Satter a i., 1984], čo by sa mohlo pozitívne prejavovať na ich stráviteľnosti. Táto hypotéza sa čiastočne potvrdila. Pri kŕmení zvierat kompletnou krmnou dávkou došlo k zvýšeniu stráviteľnosti sena pri všetkých troch formách aplikácie mikroelementov. Pri celulóze sa to prejavilo len po aplikácii Co. Zaradenie pilín do krmnej dávky malo za následok nižšiu stráviteľnosť celulózy i bukových pilín, o ktorých sa už z predchádzajúcich mnohonásobných analýz vedelo, že majú stráviteľnosť okolo 60 %. V tomto prípade však ich stráviteľnosť bola len 45 %. Teda sa nepotvrdil predpoklad, že bachorová šťava zvierat, ktorých kŕmna dávka obsahovala 15 % pilín, bude disponovať mikroflórou zadaptovanou na tento netradičný zdroj krmiva. Na druhej strane aplikácia Cu a Co vo všetkých troch prípadoch významne zvýšila stráviteľnosť celulózy. Vychádzajúc z našich predchádzajúcich prác [Jalč a i., 1983; Zelenák a i., 1990] sme vedeli, že bachorová mikroflóra má najväčšiu aktivitu pri trávení fibróznych materiálov vtedy, keď sú zvieratá kŕmené senom a malým doplnkom jačmeňa. Potvrdilo sa to aj

- II. Vplyv Cu a Co na protozoálnu populáciu v bachore baranov kŕmených kompletnou kŕmnom dávkou s obsahom 15 % pilín — The effect of Cu and Co on the protozoan populations in the rumen of rams fed a complete food ration with 15 % beech sawdust

	Minerálny doplnok ⁴			
	—	Cu	Co	Cu + Co
Celkový počet [x10 ³ /ml] ¹	1 198 ± 241	1 104 ± 115	761 ± 111	734 ± 54
Rody <i>Isotricha</i> a <i>Dasytricha</i> [ml] ²	1 933 ± 694	3 911 ± 466*	14 600 ± 1 862**	2 766 ± 870
Rody <i>Entodiniomorphida</i> (okrem rodu <i>Entodinium</i>) [ml] ³	9 666 ± 2 989	8 622 ± 3 845	6 966 ± 1 131	3 166 ± 538

* — $P < 0,05$; ** — $P < 0,001$

¹ total counts [x10³/ml], ² *Isotricha* and *Dasytricha* genera [ml], ³ *Entodiniomorphida* genera (except the *Entodinium* genus) [ml], ⁴ mineral supplement

- III. Vplyv Cu a Co na protozoálnu populáciu v bachore baranov kŕmených senom (80 %) a jačmeňom (20 %) — The effect of Cu and Co on the protozoan populations in the rumen of rams fed hay (80 %) and barley (20 %)

	Minerálny doplnok ⁴			
	—	Cu	Co	Cu + Co
Celkový počet [x10 ³ /ml] ¹	355 ± 18	195 ± 33*	391 ± 31	348 ± 48
Rody <i>Isotricha</i> a <i>Dasytricha</i> [ml] ²	8 316 ± 999	6 016 ± 627	11 300 ± 2 828	8 822 ± 921
Rody <i>Entodiniomorphida</i> (okrem rodu <i>Entodinium</i>) [ml] ³	4 283 ± 749	2 383 ± 550	2 716 ± 322	3 650 ± 632

* — $P < 0,01$

For 1—4 see Tab. II

v tomto prípade. Stráviteľnosť kontroly (bez prídavku mikroelementov) bola 60 % a celulózy 96 %. Nezaznamenali sme však žiadny pozitívny vplyv aplikácie mikroelementov. Stráviteľnosť pilín po aplikácii Cu i Co sa dokonca znížila. Z uvedeného sa zdá akoby pozitívny účinok prídavku Cu a Co sa prejavoval skôr pri nižších stráviteľnostiach, kdežto pri vyšších môže mať i negatívny efekt. Tento poznatok však bude potrebné v ďalších experimentoch preveriť.

Vplyv mikroelementov na UMK bol dosť variabilný, a preto tu nemožno hovoriť o jednoznačných vzťahoch.

Pozitívny vplyv mikroelementov na populáciu prvokov sa prejavil len u rodov *Isotricha* a *Dasytricha* pri diéte s obsahom pilín. Negatívnu odzvu mal prídavok medi na celkový počet protozoí. Zaujímavé je však zistenie výrazne vyššieho celkového počtu prvokov pri diéte s obsahom pilín v porovnaní so senovojačmeňovou diétou.

Literatúra

- BUČKO, J. — BOĎA, K. — EISNER, K. — ZELENÁK, I. — BERACKOVÁ, D.: Príprava objemového krmiva z netradičných drevných surovín. 1987, AO č. 231 753.
- CHESTERS, J. K. — ARTHUR, J. R.: Early biochemical defects by dietary trace element deficiencies. *Nutr. Res. Rev.*, 1, 1988, s. 39—56.
- JALČ, D. — ZELENÁK, I. — BUČKO, J. — BOĎA, K. — BARAN, M.: Stanovenie výživnej hodnoty lignocelulózových materiálov. *Veter. Med. (Praha)*, 28, 1983, s. 37—44.
- KEEN, C. L. — GRAHAM, T. W.: Trace elements. In: KANEKO, J. J. (ed.): *Clinical biochemistry of domestic animals*. New York, Academic Press 1989.
- MELLENBERGER, R. W. — SATTER, L. D. — MILLET, M. A. — BAKER A. J.: An *in vitro* technique for estimating digestibility of treated and untreated wood. *J. anim. Sci.*, 30, 1979, s. 1005—1010.
- SATTER, L. D. — LOPEZ - GUISSA, J. — COMBS, D. K. — KELLAWAY, R. C. — SIEBERT, E. D.: Utilization of corn crop residues by growing dairy heifers and use of rare earth elements as digesta markers in the gut. In: Second research coordination meeting, Vienna, Austria 1984.
- THIVEND, P.: Le fermenteur rumen. *Reprod. Nutr. Dévelop.*, 25, 1985, s. 729—753.
- YOUNG, B. A.: Elements of life—the trace elements. In: Prednáška IAEA/FAO, Viedeň, 1986.
- ZELENÁK, I. — BOĎA, K. — JALČ, D. — BUČKO, J. — APALOVÍČ, R.: Utilization of secondary wood resources in ruminant nutrition. *Arch. Anim. Nutr. (Berlin)*, 40, 1990, s. 1—15.

Došlo dňa 1. 7. 1991

ZELENÁK, I. — JALČ, D. — PLACHÁ, I. — SVIATKO, P. — VENDRÁK, T. — SIROKA, P. — GYULAI, F. (Institute of Animal Physiology, Slovak Academy of Sciences, Košice; State Veterinary Institute, Košice): *The effect of copper and cobalt supplementation on the digestibility of fibrous feeds in sheep*. *Veter. Med. (Praha)*, 37, 1992 (4): 221 až 229.

The effects of an addition of copper, cobalt, and copper + cobalt on the *in vitro* digestibility of hay, treated beech sawdust and cellulose by the rumen fluid of sheep fed a complete food ration, complete food ration with 15 % treated beech sawdust and a diet consisting of 80 % hay and 20 % barley were investigated, respectively. The rumen fluid obtained from animals fed a complete food ration showed the significantly higher digestibility of hay (Tab. I) when Cu ($P < 0.05$), Co, or Cu + Co ($P < 0.001$) had been added into the rumen. The cellulose digestibility increased only after Co application ($P < 0.05$). The microelements supplementation in all three forms had a very significant effect on the digestibility of treated beech sawdust by the rumen fluid of sheep fed a diet with 15 % sawdust content, although the initial digestibility by the rumen fluid in the control animals (without microelements) was only 44.9 %. A similar trend was also observed in the cellulose digestibility, but after Co application this increase was not significant. The rumen fluid of animals fed hay (80 %) and barley (20 %) showed the highest digestibility. The digestibility of sawdust reached 60 % and the of cellulose 95.9 % without microelements supplementation (control). In this case the effect of microelement supplementation on the sawdust digestibility was manifested only in the case of cobalt by the digestibility decrease ($P < 0.001$). The cellulose digestibility also decreased after administration of Cu ($P < 0.01$) and Co ($P < 0.05$). The Cu + Co supplementation did not influence its digestibility. It follows from our results that Cu and Co supplementation had a positive effect on the digestibility of hay, treated beech sawdust and cellulose provided the animals were fed complete food rations when the rumen fluid showed the lower fermentation activity. At the diet

with the high fermentation acitivity (hay + barley) of the rumen fluid, the mineral supplementation did not increase the digestibility of sawdust or cellulose. The effect of microelements on the production and composition of volatile fatty acids was variable (Figs. 1, 2, 3 and 4). The application of Cu and Co into the rumen of sheep fed a complete food ration with 15 % treated beech sawdust increased the number of protozoa of the *Isotricha* and *Dasytricha* genus, whereas the total number of protozoa did not change (Tab. II). At the diet consisting of hay and barley the total number of protozoa decreased significantly only after Cu administration (Tab. III).

sheep; copper; cobalt; digestibility; protozoa

Adresy autorov:

MVDr. Imrich Zeleňák, DrSc., MVDr. Dušan Jalč, CSc., MVDr. Peter Sviatko, CSc., MVDr. Tibor Vendrák, RNDr. Pavel Siroka, ing. František Gyulai, CSc., Ústav fyziológie hospodárskych zvierat SAV, Dukelských hrdinov 1/B, 040 01 Košice
MVDr. Iveta Plachá, Štátny veterinárny ústav, Dukelských hrdinov 1, 040 01 Košice

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

NAUČNÝ SLOVNÍK ZEMĚDĚLSKÝ

13. díl (písmeno Z)

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

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

KONCENTRÁCIE ORTUTE V ORGÁNOCH A TKANIVÁCH OVIEC PO ZÁŤAŽI ORGANIZMU EXTRÉMNE NÍZKÝMI JEJ DÁVKAMI

P. Kačmár, J. Legáth, J. Neuschl

KAČMÁR, P. — LEGÁTH, J. — NEUSCHL, J. (Vysoká škola veterinárska, Košice): *Koncentrácie ortute v orgánoch a tkanivách oviec po záťaži organizmu extrémne nízkymi jej dávkami*. Veter. Med. (Praha), 37, 1992 [4]: 231—235.

V pokusoch na šiestich ovciach plemena slovenské merino, ktorým sa spolu s krmivom podávalo počas 28 dní 4 mg anorganickej Hg^{2+} na kus a deň sa zistili nasledovné koncentrácie reziduí ortute v orgánoch a tkanivách v porovnaní s kontrolnými zvieratami: pečeň $1,580 \pm 0,326$, resp. $0,091 \pm 0,014$ mg.kg⁻¹ Hg^{2+} ; svalovina $0,064 \pm 0,009$, resp. $0,026 \pm 0,006$ mg.kg⁻¹ Hg^{2+} ; slezina $0,142 \pm 0,025$, resp. $0,022 \pm 0,010$ mg.kg⁻¹ Hg^{2+} ; oblička $9,054 \pm 3,794$, resp. $0,128 \pm 0,080$ mg.kg⁻¹ Hg^{2+} ; obsah bachora $0,309 \pm 0,069$, resp. $0,021 \pm 0,007$ mg.kg⁻¹ Hg^{2+} ; obsah hrubého čreva $0,267 \pm 0,058$, resp. $0,043 \pm 0,004$ mg.kg⁻¹ Hg^{2+} . Z výsledkov vyplynulo, že dlhodobé prijímanie nízkych dávok ortute s krmivom malo za následok jej výraznú kumuláciu v obličkách a v pečeni. Nepomerne nižšie koncentrácie ortute boli stanovené v svalovine a slezine. Výsledky poukazujú na značné riziko kontaminácie surovín živočíšneho pôvodu ortuťou.

ortuť; nízke dávky v krmive; koncentrácia Hg v orgánoch a tkanivách oviec

Ortuť popri kadmii a olovu patrí medzi toxikologicky najvýznamnejšie kontaminanty životného prostredia. Jej zvýšená koncentrácia v jednotlivých zložkách ekosystému (voda, pôda, rastliny) vytvára reálne riziko poškodenia fyziologických funkcií živých organizmov. Môže sa to prejavovať najmä skrytými, klinicky ešte nemanifestnými účinkami (imunopatologické zmeny, teratogenita až karcerogenita, alergie a i.), ktoré sa bežne zahŕňajú k chronickým škodlivým účinkom prvkov ťažkých kovov.

Ku kontaminácii zvierat ortuťou dochádza predovšetkým emisiami zo spaľovania fosílnych palív (Airey, 1982), únikom zo závodov na spracovanie celulózy (Olsson, 1976), využívaním kalov z čistiarní odpadových vôd na hnojenie poľnohospodárskej pôdy (Hinesley a i., 1972; Cappel, 1984), používaním ortuťorganických fungicídov a i. Chemické alebo elektrochemické závody spracúvajúce ortuť kontaminujú svoje okolie ortuťovými exhalátmi až do vzdialenosti 20—100 km (Lodénus a Tulisalo, 1984).

V organizme zvierat je ortuť prítomná prevážne vo forme monometylzlúčeniny (Kamps a i., 1972; Gardner a i., 1975), pričom podiel metylortute na celkovom obsahu Hg v svalovine je až 99,7 % (Hirokatsu a Atsushi, 1984). Z toho vyplýva, že do potravinového re-

ťažca vstupuje biologicky najúčinnější organická metylovaná ortuť (Buck a i., 1980).

Koncentrácia ortute v organizme stúpa v závislosti na veku (Nriagu, 1979). Existujú údaje popierajúce vekovú závislosť rastu koncentrácie ortute v orgánoch a tkanivách zvierat (Subramanian a i., 1985). Za zmienku tu stojí spomenúť stopový prvok selén, ktorého priaznivý účinok redukuje toxicitu a rezíduá tak organickej, ako aj anorganickej ortute (Aoi a i., 1985). Presný mechanizmus tohoto protektívneho účinku selénu nie je známy (Miura a i., 1981).

Produkty hospodárskych a voľne žijúcich zvierat hrajú dôležitú úlohu vo výžive ľudí. Je preto nutné sledovať priebežne obsah ortute (olova, kadmia, prípadne i ďalších ťažkých kovových prvkov) v tkanivách a exkrétoch zvierat nielen vzhľadom k možným intoxikáciám a poruchám ich reprodukčnej schopnosti, ale i z hľadiska potenciálneho ohrozenia zdravia človeka.

V predloženej práci sa zisťovala koncentrácia ortute v orgánoch a tkanivách oviec, ktorým sa dlhodobo podávali s krmivom extrémne nízke dávky anorganickej ortute.

MATERIÁL A METÓDY

Pokusy sa realizovali na 12 ovciach plemena slovenské merino o živej hmotnosti od 22 do 28 kg. Šesť zvierat, predstavujúcich pokusnú skupinu, boli kŕmené 28 dní kŕmnou dávkou podľa ČSN 46 7070 s prídavkom 4 mg Hg^{2+} na kus a deň. Kŕmna dávka obsahovala: seno lúčne priemerné — 0,4 kg, Melasové krmivo M — 0,6 kg, ktoré obsahovalo melasu, mačkaný ovos, pšeničnú kŕmnu múku, pšeničné a ražné otruby a minerálne kŕmné prísady. Ďalších 6 oviec kŕmených tou istou kŕmnou dávkou bez prídavku ortute predstavovalo kontrolnú skupinu. Vodu sme podávali *ad libitum*.

Vzorky pre analýzu obsahu ortute (svalovina — *m. gluteus profundus*, pečeň, slezina, obličky, obsah hrubého čreva a bachora) sa odoberali ihneď po zabíjaní zvierat. Ortuť v odobraných vzorkách biologického materiálu, ako aj v sene a melasovom krmive, sa stanovovala metódou atómovej absorpčnej spektrometrie na jednoučelovom analyzátore TMA 254 (fy Tesla Holešovice). Návratnosť prídavku ortute do analyzovanej vzorky bola 99,2 %. Koncentrácia Hg je vyjadrená na kg čerstvo analyzovaného tkaniva, resp. na kg krmiva.

VÝSLEDKY A DISKUSIA

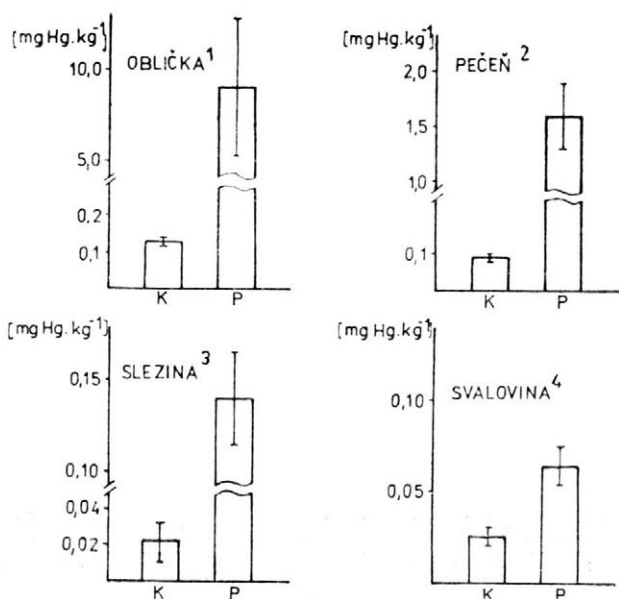
V analyzovaných orgánoch a tkanivách oviec, kŕmených 28 dní kŕmnou dávkou obsahujúcou 4 mg Hg^{2+} na kus a deň, boli zistené nasledovné koncentrácie ortute: pečeň 1,58 [1,232—2,042] mg . kg⁻¹ Hg^{2+} , svalovina 0,064 [0,048—0,074] mg . kg⁻¹ Hg^{2+} , slezina 0,142 [0,106—0,187] mg . kg⁻¹ Hg^{2+} , obličky 9,054 [5,702—14,053] mg . kg⁻¹ Hg^{2+} (obr. 1), obsah hrubého čreva 0,267 [0,197—0,347] mg . kg⁻¹ Hg^{2+} , bachorový obsah 0,309 [0,278—0,389] mg . kg⁻¹ Hg^{2+} .

Priemerná koncentrácia ortute u kontrolnej skupiny oviec činila: v svalovine 0,026 [0,020—0,038] mg . kg⁻¹ Hg^{2+} , v pečeni 0,091 [0,071—0,109] mg . kg⁻¹ Hg^{2+} , v slezine 0,022 [0,010—0,040] mg . kg⁻¹ Hg^{2+} , v obličkách 0,128 [0,119—0,138] mg . kg⁻¹ Hg^{2+} (obr. 1), v obsahu hrubého čreva (truse) 0,043 [0,037—0,048] mg . kg⁻¹ Hg^{2+} a v bachorovom obsahu 0,021 [0,016—0,037] mg . kg⁻¹ Hg^{2+} .

Koncentrácia ortute v kŕmnych komponentoch bola: v sene ($n = 10$) 0,047 [0,043—0,050], v melasovom krmive ($n = 10$) 0,007 [0,007—0,008] mg . kg⁻¹ Hg^{2+} .

1. Koncentrácia ortute v orgánoch a tkanivách oviec po perorálnom podávaní 4 mg na kus a deň — Mercury concentrations in the organs and tissues of sheep after the peroral administration of 4 mg per head/day

¹kidney, ²liver, ³spleen, ⁴muscles



28dňový perorálny denný príjem nízkych dávok ortute (4 mg.kg⁻¹ v krmive na kus a deň) mal za následok výraznú kumuláciu kovu predovšetkým v obličkách (9,054 versus 0,128 mg.kg⁻¹) a v pečeni (1,580 versus 0,091 mg.kg⁻¹). Výrazne najmenší vzrast koncentrácie ortute sa zaznamenal v svalovine (0,064 versus 0,026 mg.kg⁻¹) a v slezine (0,142 versus 0,022 mg.kg⁻¹). Koncentrácia ortute v analyzovanom sene nepresahovala hodnotu 0,050 mg.kg⁻¹ a v melase sa ortuť nachádzala v stopových množstvách (0,007—0,008 mg.kg⁻¹).

Naše výsledky sú v dobrej zhode s údajmi autorov Wright a i. (1973), ktorí sledovali distribúciu ortute v tkanivách hovädzieho dobytku a oviec po podávaní ortuť obsahujúceho fungicídu Ceresanu M. Po jednorázovej aplikácii vysokých dávok ortuťnatého prípravku (15 mg.kg⁻¹ ž. h.) pokusným zvieratám zaznamenali najvyššiu koncentráciu ortute v obličkách, nižšiu v pečeni a najnižšiu v svalovine. Autori konštatujú, že kým koncentrácia ortute v svalovine pokusných zvierat sa udržiavala na rovnakej úrovni počas celého sledovaného obdobia experimentu, reziduá v obličkách a v pečeni začali klesať počnúc 10. týždňom od jednorázového podania ortuťnatého fungicídu.

Afinita ortute k obličkám a pečeni je pravdepodobne spojená s prednostným naviazaním jej organických zlúčenín na SH⁻ skupiny plazmatických bielkovín týchto orgánov. Práve väzbou na sulfhydrylové skupiny proteínov dochádza k inhibícii proteosyntézy a tým i syntézy enzýmov a protilátok (Donaldson a Thaxton, 1975; Desnoyers a i., 1973).

V súčasných podmienkach pokračujúcej chemickej kontaminácie životného prostredia dochádza k neustálemu prívodu nízkych koncentrácií

ťažkých kovov do organizmu zvierat, kde je nutné počítať aj s chronickým škodlivým účinkom ortute a jej zlúčenín na produkčnú a reprodukčnú schopnosť úžitkových hospodárskych a voľne žijúcich zvierat.

Literatúra

- AIEREY, D.: Contribution from coal and industrial materials to mercury in air rainwater and snow. *Sci. Total Environ.*, 25, 1982, s. 19–40.
- AOI, T. — HIGUCHI, T. — KIDOKORO, R. — FUKUMURA, R. — YAGI, A. — OHGUCHI, S. — SASA, A. — HAYASCHI, H. — SAKAMOTO, N. — HANAICHI, T.: An association of mercury with selenium in inorganic mercury intoxication. *Hum. Toxicol.*, 4, 1985, s. 637–642.
- BUCK, B. — OSWEILER, D. G. — VAN VELDER, G. A.: Clinical and diagnostic veterinary toxicology. Kendall (Hult) Publishing Company, USA, 1980.
- CAPPON, CH. J.: Content and chemical form of mercury and selenium in soil sludge, and fertilizer materials. *Water Air Soil. Pollut.*, 22, 1984, s. 95–104.
- DESNOYERS, P. A. — CHANG, L. W. — LALICH, J. J.: Pathological changes in hepatocytes after acute mercury intoxication. *Fed. Proc.*, 32, 1973, s. 838–839.
- DONALDSON, W. E. — THAXTON, J. P.: Mercuric chloride affects on the activities of some hepatic enzymes in chicks (drinking water). *Poult. Sci.*, 54, 1975, s. 1611–1616.
- GARDNER, W. S. — WINDOM, H. L. — STEPHENS, J. A. — TAYLOR, F. E. — STICKNEY, R. R.: Concentration of total mercury and methylmercury in fish and other coastal organism. Implications to mercury cycling. In: HOWEL, F. G. — GENTRY, J. B. — SMITH, M. H. (eds): Mineral cycling in southeastern ecosystems. ERAA Symp. Series (Conf — 740513), 1975, s. 268–278.
- HINESLEY, T. D. — BRAIDY, D. C. — DICK, J. R. — JONES, R. I. — MALINA, J. A. E.: Agricultural benefits and environmental changes — relating from the use of digested sludge on field crops. Report. N° 001-U1-00 80, Chincinati U. S. E. P. A., 1972.
- HOROKAISU, A. — ATSUSHI, K.: A method for the determination of trace amounts of methylmercury by combined dithizone extraction and gas chromatography and its application to environmental samples. In: *Proc. Symp. on Environ. Pollut. Toxicol.*, October 16.—17., Sapporo, Japan, 1984.
- KAMPS, L. R. — CARR, R. — MILLER, H.: Total mercury monomethylmercury content of several species of fish. *Bull. Contam. Toxicol.*, 8, 1972, s. 273–279.
- LODENIUS, M. — TULISALO, E.: Environmental mercury contamination around a chlor-alkali plant. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, 32, 1984, s. 439–444.
- MIURA, K. — MORI, R. — IMURA, N.: Effect of selenium on mercury-induced renal lesion and on subcellular mercury distribution. *Ecotoxicol. Environ. Saf.*, 5, 1981, s. 351 to 354.
- NRIAGU, J. O.: The biochemistry of mercury in the environment. Elsevier North — Holland Biomedical Press, 1979.
- OLSSON, M.: Mercury levels in biota from Märrum river during a 10 year clean-up period. *Reprod. Rep. from Instit. of Fresch water, Res. Rep.*, 55, 1976, s. 92–111.
- SUBRAMANIAN, K. S. — MERANGER, J. C. — BURNETT, R. T.: Kidney and liver levels of some major, minor and trace elements in two Ontario communities. *Sci. Total Environ.*, 42, 1985, s. 223–235.
- WRIGHT, F. C. — PALMER, J. S. — RINER, J. C.: Retention of mercury in tissues of cattle and sheep given oral doses of a mercurial fungicide, Ceresan M. *J. Agric. Fd Chem.*, 21, 1973, s. 614–615.

Došlo dňa 10. 6. 1991

KAČMÁR, P. — LEGÁTH, J. — NEUSCHL, J. (University of Veterinary Medicine, Košice): *Mercury concentrations in sheep organs and tissues after loading the organism with extremely low doses.* *Veter. Med. (Praha)*, 37, 1992 (4): 231–235.

Experiments were carried out with six sheep of the Slovak Merino breed, weighing 22–28 kg. For 28 days the animals were given 4 mg inorganic Hg^{2+} in the feed per animal/day. In contrast with the controls, the following residual mercury concentrations were determined in the single organs and tissues: liver 1.580 ± 0.326 mg.kg⁻¹ Hg^{2+} and 0.091 ± 0.014 mg.kg⁻¹ Hg^{2+} , respectively muscle 0.064 ± 0.009 mg.kg⁻¹ Hg^{2+} , and 0.026 ± 0.006 mg.kg⁻¹ Hg^{2+} , resp. spleen 0.142 ± 0.025 mg.kg⁻¹ Hg^{2+} ,

and $0.022 \pm 0.010 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \text{ Hg}^{2+}$, resp. kidney $9.054 \pm 3.794 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \text{ Hg}^{2+}$, and $0.128 \pm 0.080 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \text{ Hg}^{2+}$, resp. (Fig. 1), abomasal contents $0.309 \pm 0.069 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \text{ Hg}^{2+}$, and $0.021 \pm 0.007 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \text{ Hg}^{2+}$, resp. large intestinal contents $0.267 \pm 0.058 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \text{ Hg}^{2+}$, and $0.043 \pm 0.004 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \text{ Hg}^{2+}$, resp. The results suggest that the long-term ingestion of mercury with feed leads to a pronounced Hg accumulation in the kidneys and liver. Much lower levels were observed in the muscle tissue and spleen. The affinity of mercury to the kidney and liver is probably related to the preferential bonds of organic mercury compounds to the SH^- groups of the plasma proteins in these organs. It is the bond to the sulphhydryl groups of proteins that results in the inhibition of proteosynthesis and thus enzyme and antibody inhibition. Under the conditions of continuing chemical contamination of the environment, a permanent supply of low concentrations of heavy metals the animal organism is observed. A chronic adverse effect of mercury and its compounds on the production and reproduction of both farm and wild living animals has to be taken into account.

mercury; low doses in feeds; Hg concentrations in sheep organs and tissues

Adresa autorov:

Doc. MVDr. Peter Kačmár, DrSc., MVDr. Jaroslav Legáth, CSc., MVDr. Jozef Neuschl, CSc., Vysoká škola veterinárska, Komenského 73, 041 81 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

ADVERTISEMENT

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

For a more detailed information, please contact:

VETERINÁRNÍ MEDICÍNA
atth. ing. Zdena Radošová
Ústav vědeckotechnických informací pro zemědělství
Slezská 7
120 56 PRAHA 2

KLINICKÉ ÚČINKY A MORFOLOGICKÉ ZMENY PO NÍZKYCH DÁVKACH OCHRATOXÍNU A U BROJLEROVÝCH KURČIAT

A. Mráz, J. Košutzký

MRÁZ, A. — KOŠUTZKÝ, J. (Ústav experimentálnej veterinárnej medicíny, Košice; Výskumný ústav hydínarský, Ivanka pri Dunaji): *Klinické účinky a morfológické zmeny po nízkych dávkach ochratoxínu A u brojlerových kurčiat*. Veter. Med. [Praha], 37, 1992 (4): 237—242.

Sledovali sa účinky relatívne nízkych dávok ochratoxínu A ($850 \mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$) u brojlerových kurčiat HYBRO. Ochratoxín sa podával v krmive počas výkrmu kurčiat (1—42 dní). Po vyvolanej experimentálnej ochratoxikóze sa u sexovaných kohútikov hodnotili klinické a morfológické zmeny vo veku 42 dní. Po expozícii kurčiat relatívne nízkkej dávke ochratoxínu A sa nepozorovali výraznejšie prejavy ochorenia, zmeny v správaní a pod. Od veku 14 dní sa zaznamenalo zaostávanie v raste a nižšia živá hmotnosť kohútikov oproti kontrolnej skupine. Pokles živej hmotnosti bol štatisticky preukazný vo veku 21, 28 a 35 dní. Patologicko-anatomický nález bol negatívny. Histologickým vyšetrením obličiek a pečeni sa odhalili patologické zmeny charakteristické pre ochratoxikózu. Zistila sa dystrofia epitelových buniek tubulov, eozinofilné guľôčky v lumene tubulov, dystrofické zmeny na glomeruloch a celulizácia pojivového tkaniva intertubulárnych priestorov. Nález v pečeni poukazuje na alergický prejav a obrannú reakciu organizmu voči ochratoxínu A. Na základe vykonaného experimentu možno konštatovať, že už relatívne nízke dávky ochratoxínu A vyvolávajú histopatologické zmeny v obličkách a pečeni kurčiat a môžu negatívne ovplyvňovať ich úžitkovosť.

brojlerové kurčatá; mykotoxíny; ochratoxín A; morfológické zmeny

Mykotoxín ochratoxín A (OA) patrí medzi toxické metabolity plesní z rodu *Aspergillus* a *Penicillium*. Zo známych troch foriem ochratoxínu (A, B, C) je ochratoxín A najtoxickjší (Tucker a Hamilton, 1971; Huff a i., 1975). OA vyvoláva u hydiny a ošípaných rôzne zdravotné problémy, má nefrotoxické, hepatotoxické a teratogénne účinky (Huff a i., 1974; Chernozemsky a i., 1977; Krogh 1974). Toxinogénne kmene plesní produkujúce ochratoxín rastú a pomnožujú sa vo viacerých komponentoch krmív, obzvlášť v cereáliách. Môžu predstavovať potenciálne nebezpečenstvo pre hospodárske zvieratá, ale aj človeka. V poslednom čase sa ochratoxínom venuje väčšia pozornosť v hydínarsky vyspelých štátoch vo vzťahu k úžitkovosti brojlerových kurčiat. Aj v susedných štátoch (Maďarsko, Poľsko, SRN) sa pozornosť sústreďuje na vzťahy OA k zdravotným a úžitkovým aspektom, hlavne ošípaných a hydiny. OA predstavuje hazard i z pohľadu ohrozovania zdravotného stavu

ľudí, je napr. známy endemický výskyt nefropatií v Juhoslávii, Rumunsku a Bulharsku.

Nepriaznivé biologické účinky vysokých dávok ochratoxínu A ($2-4 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$) sa sledovali u hydiny podrobnejšie a sú dokumentované vo viacerých prácach (Krogh, 1974; Dwivedi a i., 1984). Pomerne málo údajov je k dispozícii o pôsobení nižších dávok OA ako $1 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ krmiva, prípadne tzv. realistických dávok. Huff a i. (1974) uvádzajú vyššiu citlivosť 1dňových ako 21dňových kurčiat a analyzuje vekové rozdiely pri experimentálnej ochratoxikóze. Po jednorazovej veľmi vysokej perorálnej dávke ($16 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$) OA u kurčiat v klinickom obraze pozoroval nervové príznaky, hnačku, vyčerpanosť a hynutie už v priebehu 22–25 hodín. Pitvou uhynutých kurčiat zisťovali nestrávený obsah krmiva v hrvole, žlznatom a svalnatom žalúdku, petéchie na papilách žlznatého žalúdka, jemné erózie v svalovine žalúdka, bledé pečene a výrazné zmeny na obličkách a pankrease. Douppnik a Peckham (1970), Peckham a i. (1971) pri experimentálnej ochratoxikóze uvádzajú dehydratáciu a vychudlosť, drobné hemorágie v žlznatom žalúdku, enteritis a viscerálnu dnu. Mikroskopicky zistili akútnu nefrózu, degeneráciu pečene a zväčšenie epitelových buniek tubulov, rozšírenie lumene tubulov a prítomnosť proteínového materiálu v lumene tubulov. Degeneratívne zmeny a nekrózu hepatocytov potvrdili histologicky Huff a i. (1975), Elling a i. (1975) popísali toxickú nefropatiu kurčiat v štyroch porážkárňach hydiny s nálezom rezíduí ochratoxínu A vo svalovine. Mikroskopicky zisťovali degeneráciu a atrofiu proximálnych a distálnych tubulov a intersticiálnu fibrózu. Dwivedi a Burns (1984) popisujú u brojlerových kurčiat podrobné histopatologické zmeny v obličkách, pečeni, Fabríciovej burze, týmuse, slezine, nadobličkách a intestinálnych lymfatických orgánoch po dávkach 2 a $4 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ OA v krmive. V obličkách zistili hypertrofické tubuly, nekrózy epitelových buniek, dystrofické zmeny a mnohé mitózy. Najmä po vyššej dávke boli časté uzlovité infiltrácie lymfoidných buniek. V lumene tubulov sa nachádzali homogénne hyalínne gule a zhrubnutá bazálna membrána glomerulov. V pečeni sa vyskytovala vakuolizácia hepatocytov, modulárna lymfoidná infiltrácia a glykogén, najmä na periférii lobulov. V týmuse, slezine, nadobličkách a intestinálnych lymfatických orgánoch zisťovali úbytok lymfoidných buniek folikulov a redukciu zárodočných centier.

Málo údajov sa sústreďuje na dávky ochratoxínu pod $1 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ čo platí nielen pre sledovania biologických účinkov OA, ale aj pre hodnotenie jeho morfológických zmien.

Cieľom nášho pokusu bolo zhodnotiť klinicko-morfológické účinky OA u brojlerových kurčiat. Experimentálna ochratoxikóza bola vyvolaná dávkami, ktoré sa blížila k realistickým v našich podmienkach. Zamerali sme sa na hodnotenie morfológických zmien v obličkách a pečeni brojlerových kurčiat po relatívne dlhodobej expozícii OA.

MATERIÁL A METÓDA

V pokuse sa použili brojlerové kurčatá HYBRO (sexovaní kohútici otcovskej línie), ktoré sa rozdelili do dvoch skupín po 30 kusoch. Kurčatá sa umiestnili na hlbokú podstielku, vodu a krmivo mali k dispozícii *ad libitum*. Svetelný režim bol nepretržitý. Po celú dobu pokusu sa podávalo krmivo BR II (ME 12,8 MJ, N-látky 19,9 %). Pokusná skupina kurčiat dostávala v krmive $850 \mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$ OA od 1. do 42. dňa veku. Kurčatá sa vážili v 7dňových intervaloch, pravidelne sa sledoval zdravotný a kondičný stav,

zoohygienické podmienky a spotreba krmiva. Vo veku 42 dní sa kurčatá odporazili, zistovali sa hodnoty krvného obrazu (hemoglobín, hematokrit, počet erytrocytov) a patologicko-morfologické zmeny. K histologickému vyšetreniu sa odobrali vzorky pečene a obličiek. Excízie sa fixovali v 10 % formalíne a po spracovaní parafínovou technikou sa rezy farbili hematoxilín-eozínom.

VÝSLEDKY A DISKUSIA

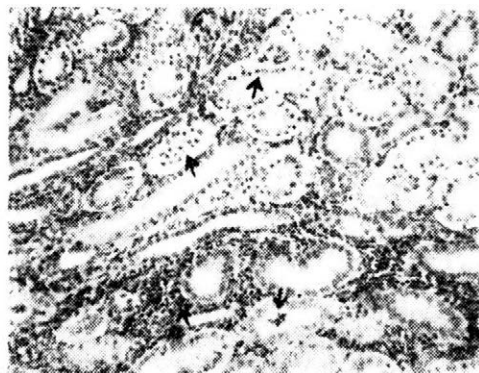
Relatívne dlhodobá expozícia brojlerových kurčiat (sexovaných kohútikov) dávke $850 \mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$ OA počas 42 dní v kŕmnej zmesi BR II nevyvolala postrehnuteľné zmeny v správaní sa kurčiat, nevedla k prejavom ochorenia resp. zvýšeniu úhynov a pod. Kurčatá pri pravidelnom týždennom vážení od veku 14 dní preukazovali nižšiu živú hmotnosť voči kontrolnej skupine. Preukazný pokles hmotnosti nastal u skupiny exponovanej OA od veku 21 dní a bol štatisticky významný aj v 28. a 35. dni. V tejto súvislosti musíme poznamenať, že zvolenú dávku OA, t. j. $850 \mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$ musíme považovať v našich podmienkach ešte za relatívne vysokú, teda skôr za výnimku ako pravidlo, čo dokumentujú aj výsledky vyšetrenia krmív (Ruprich a i., 1988; Piskač a Ruprich, 1989). Pri hodnotení spotreby krmiva sa medzi jednotlivými skupinami preukazné rozdiely nepozorovali.

Patologicko-anatomický nálež po 42. dňoch skrmovania ochratoxínu nevykazoval u brojlerov významnejšie odchýlky od normálu. V sledovanom období neuhynuli žiadne kurčatá ani v pokusnej, ani kontrolnej skupine. To nasvedčuje, že v terénnych podmienkach by prebiehala náhodná mierna ochratoxikóza subklinicky, a aj bežnou veterinárnou prehliadkou v podobnom prípade by sa nedali rozlíšiť kurčatá exponované rovnakej dávke OA.

Histologické vyšetrenie obličiek a pečene odhalilo patologické zmeny, ktoré dosť jasne poukazujú na nepriaznivé pôsobenie OA skrmovaného po dobu 42 dní na zdravotný stav kurčiat. Histologicky sa v obličkách našli v menšom rozsahu dystrofické zmeny epitelových buniek tubulov (obr. 1) v lumene tubulov eozinofilné guľôčky, prítomnosť ojedinelých lymfocytov a ložisková celulóza v pojivovom tkanive intertubulárnych priestorov. Ďalej sa zisťovali dystrofické zmeny na glomeruloch (obr. 2), vakuolizácia a zhrubnutie bazálnej membrány (obr. 3). V pečeni poukazoval nálež na nápadné zmnoženie lymfoidných buniek formujúcich sa do folikulov a na dosť výraznú ložiskovú infiltráciu s prevahou eozinofilných granulocytov (obr. 4).

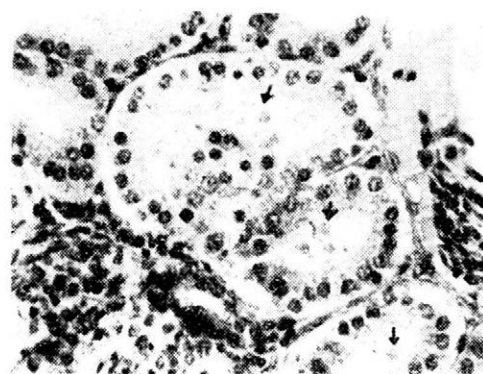
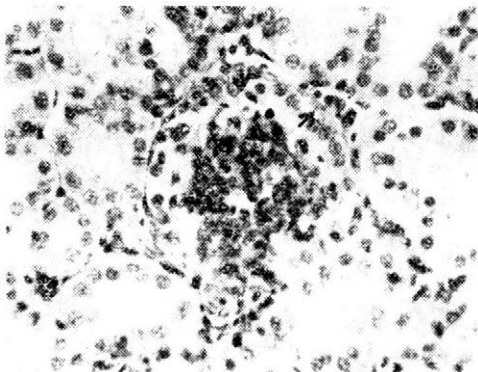
Aj keď histologický nálež v obličkách nebol veľkého rozsahu, predsa len mal charakteristické znaky ochratoxikózy ako ich v tomto orgáne uvádzajú Dwivedi a Burns (1984), Doupník a Peckham (1970), Huff a i. (1975), Elling a i. (1975). Zaujímavý nálež bol v pečeniach. Výrazné zmnoženie lymfoidných buniek formujúcich sa do zhlukov — folikulov a nápadná eozinofília poukazujú na alergický prejav a obrannú reakciu organizmu voči OA. Výsledok nášho histologického vyšetrenia nás oprávňuje k uzáverom, že už dávka OA nižšia ako $1 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ krmiva môže vyvolať poruchy zdravotného stavu kurčiat, čo je v súlade s údajmi, ktoré uvádza Huff a i. (1974).

Hematologické vyšetrenia sa vykonali po 42dňovej expozícii kohútikov OA. Zamerali sme sa na porovnanie hodnôt hemoglobínu, erytrocytov a hematokritu (tab. I). V priemere nižšie hodnoty hemoglobínu, počtu



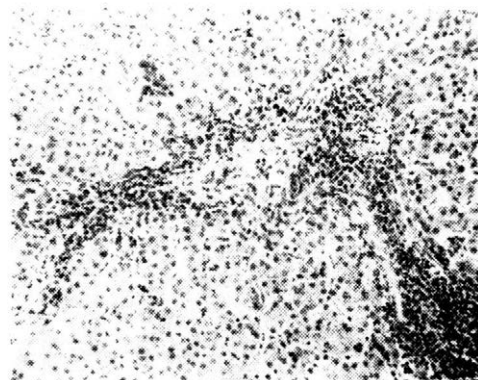
1. Oblička. Ochratoxikóza. Dystrofia epitelových buniek tubulov, bunečný infiltrát v lumene tubulov, intertubulárna celulizácia. Ok. 15 $\times$, obj. 16 $\times$, H-E [Foto Blahutiaková] — Kidney, ochratoxicosis. The dystrophy of the tubular epithelial cells, cellular infiltrate in the tubulus lumen, intertubular cellulization. Eyepiece 15 $\times$, lens 16 $\times$, H-E [The photo by Blahutiaková]

2. Oblička. Ochratoxikóza. Dystrofia glomerulu, zosilená bazálna membrána. Ok. 15 $\times$, obj. 40 $\times$, H-E [Foto Blahutiaková] — Kidney. Ochratoxicosis. The dystrophy of glomerules, the thickened basal membrane. Eyepiece 15 $\times$, lens 40 $\times$, H-E [The photo by Blahutiaková]



3. Oblička. Ochratoxikóza. Hyalínne kvapčky v lumene tubulov. Ok. 15 $\times$, obj. 40 $\times$, H-E [Foto Blahutiaková] — Kidney. Ochratoxicosis. Hyaline droplets in the tubulus lumen. Eyepiece 15 $\times$, lens 40 $\times$, H-E [The photo by Blahutiaková]

4. Pečeň. Ochratoxikóza. Ložisková zápalová infiltrácia s prevahou eozinofilných granulocytov. Ok. 15 $\times$, obj. 16 $\times$, H-E [Foto Blahutiaková] — Liver. Ochratoxicosis. The focus of inflammatory infiltration with a prevalence of eosinophil granulocytes. Eyepiece 15 $\times$, lens 16 $\times$, H-E [The photo by Blahutiaková]



Skupiny ¹	Hemoglobín ⁴ (g %)	Erytrocyty ⁵ ($\times 10^{12} \cdot l^{-1}$)	Hematokrit ⁶ (%)
Kontrola ²	79,2	2,17	29,8
Ochratoxín ³ (850 $\mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$)	74,4	2,15	28,5

¹groups, ²control, ³ochratoxin, ⁴haemoglobin, ⁵erythrocytes, ⁶haematocrit

erytrocytov a hematokritu sa síce zaznamenali v skupine exponovanej ochratoxínu A, avšak dávka OA a dĺžka aplikácie (42 dní) nemala preukazný vplyv na sledované hematologické ukazovatele. K preukazným zmenám hematologických ukazovateľov došlo napr. u kurčiat po expozícii vyšším dávkam OA, 2–4 mg $\cdot \text{kg}^{-1}$ (Bailey a i., 1989). V našom prípade podaná dávka 850 $\mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$ v krmive vyvolala pokles hemoglobínu. Z vyhodnoteného počtu zvierat v jednotlivých skupinách (10 kusov) nebol tento rozdiel preukazný. Vo viacerých sledovaných ukazovateľoch sa zisťovali jedinci relatívne odolní voči podaným dávkam mykotoxínu, čo sa potvrdilo aj v niektorých našich predchádzajúcich pokusoch. Na strane druhej prejavovali niektoré kurčatá citlivejšiu reakciu, čo v súhrnnom hodnotení vyznievalo v smere nehomogenity vo viacerých sledovaných ukazovateľoch.

Literatúra

- BAILEY, C. A. — GIBSON, R. M. — KUBENA, L. F. — HUFF, W. E. — HARVEY, R. B.: Ochratoxin A and dietary protein. 2. Effects on hematology and various clinical chemistry measurements. *Poult. Sci.*, **68**, 1989, s. 1664–1671.
- DWIVEDI, P. — BURNS, R. B.: Pathology of ochratoxicosis A in young broiler chicks. *Res. veter. Sci.*, **36**, 1984, s. 92–103.
- DWIVEDI, P. — BURNS, R. B. — MAXWELL, M. H.: Ultrastructural study of the liver and kidney in ochratoxicosis A in young broiler chicks. *Res. veter. Sci.*, **36**, 1984, s. 104–116.
- DOUPNIK, B. — PECKHAM, I. C.: Mycotoxicity of *Aspergillus ochraceus* to chick. *Appl. Microbiol.*, **19**, 1970, s. 594–597.
- ELLING, F. — HALD, B. — JACOBSEN, C. — KROGH, P.: Spontaneous toxic nephropathy in poultry associated with ochratoxin A. *Acta path. microbiol. scand., Sect. A*, **83**, 1975, s. 739–741.
- HUFF, W. E. — WYATT, R. D. — TUCKER, T. L. — HAMILTON, P. B.: Ochratoxicosis in broiler chicken. *Poult. Sci.*, **53**, 1974, s. 1585–1591.
- HUFF, W. E. — WYATT, R. D. — HAMILTON, P. B.: Nephrotoxicity of dietary ochratoxin A in broiler chickens. *Appl. Microbiol.*, **30**, 1975, s. 48–51.
- CHERNOZEMSKY, I. N. — STOYANOV, I. S. — PETKOVA-BOCHAROVA, T. K.: Geographic correlation between the occurrence of endemic nephropathy and urinary tract tumours in Vratza district, Bulgaria. *Int. J. Canc.*, **19**, 1977, s. 1–11.
- KROGH, P.: Mycotoxic porcine nephropathy: a possible model for Balkan endemic nephropathy. In: PUCHLEV, A., (ed.): *Endemic Nephropathy*. Proceedings of the Second International Symposium on Endemic Nephropathy, Sofia, 9–11 november 1972, Bulgarian Academy of Science, 1974, s. 266–270.

PECKHAM, J. C. — DOUPNIK, B. — JONES, O. H.: Acute toxicity of ochratoxins A and B in chicks. *Appl. Microbiol.*, 21, 1971, s. 492—494.

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

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

TUCKER, T. L. — HAMILTON, P. B.: The effect of ochratoxin in broilers. *Poult. Sci.*, 50, 1971, s. 1637.

Došlo dňa 17. 6. 1991

MRÁZ, A. — KOŠUTZKÝ, J. (Institute of Experimental Veterinary Medicine, Košice; Unigal Company, Poultry Research Institute, Ivanka pri Dunaji): *Clinical effects and morphological lesions after low ochratoxin A levels in broiler chicks*. *Veter. Med. (Praha)*, 37, 1992 (4): 237—242.

Ochratoxin A (OA) was fed to HYBRO broiler chicks at a relatively low levels of 850 µg/kg up age 42 days. The effects of OA on chick development, health state and the patho-morphological lesions in internal organs were investigated in this experiment. The chicks exposed to the relatively low OA levels were observed to lag behind in their growth; this was confirmed by their regular weekly weighing when the lower liveweight in comparison with the control group was recorded from the age of 14 days. A decrease in the liveweight was statistically significant at the age of 21, 28 and 35 days. The patho-anatomic finding was negative. A histological examination of kidneys and liver revealed the pathological lesions typical for ochratoxicosis. The lesions observed included the dystrophy of the tubular epithelial cells (Fig. 1), eosinophil granules in the tubulus lumen (Fig. 3), dystrophic lesions in the glomerules (Fig. 2) and cellulization of the connective tissue of intertubular spaces (Fig. 1). The lesions of liver (Fig. 4) show to allergic responses and defense reactions of the organism to the OA action. On the basis of results it can be concluded that the relatively low ochratoxin levels cause histopathological lesions in the kidneys and liver of chicks, and in this way they can negatively influence their development and performance.

broiler chicks; mycotoxins; ochratoxin A; morphological lesions

Adresy autorov:

MVDr. Albín Mráz, Ústav experimentálnej veterinárnej medicíny Košice, pracovisko Ivanka pri Dunaji, 900 28 Ivanka pri Dunaji

MVDr. Jozef Košutzký, DrSc., Unigal, š. p., Výskumný ústav hydinársky, 900 28 Ivanka pri Dunaji

POUŽITÍ XYLAZINU S KETAMINEM K ÚVODU HALOTANOVÉ ANESTÉZIE U PSA

J. Mezerová, M. Snášil, L. Němeček

MEZEROVÁ J. — SNÁŠIL, M. — NĚMEČEK, L. [Vysoká škola veterinární, Brno]: *Použití xylazinu s ketaminem k úvodu halotanové anestézie u psa*. Veter. Med. Praha, 37, 1992 (4): 243—248.

V práci podáváme zkušenosti s použitím xylazinu s ketaminem jako úvodní anestézie při inhalační halotanové narkóze u psa. Po zhodnocení tohoto postupu u 10 pokusných psů jsme xylazin-ketaminový úvod použili při různých operačních zákrocích u více než 160 pacientů. Po premedikaci atropinem ($0,05 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$) a xylazinem ($1,5\text{--}2 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$) společně *t. m.* jsme psy uvedli do celkové anestézie *i. v.* podáním 1% roztoku ketaminu ($2 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$). Po intubaci a napojení zvířete k narkotizačnímu přístroji byla k dosažení tolerančního stadia narkózy potřebná 2,5—3,5% koncentrace halotanu po dobu 2—8 minut. Potom byla anestézie udržována 0,5—1,5% koncentrací par halotanu. Na základě našich výsledků by ověřovaný způsob mohl nahradit tradiční úvod thiopentalem, u něhož je nebezpečí kardiopulmonální deprese až zástavy oběhu.

pes; inhalační anestézie; xylazin; ketamin; halotan; puls; EKG; teplota; dech; dechové objemy; acidobazická rovnováha

Pro řadu déletrvajících operačních výkonů se na specializovaných veterinárních pracovištích používá inhalační halotanová anestézie. K jejímu úvodu se pro klidný a rychlý úvod stále používá thiopental (Drábková, 1987). Thiopental však s sebou nese riziko deprese dechu a akutní zástavy oběhu, protože stejně jako ostatní barbituráty vykazuje negativní inotropní účinek. Především je to v případech, kdy zvolená dávka není přizpůsobena zhoršenému zdravotnímu stavu a věku pacienta (Schatzmann, 1986).

Ačkoliv zkušenosti s xylazinem a ketaminem pro injekční anestézi jsou uvedeny v řadě publikací, nesetkali jsme se v literatuře s konkrétními údaji o použití kombinace těchto látek k úvodu do inhalační halotanové narkózy u psa. Proto jsme na skupině pokusných zvířat zhodnotili tuto kombinaci jako úvod do inhalační anestézie psa směsí halotanu, oxidu dusného a medicínálního kyslíku s předpokladem využití získaných poznatků u klinických pacientů.

MATERIÁL A METODA

Xylazin-ketaminový úvod do inhalační halotanové anestézie jsme použili u více než 170 psů. Pokusnou skupinu tvořilo 10 klinicky zdravých psů, většinou kříženců obojího

pohlaví, ve věku 3—9 roků a hmotnosti 14,5—32 kg, kteří byli připraveni 24hodinovou hladovkou. Vedle této skupiny byl ověřovaný způsob použit u více než 160 klinických pacientů při operačních výkonech na pohybovém ústrojí (kloubní operace, osteosyntézy), na trávicím traktu, na oku, při extirpaci novotvarů, při ošetření rozsáhlých poranění a dalších.

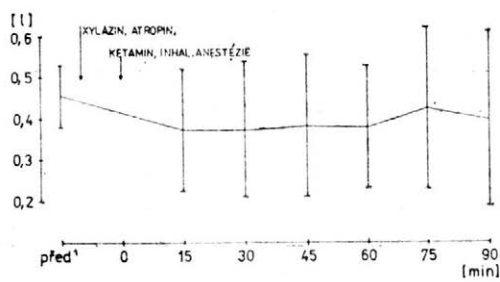
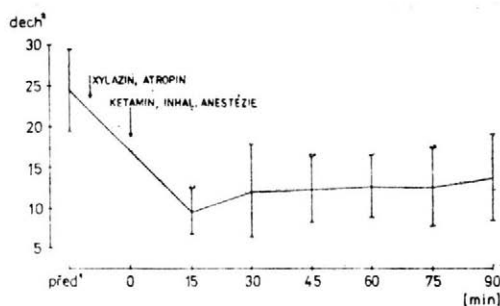
U pokusných psů i u pacientů byla anestézie vedena stejným způsobem. Po premedikaci atropinem v dávce $0,05 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ společně s xylazinem (Rometa 2 % inj.) v dávce $1,5\text{--}2 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ i. m. byl po nástupu sedace pomalu i. v. injikován 1% roztok ketaminu (Narkamon) v dávce $2 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$. Po ukončení aplikace ketaminu jsme zavedli endotracheální kanylu o průměru 7,5—14 mm podle hmotnosti zvířete a připojili pacienta k narkotizačnímu přístroji. Směs halotanu (Narcotan), oxidu dusného a kyslíku jsme podávali v zavřeném dvojcestném okruhu, přičemž počáteční koncentrace halotanu, až k dosažení tolerančního stadia narkózy, byla 2,5—3,5 %; k udržování tohoto stadia se pohybovala mezi 0,5—1,5 %, v závislosti na klinických příznacích anestézie. Kyslík a oxid dusný byly dodávány v množství používaném v humánní anesteziologii a ověřeném na chirurgické klinice VŠV (tab. 1). V pokusné skupině byla u všech psů udržována inhalační anestézie po dobu 90 min, u pacientů trvala do skončení operačního zákroku a její délka se v jednotlivých případech pohybovala v rozmezí 20—150 minut.

Vedle hodnocení vlastní anestézie jsme sledovali v pokusné skupině ve stanovených intervalech — před zahájením pokusu a za 15, 30, 45, 60 a 90 min inhalační anestézie — dechovou frekvenci, dechové objemy, vnitřní tělesnou teplotu a snímali EKG. Před pokusem, po doclení tolerančního stadia narkózy (v průměru za 6 min po intravenózní aplikaci ketaminu) a v 90. minutě inhalační anestézie jsme odebírali venózní krev pro posouzení ukazatelů acidobazické rovnováhy. Hloubku analgie jsme u pokusných psů ověřovali vpichy jehlou v mezivrstvi, u klinických pacientů podle reakce zvířete na prováděný operační zákrok. Statistické zhodnocení měřitelných veličin jsme provedli párovým *t*-testem (Reisenauer, 1970). Grafické znázornění stanovených hodnot jsme vyjádřili pomocí mezí spolehlivosti, zjištěných metodou intervalového odhadu aritmetického průměru s 99% spolehlivostí.

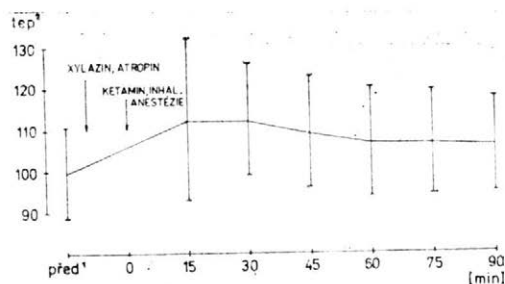
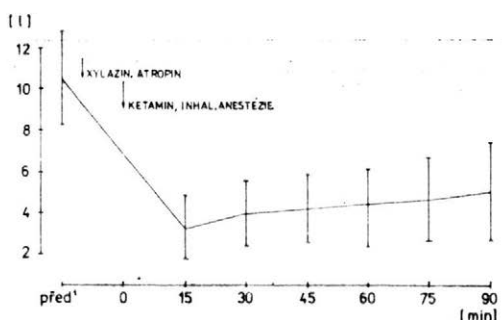
VÝSLEDKY

Průběh úvodní xylazin-ketaminové anestézie i vlastní inhalační halotanové narkózy byl u pokusných psů i klinických pacientů podobný. Po premedikaci xylazinem nastoupila sedace v jednotlivých případech za 13—20 min (průměrně za 16 min). U jednoho pokusného psa a u pěti pacientů došlo po nástupu účinku k vomitu. Úvod do celkové anestézie pomalou i. v. aplikací 1% roztoku ketaminu v rozmezí 30—60 s byl plynulý. Anestézie nastoupila při dokončení podání, pouze u tří případů až do dvou minut po aplikaci. U jednoho pacienta nastaly ihned po injikování epileptiformní křeče a psa se nepodařilo intubovat. U sedmi psů se objevilo zpomalené dýchání až apnoe trvající do jedné minuty, u jednoho psa výjimečně tři minuty. V žádném případě jsme nezjistili dráždivý účinek ketaminu a výskyt zánětlivé reakce v místě aplikace. Výchozí 2,5—3,5% koncentrací halotanu bylo dosaženo tolerančního stadia narkózy během 2—8 min, potom byla anestézie udržována 0,5—1,5% koncentrací. V případech, kde se v průběhu anestézie objevovaly známky probouzení, byla koncentrace halotanu přechodně krátkodobě zvýšena na 2,0—2,5 %. Probouzení po ukončení narkózy bylo klidné, bez vedlejších nežádoucích projevů. K celkovému zotavení, kdy pes byl schopen se postavit, docházelo mezi 30 a 90 minutami.

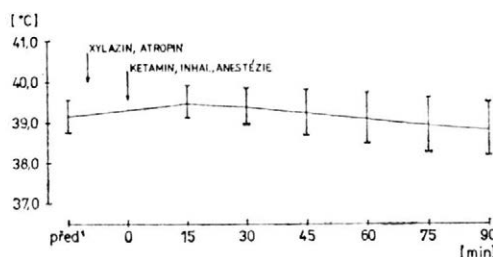
Z měřitelných veličin došlo k statisticky významnému poklesu hodnot u dechové frekvence (obr. 1) a minutového dechového objemu (obr. 2) v měření 15 minut od zahájení inhalační anestézie. Hodnoty dechového objemu (obr. 3) se v průběhu anestézie průkazně neměnily. Rovněž byl zaznamenán průkazný pokles vnitřní tělesné teploty (obr. 4) od 30. minuty měření. Hodnoty tepové frekvence (obr. 5) se naopak významně



1. Hodnoty dechové frekvence — The values of breathing rate
2. Hodnoty minutového dechového objemu — The values of per-minute breathing capacity



3. Hodnoty dechového objemu — The values of inspiratory and expiratory volumes
4. Hodnoty vnitřní tělesné teploty — The values of internal body temperature



5. Hodnoty tepové frekvence — The values of pulse rate

zvýšily v měření za 15 minut od začátku inhalace. Vyhodnocením ukazatelů acidobazické rovnováhy (tab. II) byly zjištěny statisticky průkazné rozdíly u hodnot pH, pCO_2 a pO_2 v komparaci s výchozími hodnotami. Rozborem EKG křivek nebyly zjištěny abnormální odchylky.

1. Anestetický postup při xylazin-ketaminovém úvodu a inhalační halotanové narkóze — An anaesthetic procedure for the xylazine-ketamine induction and halothane inhalation anaesthesia

Premedikace ¹	
Atropin	0,05 mg · kg ⁻¹
Xylazin	2,00 mg · kg ⁻¹ , společně <i>i. m.</i> ¹⁰
Úvod ²	
Ketamin	2,00 mg · kg ⁻¹ , pomalu <i>i. v.</i> ¹¹
Inhalační anestézie směsí halotanu, ³ O ₂ a N ₂ O	
Koncentrace halotanu: ⁴	počáteční ⁵ 2,5—3,5 % v průběhu anestézie ⁶ 0,5—1,0 %
Průtok O ₂ a N ₂ O v uzavřeném systému: ⁷	
při hmotnosti psa ⁸	do 10 kg 0,3—0,5 l O ₂ /min 10—20 kg 0,6—0,8 l O ₂ /min 20—30 kg 0,9—1,4 l O ₂ /min 30—40 kg 1,5—2,0 l O ₂ /min
Poměr O ₂ a N ₂ O: ⁹	1 : 2

¹ pre-medication, ² induction, ³ halothane inhalation anaesthesia, ⁴ halothane concentrations, ⁵ initial, ⁶ during anaesthesia, ⁷ O₂ and N₂O circulation in a closed system, ⁸ at the dog weight, ⁹ O₂ to N₂O ratio, ¹⁰ jointly *i. m.*, ¹¹ slowly *i. v.*

- II. Hodnoty ukazatelů acidobazické rovnováhy stanovené v krvi odebrané před pokusem (1), po *i. v.* aplikaci ketaminu (2) a po skončení inhalační halotanové anestézie (3) — The values of acid-base balance parameters determined in the blood collected before the experiment (1), after ketamine *i. v.* implantation (2) and after the termination of halothane inhalation anaesthesia (3)

Odběr ¹ 1	pH	pCO ₂ [kPa]	pO ₂ [kPa]	HCO ₃ ⁻ (MM · l ⁻¹)
<i>x</i>	7,333	5,288	8,036	21,05
<i>s</i>	± 0,042	± 0,361	± 1,224	± 1,85
<i>s_x</i>	± 0,013	± 0,114	± 0,387	± 0,59
<i>v</i> [%]	0,57	6,83	15,23	8,77
Odběr ¹ 2				
<i>x</i>	7,318	6,257	7,143	22,34
<i>s</i>	± 0,044	± 0,869	± 0,874	± 1,96
<i>s_x</i>	± 0,014	± 0,275	± 0,276	± 0,62
<i>v</i> [%]	0,60	13,90	12,23	8,78
Odběr ¹ 3				
<i>x</i>	7,311	6,486	7,101	22,08
<i>s</i>	± 0,035	± 0,792	± 1,102	± 2,46
<i>s_x</i>	± 0,01	± 0,251	± 0,348	± 0,78
<i>v</i> [%]	0,47	12,17	15,51	11,13

x — aritmetický průměr — arithmetical mean
s — směrodatná odchylka — standard deviation
s_x — střední chyba průměru — standard error of the mean
v — variační koeficient — coefficient of variance

¹ sampling

Pro úvod do inhalační halotanové anestézie jsme použili na klinice běžně používanou metodu injekční xylazin-ketaminové anestézie, publikovanou autory Němeček aj. (1986). Naše výsledky jsme srovnávali s údaji Izquierdo (1982), která pro úvod do 60minutové halotanové anestézie použila thiopental. Podobně jako Izquierdo (1982) jsme zaznamenali klidné navození celkové anestézie. Na základě našich dlouhodobých zkušeností s thiopentalovým úvodem můžeme konstatovat, že i po xylazin-ketaminovém úvodu je intubace rovněž dobře proveditelná, avšak v důsledku zachovaných reflexů v oblasti hltnu a dýchacích cest poněkud obtížnější než po aplikaci thiopentalu. Vlivem podráždění dýchacích cest může být nešetrnou intubací vyvolána krátkodobá apnoe. Proto je výhodné potříť povrch endotracheální kanyly anestetizující látkou (Mesocain gel, Cinchocain ung.).

Zatímco u thiopentalu je obecně známa dráždivost tkání vedoucí až k nekróze při eventuálním paravenózním podání (Drábková, 1981), nezjistili jsme ani v jednom případě zánětlivou reakci v místě injikování ketaminu. Až na jeden případ navodil xylazin výhodnou sedaci, která umožnila zejména u větších plemen psů snadnější manipulaci se zvířetem a usnadnila intravenózní aplikaci ketaminu. Nežádoucí účinky ketaminu v podobě křečí u jednoho pacienta připisujeme nedostatečné sedaci xylazinem. Při použití thiopentalu popisu je Izquierdo (1982) při probouzení z narkózy u některých zvířat psychomotorický neklid, probouzení u námi ověřovaného způsobu bylo ve všech případech klidné, bez rušivých momentů.

Souhlasně s literárními údaji jsme zaznamenali průkazný přechodný útlum dechové činnosti při xylazin-ketaminovém úvodu a z počátku halotanové anestézie. Signifikantní zvýšení hodnot tepové frekvence po zahájení inhalační anestézie lze přičíst tachykardickému vlivu atropinu a ketaminu. Statisticky průkazné odchylky v hodnotách acidobazické rovnováhy svědčí i při tomto způsobu narkózy pro částečně kompenzovanou respirační acidózu.

Literatura

- DRÁBKOVÁ, J.: Novinky ve farmakologii v oboru anesteziologie a resuscitace. Ref. výběr z anest. a resusc., 34, 1987, č. 1, s. 13—18.
 DRÁBKOVÁ, J. a kol.: Základy anesteziologie. 1. vyd., Praha, Avicenum 1981, 548 s.
 IZQUIERDO, C.: Vliv thiopental-halotanové narkózy u psa na některé hematologické a biochemické ukazatele. [Kandidátská dizertace.] Brno, 1982, 132 s.
 NĚMEČEK, L. — NECHVÁTAL, M. — SNÁŠIL, M.: Anestézie u psa xylazinem a ketaminem. Veterinářství, 36, 1986, č. 1, s. 38—39.
 REISENAUER, R.: Metody matematické statistiky a jejich aplikace. 2. vyd., Praha, SNTL 1970, 239 s.
 SCHATZMANN, U.: Vorlesung über allgemeine und spezielle Anaesthesiologie der Tiere. 1. vyd., Bern, 1986, 155 s.

Došlo dňa 6. 5. 1991

MEZEROVÁ, J. — NĚMEČEK, L. — SNÁŠIL, M. (University of Veterinary Medicine, Brno): *The administration of xylazine and ketamine of halothane anaesthesia in dogs.* Veter. Med. (Praha), 37, 1992 (4): 243—248.

Our experience of the administration of xylazine and ketamine for an induction of halothane inhalation anaesthesia in dogs is described in this paper. After this procedure

had been evaluated in 10 test dogs, the xylazine-ketamine induction was used for different surgical interventions in 160 patients. After joint *i. m.* atropine (0.05 mg/kg) and xylazin (1.5–2 mg/kg) pre-medication general anaesthesia of the dogs was induced by an *i. v.* administration of 1% ketamine (2 mg/kg). After intubation and anaesthetizer connection halothane vapours had to be applied for 2 to 8 minutes at a 2.5% to 3.5 % concentration to induce the tolerance stage of anaesthesia. Then the anaesthesia level was maintained by an application of halothane vapours at a 0.5 to 1.5% concentration (Tab. I). In addition to an evaluation of the anaesthesia proper, breathingrate, inspiratory and expiratory volumes, internal body temprature were recorded, ECG was made and venous blood samples were taken to evaluate acid-base balance changes. The processing of the obtained data (Figs. 1 to 5, Tab. II) revealed a transient breathing attenuation after the xylazine-ketamine induction and partly compensated respiratory acidosis. On the basis of our results this tested method can replace the traditional thiopental induction associated with the risks of cardiopulmonary depression, or even blood circulation stoppage.

dog; inhalation anaesthesia; xylazine; ketamine; halothane; pulse; ECG; temperature; breathing; inspiratory and expiratory volumes; acid-base balance

Adresa autorů:

MVDr. Jana Mezerová, MVDr. Milan Snášil, CSc., doc. MVDr. Ladislav Němeček, CSc., Vysoká škola veterinární, Palackého 1–3, 612 42 Brno

LOŽISKOVÉ ZMENY V PLÚCACH ZAJACA POĽNÉHO VYVOLANÉ PARAZITOM *PROTOSTRONGYLUS COMMUTATUS* (DIESING, 1851)

A. Pajerský, R. Švarc, M. Medveďová

PAJERSKÝ, A. — ŠVARC, R. — MEDVEĎOVÁ, M. [Helmintologický ústav SAV, Košice]: *Ložiskové zmeny v pľúcach zajaca poľného vyvolané parazitom Protostrongylus commutatus* (Diesing, 1851). Veter. Med. (Praha), 37, 1992 (4): 249—255.

Študovali sme patomorfologický obraz pľúc zajaca poľného (*Lepus europaeus* Pallas, 1778), vyvolaný parazitom *P. commutatus* (Diesing, 1851). Ložiskové zmeny morfológicky pripomínajú ľahňové uzly protostrongylidóz malých domácich prežúvavcov, no chýba v nich pohlavne produkčný červ. Podľa našich zistení ich formujú neoplozené vajčka, alebo rozpadávajúce sa larvy vyvolávajúce zápalové reakcie, ktoré sa rozšírili z bronchiolov do okolia. Makroskopicky sa ložiskové zmeny prejavujú ako emfyzematické, zápalové a indurované okrsky, ktoré sa lokalizujú hlavne na koncoch diafragmatických lalokov. Výrazný edém, ktorý sprevádza regeneračné pochody v ložiskových zmenách, vytvára vhodné podmienky na uplatnenie sa sekundárnych infekcií najrozmanitejšej etiológie. Považujeme preto ložiskové zmeny z patogenetického a prognostického hľadiska za veľmi nepriaznivé pre ďalší priebeh ochorenia.

zajac poľný; *Protostrongylus commutatus*; ložiskové zmeny; emfyzém; zápal; indurácie; edém; pohlavné produkty

Literárne údaje o patomorfologickom obraze zajačej protostrongylózy, najmä opisy makroskopického prejavu sú rozdielne. Cvetajeva a Mozgovej (1960) uvádzajú, že protostrongylózne zmeny na pľúcach zajaca makroskopicky niekedy imitujú pseudotuberkulózu. Wetzel a Rieck (1972) ich opisujú ako hnedočervené tuhé ložiská rozdielnej veľkosti. Hell (1972) opisuje pľúca zajacov invadované parazitom *P. commutatus* ako zväčšené a na povrchu hrboľaté. Kotlán (1960), Babos (1962), Kotsche a Gottschalk (1977) uvádzajú, že každý druh rodu *Protostrongylus* parazitujúci v pľúcach zajacov má tak charakteristický makroskopický obraz, že už adspekčné vyšetrenie pľúc je dostatočné pre určenie druhu.

Nami vyšetrované zajace boli invadované len jedným druhom parazita, a to *P. commutatus*. Morfológický obraz pri monohelmintóze vytvára podklad pre praktickú diagnostiku pľúcnej červivosti u tejto lovnéj zveri v našich prírodných podmienkach.

MATERIÁL A METÓDY

Výsledky vychádzali z vyšetrenia 42 zajacov poľných (*Lepus europaeus* Pallas, 1778) zo všetkých ročných období v priebehu štyroch rokov. Zo zajacov získaných individuálnym odstrelom sme do jednej hodiny po odstrelе vypitvali pľúca a vyšetrili ich

úplnou orgánovou helmintologickou pítvou. Hodnotili sme na nich aj veľkosť, farbu, konzistenciu a miesta odlišujúce sa od zdravých pľúc, a to tak na povrchu, ako aj v pľúcnom parenchýme. Pľúcny parenchým sme vyšetřovali kompresorickou metódou. Táto metóda umožnila určovať nielen vývinové štádiá pľúcneho nematóda, ale aj etiológicky poukázať na charakter pľúcnych lézií. Na základe tohto predbežného vyšetřenia sme odoberali pľúcne excízie na histopatologické štúdium. Fixovali sme ich 24 hodín Boulinovým fixačným roztokom, alebo neutrálnym formolom. Po odvodnení v stúpajúcej alkoholovej rade sme ich zaliali do parafínu. Rezy hrubé 7–10 μm sme farbili hemalaun-eozínom a zaliali do kanadského balzamu [Kutlík, 1950]. Makro- a mikroskopické zmeny sme fotograficky dokumentovali.

VÝSLEDKY

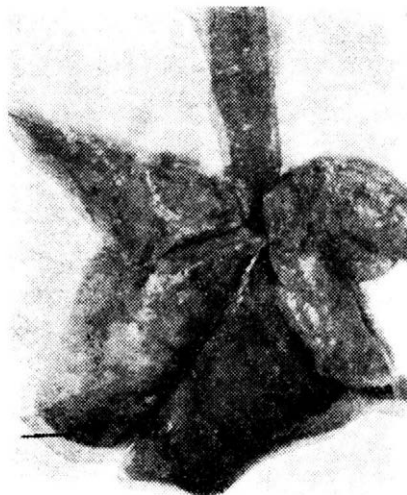
Patomorfologické zmeny v pľúcach zajacov vyvolané parazitom *P. commutatus* sa makroskopicky prejavujú ako zmeny ložiskové a uzlíkové. Vzhľadom na to, že ložiskové zmeny morfológicky pripomínajú liahňové uzly protostrongylidóz malých domácich prežúvavcov, rozhodli sme sa ich zhodnotiť samostatne.

Ložiskové zmeny sa na povrchu zajačích pľúc prejavujú ako emfyzematické, zápalové a indurované okrsky. Lokalizujú sa prevažne na oboch koncoch diafragmatických lalokov. Keď v ložiskových zmenách prevláda emfyzém, sú svetlé a nápadne sa odlišujú od okolia (obr. 1). Dilatované alveoly dávajú tomuto protostrongylóznemu afektu štruktúrally náznak pripomínajúci malinu. Makroskopicky ho môžeme vtesnať do formy viaclaločného útvaru. V zoškraboch rezných plôch z emfyzematických ložísk sme našli len neoplodnené vajíčka protostrongyla. Dospelé červy sme nikdy nenašli. Nepotvrdilo ich ani kompresorické vyšetřenie celého emfyzematického okrsku a jeho okolia. V histologických preparátoch ložiskový emfyzematický afekt ohraničuje zóna stlačených pľúcnych štruktúr, bez zreteľnejších príznakov rozvoja atelektatických zmien (obr. 2). Emfyzematické zmeny v zajačích pľúcach vyvolávajú výrazné exudatívne zápalové procesy v bronchoch a bronchioloch, stimulované neoplodnenými a rozpadávajúcimi sa vajíčkami, s tendenciou rýchlo prenikať do okolitých pľúcnych tkanív.



1. Emfyzematický okrskok — An emphysematous area

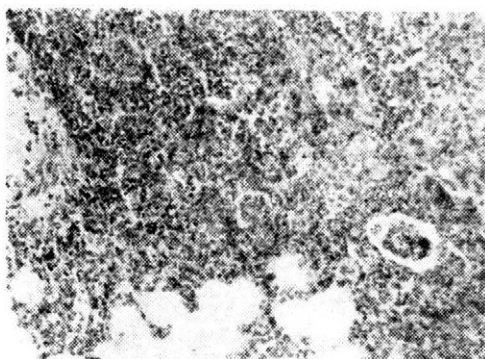
2. Vikarujúci emfyzém stimulovaný akútnou bronchiolitídou — Acute bronchiolitis stimulated vicarious emphysema



3. Zápalový okrsok — An inflammation area



4. Zápalový proces, šíriaci sa z bronchiol do okolitých alveol s rozpadávajúcimi sa neoplodnenými vajíčkami — The inflammatory process spreading from the bronchioles to surrounding alveoli with disintegrating unfertilized eggs



5. Monocytné a fagocytné reakcie sprevádzané eozinofilnými granulocytmi v zápalovom ložisku — Monocytic and phagocytic reactions accompanied by eosinophilic granulocytes in the inflammation layer

Emfyzematický charakter pľúcneho afektu vystriedajú potom zápalové ložiská, ktoré sa makroskopicky prejavujú ako hnedočervené tuhé okrsky. Makroskopicky ich dokumentujeme na obr. 3 a histologicky na obr. 4 a 5. Tieto zmeny sú v makroskopickom obraze zajačej protostrongylózy len prechodné, čo vyplýva zo štádiovosti zápalu. Zachytiť ich v manifestnom štádiu rozvoja nám umožnilo celoročné vyšetřovanie zajacov. V ložiskových zmenách emfyzém kompenzuje zníženú vitálnu kapacitu pľúc, a preto ho môžeme označiť ako vikarujúci emfyzém.

Neoplodnené vajíčka a uviaznuté, rozpadávajúce sa larvy protostrongyla provokujú zápalové reakcie, ktoré môžu v ložiskových zmenách vyústiť až do obliterácie bronchiolov (obr. 6), čo sa makroskopicky prejavuje induráciou (obr. 7). K obliterácii bronchov dochádza tak, že fagocytná schopnosť monocytov je transformovaná na reparačnú.



6. Obliterácia bronchiolu — Bronchiole obliteration



7. Indurované okrsky — Indurated areas

Z etiologického hľadiska primárnou príčinou vzniku ložiskových zmien sú buď neoplozené vajíčka, alebo uviaznuté rozpadávajúce sa larvy parazita *P. commutatus*, ktoré stimulujú zápalové reakcie.

Pri posudzovaní uvedených jednotlivých foriem ložiskových zmien zajačej protostrongylózy z hľadiska priebehu zápalových reakcií môžeme povedať, že sa na nich podieľajú krvné bunkové elementy emigrované z dobre rozvinutého krvného systému zajaca. Ide hlavne o prestup eozinofilných granulocytov, ktoré infiltrujú okolité pľúcne tkanivá. Upozorňujeme pritom na pozoruhodnú osobitosť, že nezasahujú tak rušivo do štruktúry bronchiálnych stien, že by narušili priechodnosť lumenu bronchiolov. Zachovanie komunikácie bronchiol s vonkajším prostredím zabezpečuje eliminovanie splodín zápalových reakcií a častíc fagocytovaných monocytmi. Účasť jednotlivých celulórných zložiek zápalového procesu v ložiskových zmenách vytvára také podmienky, že tieto afekcie vo väčšine prípadov vyústia do regenerácie. No výrazný edém, ktorý sprevádza regeneračné pochody, je predispozičným faktorom na uplatnenie sa sekundárnych infekcií najrozmanitejšej etiológie. Považujeme preto ložiskové zmeny, tak z hľadiska patogenetického, ako aj z hľadiska prognostického, za veľmi nepriaznivé.

DISKUSIA

Rozdelenie pľúcnych afekcií na ložiskové a uzlíkové pri protostrongylóze zajacov neuvádzajú žiadni autori. K takejto makroskopickej diferenciácii sme prišli na základe nášho hodnotenia. Pri štúdiu protostrongylózných zmien sme okrem morfológických kritérií brali do úvahy aj etiologický agens jednotlivých pľúcnych afekcií. Ložiskové zmeny formujú buď neoplozené vajíčka, alebo rozpadávajúce sa larvy s následnými

zápalovými reakciami. Uzlíkové zmeny sú prejavom vyvíjajúcich sa pohlavných produktov parazita. Zistená etiologická odlišnosť pri formovaní protostrongylózných afekcií umožnila vysvetliť daný reaktívny prejav hostiteľského organizmu s následným rozdielnym rozsahom makroskopických zmien. Účasť len pohlavných produktov na formovaní ložiskových zmien vychádza zo spôsobu života červa *P. commutatus*. Dospelé, pohlavne produkčné červy sú lokalizované na bifurkácii trachey a na extrapulmonálnych bronchoch (Pajerský a i., 1991). Jeho životné prejavy zdôvodňujú aj absenciu protostrongylidózných liahňových uzlov, aké sa formujú u malých domácich prežúvavcov (Švarc, 1977). Zendulka a i. (1987) však protostrongylózne afekcie v pľúcach zajacov označujú ako liahňové uzly i napriek tomu, že v nich chýbajú pohlavne produkčné červy. Pričom ďalej tvrdia, že verminózne uzlíky v pľúcach zajacov chýbajú. Autori nevysvetľujú, čo si pod pojmom verminózny uzlík predstavujú. Dôvod nediferencovania makroskopického obrazu protostrongylózy zajacov tak, ako ho uvádzame my, vidíme v prístupe k hodnoteniu. Nezohľadňuje sa v ňom rozdiel na reaktívnosť hostiteľského organizmu s následným morfológickým prejavom v spojitosti s etiologickým agensom. Pri protostrongylóze zajacov sú zmeny na pľúcach — ložiskové, uzlíkové — formované len pohlavnými produktami na rôznom stupni vývoja a životaschopnosti. Chýbanie pohlavne produkčných červov v pľúcnych afekciách je hlavným rozdielom medzi protostrongylóznymi ložiskami u zajaca a u domácich prežúvavcov.

Rozdielnosť spôsobu hodnotenia sa prejavuje aj pri samotnom patologickom opise protostrongylózných zmien. Wetzel a Rieck (1972) aj Nickel a Gottwald (1979) uvádzajú, že na pľúcach zajacov pozorovali hnedočervené ložiská, ktoré sme my charakterizovali ako zápalové okrsky. Takúto bližšiu špecifikáciu umožňujú iba sezónne vyšetrenia pľúc. Odlišné sú aj názory na vznik indurovaných ložísk. Viacerí autori (Erhardová a i., 1953; Zavadil, 1955; Sitko a i., 1970; Nickel a Gottwald, 1979) ich vznik spájajú s pridruženou sekundárnou infekciou. K takémuto klasifikovaniu uvedení autori pristupovali preto, lebo v týchto afekciách nezisťovali parazitárneho pôvodu. Naším štúdiom sme zistili, že primárnou príčinou vzniku indurovaných ložísk sú len pohlavné produkty parazita. Citovanými autormi uvádzaná absencia pohlavných produktov je spôsobená prebiehajúcimi lytickými a fagocytárnymi pochodmi. S morfológickým prejavom indurovaných ložísk vyvolaných bakteriálnou infekciou, ako ho uvádza Bednář (1982), sme sa pri našom štúdiu nestretli.

Pri patomorfologickom opise zajačej protostrongylózy väčšina autorov (Sitko a i., 1970; Gaafar, 1971; Wetzel a Rieck, 1972; Špeník, 1977; Nickel a Gottwald, 1979; Boch a Supperer, 1983; Gräfner, 1986) uvádza na pľúcach nález žltobielych fibrínových povlakov a hnissavých ložísk, ako dôsledok pridruženého sekundárnej infekcie. My sme sa v našich vypitvaných pľúcach s takýmto obrazom nestretli. Dôvod tohto rozdielného obrazu vidíme v spôsobe získavania zajacov. Zatiaľ, čo všetky naše vyšetrované pľúca boli získané z individuálne odstrelených zajacov, citovaní autori uvádzajú, že u nich väčšinu pitevného materiálu tvorili nájdené uhynuté zvieratá. Vysoký podiel pridruženej bakteriálnej infekcie u týchto zvierat vidíme

v tom, že ona sama bola hlavnou príčinou úhynu zajacov. Materiál, ktorý sme spracovali, pochádzal z bažantníc, kde sa chorobne zoslabnuté zvieratá stávajú ľahkou korisťou dravcov, čo znižuje možnosť nálezu uhynutých zvierat. Nami zistený výrazný edém, ktorý sprevádza zápalové reakcie v ložiskových zmenách, však vytvára podmienky pre uplatnenie sa rôznej infekcie. Považujeme preto ložiskové zmeny v spojitosti so sekundárnou infekciou za jednu z hlavných príčin úhynu zajacov.

Na vznik protostrongylózných ložiskových zmien sa podieľajú pohlavnými produktami stimulované rôzne formy zápalových reakcií, ktoré sa rozšírili z bronchiolov do okolitého pľúcneho tkaniva. Patomorfologickým štúdiom sme zistili, že táto zložka pľúcneho parenchýmu najpodstatnejšie ovplyvňuje funkčnosť pľúc. Rozhodli sme sa preto, že regeneračné zmeny v bronchioloch zhodnotíme v samostatnom príspevku, čo nám vytvorí priestor pre ich podrobnejší opis.

Literatúra

- BABOS, S.: A magyarországi nyulak tüdőfégességéről. Magy. állatorv. Lap., 17, 1962, s. 168—173.
- BEDNÁŘ, B.: Patologie. Praha, Avicenum 1982.
- BOCH, J. — SUPPERER, R.: Veterinärmedizinische Parasitologie. Berlin und Hamburg, Paul Parey 1983.
- CVETAJEVA, N. P. — MOZGOVOJ, A. A.: K izučeniu patogeneza pri protostrongyleze i nekotorych drugih legočnych zaboľevaniach zajcev Jakutii. Učenie zapisky Moskovskovo gosudarsvenogo instituta im. V. I. Lenina, Jakutskij filial AN SSSR, 96, 1956, s. 155—160.
- ERHARDOVÁ, B. — KOTRLÝ, M. — PÁV, R. — RYŠAVÝ, B.: Choroby lovné zvěře. Praha, SZN 1953.
- GAAFAR, S. M.: Pathology of parasitic diseases. Purdue University Studies Lafayette, Indiana, 1971, s. 287—357.
- GRAFNER, G.: Wildkrankheiten. Jena, VEB Gustav Fischer Verlag 1986, s. 172—180.
- HELL, P.: Zajac a králík. Bratislava, Príroda 1972.
- KOTLÁN, A.: Helminthologie. Die Helminthosen der Haus- und Nutztiere unter Berücksichtigung der Helminthosen des Menschen. Akadémiai Kiadó, Budapest, 1960, s. 380—432.
- KOTSCHKE, W. — GOTTSCHALK, C.: Krankheiten der Kaninchen und Hasen. Jena, VEB Gustav Fischer Verlag 1977, s. 165—171.
- KUTLÍK, I.: Histopatologický laborant. Bratislava, Práca 1950, s. 172—173.
- NICKEL, S. — GOTTWALD, A.: Beiträge zur Parasitenfauna der DDR 3. Mitteilung. Endoparasiten des Feldhasen (*Lepus europaeus*). Angew. Parasit., 20, 1979, s. 57—62.
- PAJERSKÝ, A. — ŠVARC, R. — MEDVEĐOVÁ, M.: Životné prejavy *Protostrongylus commutatus* (Diesing, 1851) v pľúcach zajaca poľného a kráľíka divého. Biológia, 1992 [v tlači].
- SITKO, M. — MITUCH, J. — KONRÁD, V. — ŠPENÍK, M.: K výskytu protostrongylózy zajacov a patomorfologickým zmenám pri tomto ochorení. Veter. Čas., 13, 1970, s. 58—61.
- ŠPENÍK, M.: Choroby poľovnej zveri. Bratislava, Príroda 1977.
- ŠVARC, R.: Ecological and pathological features in the bionomy of *Cystocaulus ocreatus* (Railliet et Henry, 1907), Mikačič, 1939. (The larval stage in the intermediate hosts), Biológia, 32, 1977, s. 575—584.
- ZAVADIL, R.: Oblí červi, nejčastejší cizopasníci našich kráľíků. Chovatel, 12, 1955, s. 179—180.
- ZENDULKA, M. — ŠKARDA, R.: Patologická anatomie hospodářských zvířat. Praha, SZN 1987.
- WETZEL, R. — RIECK, W.: Krankheiten des Wildes. Hamburg und Berlin, Verlag Paul Parey 1972.

Došlo dňa 28. 6. 1991

PAJERSKÝ A. — ŠVARC, R. — MEDVEĎOVÁ, M. (Helminthological Institute of the Slovak Academy of Sciences, Košice): *Layer changes in the lungs of hare provoked by the parasite Protostrongylus commutatus (Diesing, 1851)*. Veter. Med. (Praha), 37, 1992 [4]: 249—255.

The pathomorphological changes in the lungs of hare (*Lepus europaeus* Pallas, 1778) provoked by the parasite *P. commutatus* (Diesing, 1851) are macroscopically manifested as layer and nodular changes. With regard to the fact that the layer changes are suggesting the hatching nodules of protostrongyloses of small domestic ruminants, we have decided to rate them separately because of the differentiation. The layer changes on the surface of hare's lungs become evident as areas of emphysema, inflammation and induration. The emphysematous changes are macroscopically evident in the form of lobular formation (Fig. 1). Histologically, it was found out that the emphysematous effect was limited by an area of compressed lung structures without perspicuous signs of the development of atelectatic changes (Fig. 2). The emphysematous changes are causing prominent exudative inflammatory processes in the bronchi and bronchioli provoked by unfertilized and desintegrating eggs of parasites. Inflammatory layers are macroscopically evident as solid brown-reddish areas (Fig. 3). Their macroscopic manifestation is transient. It is qualified by the stages of the inflammation itself. It is possible to put down the stage of manifestative development of the changes in the inflammatory areas only by continual examinations of hare's lungs all year round. Unfertilized eggs and grounded, desintegrating larvae of protostrongylus are provoking the inflammatory reactions which may lead in the layer changes to the obliteration of bronchioli (Fig. 6), which is macroscopically evident as induration (Fig. 7). The bronchioli are obliterated so that the phagocytic ability of monocytes is transformed to a reparative ability. From the etiological point of view the primary cause of the origin of layer changes is either unfertilized eggs or grounded desintegrating larvae of the parasite *P. commutatus* which stimulate the inflammatory reactions. With regard to the course of the inflammatory reactions the blood elements are participating in the formation of the particular forms of the layer changes of the hare's protostrongylosis. It is mainly the penetration of eosinophilic granulocytes. Participation of particular cellular parts of the inflammatory process in the layer changes creates such conditions that these affections lead to regeneration in the majority of cases. Prominent oedema accompanying the process of regeneration is a predisposing factor for asserting the secondary infections of various etiology. Therefore from the pathogenetical point of view, and also from the prognostical viewpoint layer changes are not favourable.

Lepus europaeus Pallas; layer changes; emphysema; inflammation; induration; oedema; sexual products

Adresa autorov:

MVDr. Anton Pajerský, CSc., MVDr. Rudolf Švarc, DrSc., MVDr. Mária Medveďová, Helminologický ústav SAV, Dukelských hrdinov 3, 040 01 Košice

POKYNY PRO AUTORY VĚDECKÉHO ČASOPISU VETERINÁRNÍ MEDICÍNA

Časopis VETERINÁRNÍ MEDICÍNA uveřejňuje původní práce, recenze apod.

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

O uveřejnění práce rozhoduje redakční rada časopisu, a to se zřetelem k lektorským posudkům, vědeckému významu a přínosu i kvalitě prací. Jednotlivé práce nemají mít rozsah větší než 10 až 12 stran psaných na stroji se všemi přílohami.

Technická úprava rukopisu. Úprava rukopisu má odpovídat ČSN 88 0220 (formát A, 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 nemá přesahovat 85 úhozů, je nutné se v názvu vyvarovat obecných frází jako: Studie o..., Příspěvek k... Každý zaslaný článek musí být samostatnou prací, nemohou být publikovány články na pokračování, stejně tak jsou vyloučeny podtituly článků.

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

Souhrn. Vypracování souhrnu je nutné věnovat obzvláštní péči. Autor do něho má shrnout vše, co je na jeho práci pozoruhodné a nové a co má být dokumentováno. Souhrn má být nekritickým informačním výběrem významného obsahu a závěru, nikoliv však jeho pouhým popisem. Musí vyjádřit všechno podstatné, co je obsaženo ve vědecké práci, nemá ji však nahradit. Nesmí překročit rozsah 170 slov. Je třeba, aby byl psán celými větami, nikoliv telegrafickým způsobem. Pro překlad do angličtiny se požaduje souhrn delší (do dvou rukopisných stran) s odkazy na tabulky a obrázky, popř. s anglickými odbornými termíny nebo už přeložené 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. Pod souhrn je nutno po vynechání řádky připojit klíčová slova. Ta mají sloužit k rychlé orientaci a 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 kdekoli 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 tabulkám shrnout ve statistickém hodnocení naměřených hodnot. Tato část by neměla obsahovat teoretické závěry ani dedukce, ale faktické nálezy.

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

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. Bojnanského 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

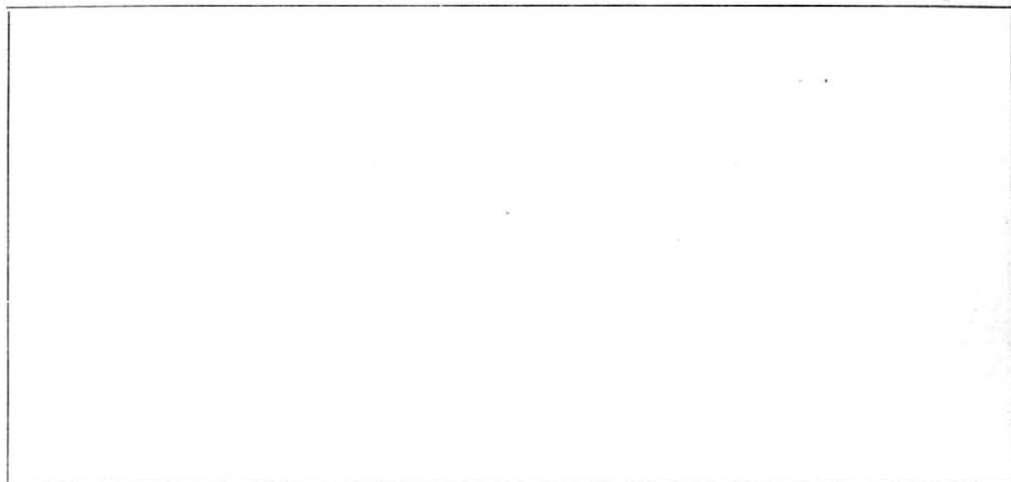
ADEKO, a. s.

Slezská 7

120 56 PRAHA 2

tel.: 25 83 42

fax: 20 72 29



Rukopisy odevzdány k tisku 28. 2. 1992 — Podepsáno k tisku 28. 5. 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 OSTRAVSKÉ 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.