

VĚDECKÝ ČASOPIS



VETERINÁRNÍ MEDICÍNA

11

ROČNÍK 37 (LXV)
PRAHA
LISTOPAD 1992
ISSN 0375-8427

AKADEMIE ZEMĚDĚLSKÝCH VĚD ČSFR
ÚSTAV VĚDECKOTECHNICKÝCH INFORMACÍ
PRO ZEMĚDĚLSTVÍ



OBSAH

Paulík Š., Bajová V., Mojžíšová J.: Vplyv aplikácie nerozpustného fungálneho glukánu na úroveň oneskorenej kožnej precitlivlosti a fagocytárnu aktivitu krvných leukocytov u teliat	577
Mudroň P., Kováč G., Hojerová A., Bartko P., Bíreš J., Michna A., Baldovič R.: Štúdium vplyvu aplikácie vitamínu E na koncentráciu sérových imunoglobulínov a úroveň fagocytárnej aktivity	587
Hanuš O., Žváčková I., Genčurová V., Gabriel B.: Vztah obsahu laktózy v mléce k ukazatelům zdravotního stavu mléčné žlázy v první třetině laktace	595
Jaďuď P., Beseda I., Králíková J., Válfka J., Ďurišová B., Stanko P.: Funkčne narušená pečeň vo vzťahu ku zníženej titračnej kyslosti mlieka	605
Dudriková E., Lenhardt L., Poráčová J.: Biochemické aspekty toxického účinku supermethrinu a histochemická aktivita alkalické fosfatázy, kyslej fosfatázy a nešpecifickej esterázy v podmienkach subchronickej intoxikácie oviec	613
Legáth J., Sokol J., Neuschl J., Kačmár P., Kováč G.: Vplyv bentazonu čs. výroby na syntézu bakteriálnych proteínov v bachore oviec	623
Juřicová Z.: Protilátky proti arbovirům u lovné zvěře odchycené na Moravě	633

CONTENTS

Paulík Š., Bajová V., Mojžíšová J.: The effect of fungal glucane administration on the level of delayed skin hypersensitivity and phagocytic activity of blood leucocytes in calves	585
Mudroň P., Kováč G., Hojerová A., Bartko P., Bíreš J., Michna A., Baldovič R.: Study of the effect of vitamin E supplementation on the concentration of serum immunoglobulins and on the level of phagocytic activity	593
Hanuš O., Žváčková I., Genčurová V., Gabriel B.: A relationship between milk lactose content and indicators of the mammary gland health in the first third of lactation	604
Jaďuď P., Beseda I., Králíková J., Válfka J., Ďurišová B., Stanko P.: Damaged liver function in relation to lowered titratable acidity of milk	611
Dudriková E., Lenhardt L., Poráčová J.: Biochemical aspects of the effect of supermethrin intoxication and histochemistry of alkaline phosphatase, acid phosphatase and non-specific esterase under the conditions of subchronic intoxication of sheep	621
Legáth J., Sokol J., Neuschl J., Kačmár P., Kováč G.: The effect of bentazone of Czechoslovak origin on the synthesis of bacterial proteins in the rumen of sheep	630
Juřicová Z.: Antibodies to arboviruses in the game caught in Moravia	636

VPLYV APLIKÁCIE NEROZPUSTNÉHO FUGÁLNEHO GLUKÁNU NA ÚROVEŇ ONESKORENEJ KOŽNEJ PRECITLIVELOSTI A FAGOCYTÁRNU AKTIVITU KRVNÝCH LEUKOCYTOV U TELIAT

Š. Paulík, V. Bajová, J. Mojžišová

PAULÍK, Š. - BAJOVÁ, V. - MOJŽIŠOVÁ, J. (Univerzita veterinárskeho lekárstva, Košice): *Vplyv aplikácie nerozpustného fungálneho glukánu na úroveň oneskorenej kožnej precitlivlosti a fagocytárnu aktivitu krvných leukocytov u teliat*. Veter. Med. (Praha), 37, 1992 (11) : 577-585.

Hodnotili sme úroveň oneskorenej kožnej precitlivlosti (OKP) *in vivo* (3. a 7. týždeň experimentu) po indukcií dinitrofluorobenzénom a fagocytárnej aktivity (FA) krvných leukocytov (v týždňových intervaloch počas 6 týždňov sledovania) u teliat (vek 4,5-5,5 mesiacov) po aplikácii partikulárneho fungálneho glukánu (z hlivy ustricovej) v dávke $10 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ živej hmotnosti. U teliat, ktorým bol aplikovaný glukán (skupina G) bola testom OKP zaznamenaná signifikantne výraznejšia bunkou sprostredkovaná imunitná odpoveď v 3. týždni sledovania tak v porovnaní k jej počiatočnej hodnote ($P < 0,01$), ako aj k hodnote ($P < 0,01$) u kontrolných zvierat (skupiny K) - tab. I. V siedmom týždni experimentu už nebol pri porovnaní skupín navzájom zistený štatisticky rozdiel priemerných hodnôt OKP (tab. I). Avšak ešte aj v tomto termíne sledovania odpovedalo zo skupiny G na použitý senzibilizátor 100 % teliat kožnou reakciou nad 6,5 mm ($\bar{x} = 7,64 \pm 0,55 \text{ mm}$), čo bolo v porovnaní k hodnote OKP u väčšiny (80 %) teliat skupiny K ($\bar{x} = 6,15 \pm 0,21$; od 3,6 do 6,5 mm) signifikantne výraznejšie ($P < 0,01$) - obr. 1. Imunostimulačný efekt použitého glukánu bol na FA krvných leukocytov menej preukazný. Signifikantne vyššie zastúpenie fagocytujúcich buniek (od 21. dňa do ukončenia sledovania, $P < 0,05$; resp. 0,01) a hodnôt indexu FA (IFA); takmer počas celej doby sledovania, $P < 0,05$; resp. 0,01) bolo pri teľatách skupiny G preukázané len pri porovnaní k úrovni pred aplikáciou glukánu, ale nie pri hodnotení skupín navzájom (okrem IFA v 42. deň experimentu v prospech teliat skupiny G; $P < 0,05$) - obr. 2.

teľatá; oneskorená kožná precitlivlosť; dinitrofluorobenzén; celulárna imunita; imuno-modulácia; glukán; fagocytárna aktivita krvných leukocytov

Štúdium imunostimulačných látok vo veterinárnej medicíne je nutné z dôvodu nárastu výskytu porúch imunity u zvierat (V r t i a k a Š v r č e k, 1991). U hospodárskych zvierat je už dlhšiu dobu v tomto smere venovaná pozornosť levamizolu a v poslednom čase aj glukánu.

Glukány, charakterizované ako imunomodulátory, sú polysacharidové látky mikrobiálneho pôvodu (Whistler a i., 1976). Exaktný mechanizmus ich imunobiologického účinku nie je známy. Stimulujú funkčnú a metabolickú aktivitu buniek mononukleárno fagocytárneho systému a neutrofilov (Sherwood a i., 1986; Williams a i., 1986 a ďalší), zvyšujú produkciu monokínov a lymfokínov (Sherwood a i., 1987), stimulujú prezentáciu antigénu a vzostup aktivity T lymfocytov (Chihara, 1985). Okrem potencovania počtu a cytotoxicity T lymfocytov (Hamuro a i., 1978; Olstad a Seljelid, 1980) a protilátkovej odpovede k T depedentným antigénom (Benda a i., 1989; Wagnerová a i., 1991 a ďalší) bol preukázaný stimulačný efekt aj na oneskorenú precitlivelostnú reakciu (Pérez a i., 1984; Paulík a i., 1991 a ďalší). Jeho stimulačný efekt bol zaznamenaný pri opakovanom (Sherwood a i., 1987 a ďalší) aj pri jednorázovom (Patčena a i., 1984 a ďalší) podaní. Uvedené imunofarmakologické účinky glukánov sa prejavujú zvýšenou odolnosťou hostiteľa voči vírusovým, bakteriálnym, fungálnym, parazitárnym a neoplastickým ochoreniam (Ferenčík a Bergendi, 1990).

MATERIÁL A METÓDA

Do sledovania bolo vybraných tridsaťšesť teliat (jalovičky) o priemernej hmotnosti 130 kg, vo veku 4,5-5,5 mesiacov. U týchto zvierat bola stanovená aktuálna úroveň celúlárnej imunity (CI) testom oneskorenej kožnej precitlivosti (OKP). Na základe jej stupňa bolo 18 teliat rozdelených do dvoch experimentálnych skupín (po deväť zvierat), s približne rovnakou priemernou úrovňou kožnej reakcie. Prvá skupina (K) slúžila ako kontrola (bez aplikácie glukánu). Zvieratám druhej skupiny (G) bol za sedem dní po vyhodnotení aktuálnej úrovne CI aplikovaný subkutánne nerozpustný glukán (fungálny-hliva ustricová; Bioveta Nitra) v množstve $10 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ živej hmotnosti.

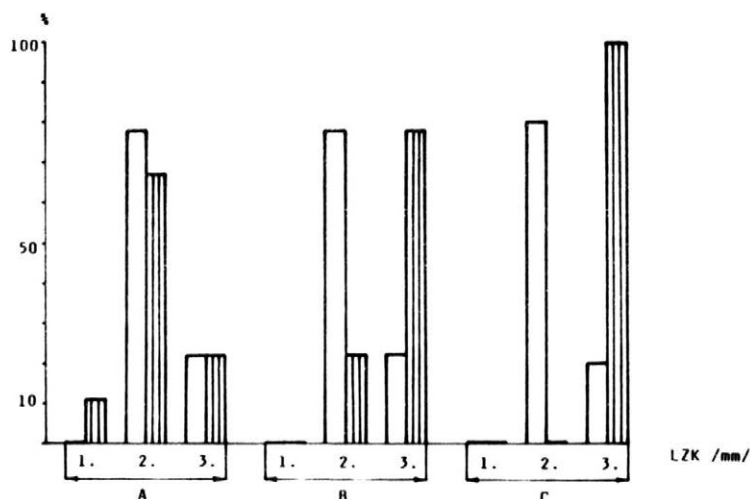
Kvantifikácia CI odpovede *in vivo* bola hodnotená testom OKP po indukciu dinitrofluorobenzénom (DNFB) podľa metodického postupu Paulíka a Vrzgulu (1989), okrem zmeny v spôsobe aplikácie (intradermálne) a koncentrácie (0,2%) DNFB pri čelení. Rozdiel hrúbky kože pred a 24 hodín po čelení označujeme ako lokálne zhrubnutie kože (LZK) vyjadrené v milimetroch. Imunomodulačný efekt glukánu bol hodnotený testom OKP na tretí a siedmi týždeň po jeho aplikácii.

Fagocytárnu aktivitu (FA) krvných leukocytov (percento fagocytujúcich buniek - FB a index fagocytárnej aktivity - IFA) sme sledovali podľa metódy Větvíčkové a i. (1982). Krv k analýze bola odoberaná z *vena jugularis* pred aplikáciou (0. deň) a v 7., 14., 21., 28. a 42. deň po aplikácii glukánu. K hodnoteniu štatistickej významnosti sme použili *t*-test pre párované hodnoty (*Pt*-test), Studentov *t*-test (*St*-test) a korelačnú analýzu (Poláček, 1984).

VÝSLEDKY

Priemerná aktuálna hodnota LZK u 36 teliat bola $5,74 \pm 1,32 \text{ mm}$, s rozpätím 3,2-8,3 mm. Celkove len u 8,3 % (3 zvierat) sme zaznamenali hodnotu kožnej reakcie do 3,5 mm, u 66,7 % (24 zvierat) od 3,6 do 6,5 mm a u 25 % (9 zvierat) nad 6,5 mm.

Percentuálne zastúpenie experimentálnych ($n = 18$) zvierat rozdelených do skupín podľa úrovne LZK (1. skupina = do 3,6 mm; 2. skupina = 3,6-6,5 mm; 3. skupina = nad 6,5 mm) pred (A), tretí (B) a siedmi (C) týždeň po aplikácii glukánu uvádza obr. 1. Kým v rámci skupiny K najvyššie percento teliat preukázalo počas celej doby sledovania LZK v hodnotách 3,6-6,5 mm, u zvierat skupiny G bol zaznamenaný v druhom (B) a treťom (C) termíne pozorovania výrazný nárast percenta teliat s úrovňou kožnej reakcie vyššou než 6,5 mm.



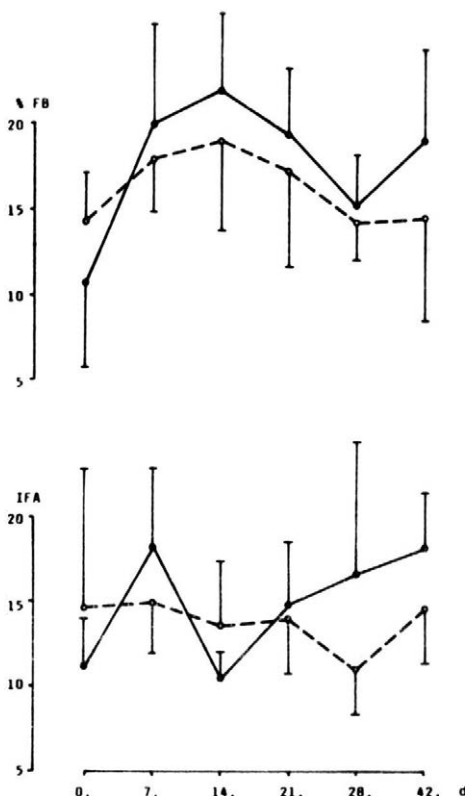
1. Percentuálne zastúpenie teliat podľa úrovne kožného testu; prázdne stĺpce = kontrolná skupina; šrafované stĺpce = pokusná skupina; 1 = do 3,5 mm; 2 = 3,6-6,5 mm; 3 = nad 6,5 mm; A = počiatočná hodnota; B = 3. týždeň po aplikácii; C = 7. týždeň po aplikácii; LZK = lokálne zhrubnutie kože - The percentages of calves according to the level of skin test; open columns = control group; hatched columns = experimental group; 1 = to 3.5 mm; 2 = 3.6-6.5 mm; 3 = above 6.5 mm; A = starting value; B = 3rd week after administration; C = 7th week after administration; LZK = local swelling of skin

Zvýraznenie CI odpovede *in vivo* po aplikácii glukánu vyplýva aj z priemernej úrovne LZK u porovnávaných skupín teliat (tab.I). Zatiaľ čo u skupiny K sme v treťom týždni sledovania zaznamenali približne rovnakú intenzitu kožnej reakcie voči DNFB ako na začiatku experimentu, teľatá skupiny G preukázali vyššiu úroveň OKP nielen v porovnaní k jej počiatočnej hodnote ($P < 0,01$), ale aj v porovnaní k stupňu kožnej reakcie u teliat skupiny K ($P < 0,01$). V siedmom týždni pozorovania nebol už zistený signifikantný rozdiel hodnôt LZK u porovnávaných skupín teliat. Avšak ešte aj v tomto termíne odpovedalo zo skupiny G na použitý senzibilizátor 100% zvierat kožnou reakciou nad 6,5 mm ($\bar{x} = 7,64 \pm 0,55$ mm), čo bolo v porovnaní k hodnote LZK u väčšiny (80 %) teliat skupiny K (od 3,6 do 6,5 mm; $\bar{x} = 6,15 \pm 0,21$ mm) signifikantne výraznejšie ($P < 0,01$).

I. Úroveň oneskorenej kožnej precitlivosti po aplikácii glukánu - The level of delayed skin hypersensitivity after glucane administration

Skupina ¹	Lokálne zhrubnutie kože ² [mm ± s]		
	pred aplikáciou ³	3. týždeň po aplikácii ⁴	7. týždeň po aplikácii ⁵
K	5,84 ± 1,17	5,41 ± 0,96	6,54 ± 0,89
G	5,72 ± 1,25	7,51 ± 0,83	7,64 ± 0,55
Studentov <i>t</i> -test ⁶	$P > 0,05$	$P < 0,01$	$P > 0,05$

¹group; ²local swelling of skin; ³before administration; ⁴3rd week after administration; ⁵7th week after administration; ⁶Student's *t*-test



2. Fagocytárna aktivita krvných leukocytov po aplikácii glukánu; %FB = percento fagocytujúcich buniek; IFA = index fagocytárnej aktivity; ---- kontrolná skupina; — pokusná skupina - The phagocytic activity of blood leucocytes after glucane administration; % FB = percentage of phagocytic cells; IFA = index of phagocytic activity; ---- control group; — experimental group

Dynamika percenta FB (obr. 2) preukázala u oboch skupín teliat takmer rovnaký trend. Počiatočný nárast, s udržiavaním hladiny nad úroveň 0. dňa počas prvých troch týždňov sledovania, bol vystriedaný následným poklesom do hodnoty (v 28. a 42. deň) ako na začiatku experimentu u teliat skupiny K, zatiaľ čo pri teľatách skupiny G percento FB presahovalo aj v týchto termínoch sledovania úroveň pred aplikáciou. Signifikantný vzostup priemernej hodnoty FB bol u teliat oboch skupín zaznamenaný v 7. a 14. deň pokusu ($P < 0,01$), v ďalších termínoch experimentu bola štatistická preukaznosť zistená len u teliat skupiny G ($P < 0,01$ v 21. a 42. deň; $P < 0,05$ v 28. deň). Studentovým t -testom nebola počas celej doby sledovania preukázaná štatistická významnosť, čo môže vyplývať z rozdielnej priemernej hodnoty zastúpenia FB u pokusnej a kontrolnej skupiny zvierat na začiatku experimentu.

Hodnota IFA bola takmer počas celej doby pozorovania (okrem 14. dňa) vyššia u teliat skupiny G. V porovnaní k počiatočnej úrovni bola signifikantne vyššia v 7. ($P < 0,01$), 21. ($P < 0,05$), 28. ($P < 0,05$) a 42. ($P < 0,01$) deň. U kontrolných teliat takáto tendencia pri uvedenom ukazovateli FA zistená. Porovnanie skupín navzájom St -testom odhalilo štatistickú rozdielnosť hodnôt IFA iba v 42. deň experimentu ($P < 0,05$) v prospech teliat skupiny G (obr. 2).

Jedným z ukazovateľov využívaných k určeniu úrovne celulárnej imunity (CI) u zvierat je oneskorená precitlivosť meraná kožnou odpoveďou po senzibilizácii (H o d g i n a i., 1978; W o o d a r d a i., 1981 a ďalší). Intenzita oneskorenej kožnej precitlivosti (OKP) pri použití DNFB, resp. DNCB je citlivým a kvantifikovateľným ukazovateľom úrovne CI *in vivo* u laboratórnych zvierat (H a n s b r o u g h a i., 1983; S m i t h a i., 1987) a hovädzieho dobytku - HD (R e d d i a i., 1981). Test OKP u HD je používaný v rôznych modifikáciách (M o r e n o - L ó p e z , 1977; R e d d i a i., 1981 a ďalší). Vhodnosť nami prezentovaného metodického postupu kožného testu k určovaniu úrovne CI u HD dokumentuje dobre kvantifikovateľná expresia OKP odpovede v tomto príspevku, ako aj pri sledovaní u odlišných vekových kategórií HD (P a u l í k a V r z g u l a , 1989) a pri použití imunomodulačných látok (P a u l í k a i., 1991).

Z doteraz známych aktivít glukánov, prevážne určených na laboratórnych zvieratách (D i L u z i o , 1985), sme sa v našom sledovaní zamerali na posúdenie úrovne CI *in vivo* a fagocytárnu aktivitu (FA) krvných leukocytov u HD.

S využitím OKP reakcie indukovanej DNFB pre posúdenie imunostimulačného vplyvu glukánov na CI odpoveď u HD sme sa doteraz v literatúre pre nás dostupnej nestretli. V porovnaní s kontrolnou skupinou zvierat sme u teliat po s.c. aplikácii 10 mg.kg⁻¹ partikulárneho fungálneho glukánu zaznamenali signifikantný vzostup CI odpovede *in vivo*, čo poukazuje na možnosť využitia použitého glukánu pri uvedenom spôsobe aplikácie a dávke k potenciovaniu na antigéne závislej bunkou sprostredkovanej imunitnej odpovede. Nešpecifický imunostimulačný účinok parenterálnej aplikácie glukánov na T bunkovú populáciu u hospodárskych zvierat bol zaznamenaný pri sledovaní ich aktivity testom blastickéj transformácie u kôz (partikulárny kvasinkový glukán v dávke 10 mg.kg⁻¹; M á d r a i., 1990) a pri sledovaní ich počtu rozetovou metódou u teliat (korpuskulárny fungálny glukán v dávke 10 mg.kg⁻¹; H i p í k o v á a i., 1991). Karboxymetylglukán však pri tejto dávke neprejavil signifikantný stimulačný efekt na počet T lymfocytov u teliat (H a r v a n a i., 1991). Poukazuje to na skutočnosť popísanú u laboratórnych zvierat, že glukány rôzneho pôvodu nemusia vlastniť rovnaké imunobiologické aktivity (D i L u z i o , 1985), prípadne tieto závisia od dávky, spôsobu a schémy aplikácie glukánu (P é r e z a i., 1984; W a g n e r o v á a i., 1991 a ďalší).

Oneskorená precitlivosť reakcia je charakterizovaná prílevom lymfocytov a makrofágov do miesta antigenného stimulu, ako odozva jeho pôsobenia na ním už primované T lymfocyty. Hoci v iniciácii tejto reakcie zohrávajú úlohu aj makrofágy pri prezentácii antigénu, základnou bunkovou populáciou reakcie sú T lymfocyty; svedčí o tom transfereovateľnosť tejto reakcie zo senzibilizovaných jedincov na nesenzibilizovaných len lymfocytmi a snád ich produktami (R o i t t , 1981; G o r m a n a H a l l i w e l l , 1989). U HD je kožná reakcia voči DNCB výsledkom lokálnych zmien, ktoré sú charakterizované difúznou infiltráciou lymfocytov, makrofágov a malého počtu neutrofilov pod epidermis (B r u m m e r s t e d t a B a s s e , 1973; R e d d i a i., 1981). Efekt glukánu na intenzitu OKP reakcie môže vyplývať z jeho známej stimulácie antigén prezentujúcich buniek a vzostupu aktivity T lymfocytov (C h i h a r a , 1985). Zvýšenie aktivity profesionálnych fagocytov glukánmi je sprostredkované cez špecifické β -D-glukánové receptory na ich povrchu (C z o p , 1986). Na základe uvedeného vyplýva vzťah medzi OKP reakciou a FA krvných leukocytov.

O niečo viac údajov je pri hospodárskych zvieratách z hľadiska pozitívneho účinku parenterálnej aplikácie glukánov na FA profesionálnych fagocytov (S a n g r e t a i., 1990; M á d r a i., 1990; Š o l t ý s, 1990; H i p í k o v á a i., 1991); nie v každom prípade bol však tento efekt zaznamenaný (H o š p e s a i., 1988; H a r v a n a i., 1991). Podobne aj pri sledovaní u laboratórnych zvierat nebol v každom prípade zistený stimulačný účinok testovaných glukánov na funkčnú aktivitu fagocytov (F e r e n č í k a i., 1988; K a š i č k o v á a i., 1990). Nami prezentované výsledky v tomto smere poukazujú skôr len na čiastočne pozitívny efekt použitého glukánu, pretože hoci priemerné hodnoty percentuálneho zastúpenia fagocytujúcich buniek a indexu fagocytárnej aktivity boli signifikantne zvýšené takmer počas celej doby sledovania v porovnaní k ich hodnote pred aplikáciou, v porovnaní s kontrolnými zvieratami toto zvýšenie nebolo štatisticky preukázané.

Okrem známych pozitívnych imunobiologických aktivít glukánov je známe, že i.v. aplikácia partikulárneho glukánu môže byť spojená s nepriaznivými vedľajšími efektami (hepatosplenomegalia, tvorba granulómov - R i g g i a D i L u z i o, 1961; W i l l i a m s a i., 1985; P a t c h e n a M a c V i t t i e, 1986 a ďalší), ktoré vznikajú po opakovanej aplikácii väčších dávok a sú reverzibilným procesom. Rozpustné glukánové preparáty neprejavujú tieto nepriaznivé efekty (P a t c h e n a i., 1984; W a g n e r o v á a i., 1991 a ďalší). Podobne F e r e n č í k a i. (1988) nepozorovali takéto zmeny ani po s.c. aplikácii korpuskulárneho glukánu a zdôrazňujú, že vznik hepatosplenomegalie závisí nielen na spôsobe podania a type glukánu, ale aj na použitom biologickom druhu. Okrem toho je preukázané, že vytvorenie granulómov je výsledkom mobilizácie monocytov z kostnej drene (D i e m a n n a F a h i m i, 1979); hemopoetická aktivita glukánov je známa (D i L u z i o, 1985).

Nami zaznamenaná stimulácia bunkou sprostredkovanej imunity *in vivo* súvisí s preukázaným stimulačným efektom paranterálneho podania glukánov na špecifickú protilátkovú odpoveď k T dependentným antigénom u kôz (S e d l á č e k a i., 1988; M á d r a i., 1990), sliepok (S e d l á č e k a i., 1988; B e n d a a i., 1989) i hovädzieho dobytku (H ú s k a a i., 1991). Pri použití T independentného antigénu nebola po paranterálnej aplikácii glukánu zaznamenaná signifikantná stimulácia humorálnej imunitnej odpovede (B e n d a a i., 1989). Na základe týchto údajov, ako aj zistenia (u morčiat) o reštauračnom vplyve glukánu (v kombinácii s Ig a Zn) na zredukované zastúpenie T lymfocytov po dehelmintizácii albendazolom (B e n k o v á a i., 1991) možno perspektívne pri hovádzom dobytku zatiaľ uvažovať o využití glukánov v smere nešpecifickej imunostimulácie u mladých (čiastočne imunokompetentných) zvierat, pri ochoreniach s potrebou stimulácie bunecnej imunity (napr. respiračný syndróm), ako imunoadjuvantnej látky a pri dehelmintizácii.

Testovaný partikulárny fungálny glukán signifikantne stimuloval bunkou sprostredkovanú imunitnú odpoveď *in vivo* a čiastočne fagocytárnu aktivitu krvných leukocytov. Jeho použitie v predklinickom sledovaní u hovädzieho dobytku vyžaduje ešte overovanie aj ďalšími testami.

Literatúra

BENDA, V. - PETROVSKÝ, E. - HAMPL, A. - KALOVÁ, J.: Glucan stimulates the antibody response to a T-dependent antigen in chickens. Acta Veter. (Brno), 58, 1989, s. 345-351.

- BENKOVÁ, M. - BOROŠKOVÁ, Z. - ŠOLTÝS, J.: Vplyv glukánového imunomodulátora na T a B bunky pri dehelminizácii morčiat v priebehu experimentálnej askariózy. *Imunol. Zpravodaj*, IV., 1991, s. 12.
- BRUMMERSTEDT, E. - BASSE, A.: Cutaneous hypersensitivity to 2-4-dinitrochlorbenzene in calves. *Nord. Veter.-Med.*, 25, 1973, s. 392-398.
- CZOP, J. K.: The role of β -glucan receptors on blood and tissue leucocytes in phagocytosis and metabolic activation. *Path. Immunopath. Res.*, 5, 1986, s. 286-296.
- DIEMANN, W. - FAHIMI, H. D.: The appearance of transition forms between monocytes and Kupffer cells in the liver of rats treated with glucan: a cytochemical and ultrastructural study. *J. exp. Med.*, 149, 1979, s. 883-897.
- DILUZIO, R.: Update on the immunomodulating activities of glucans. *Springer Semin. Immunopath.*, 8, 1985, s. 387-400.
- FERENČÍK, M. - BERGENDI, L.: Vplyv glukánov na imunitný systém. In: Zbor. Ref. Glukány a iné imunomodulačné polysacharidy, Stará Lesná, DVP SAV 1990, s. 5-6.
- FERENČÍK, M. - KOTULOVÁ, D. - MASLER, L. - ŠANDULA, J. - PRUŽINEC, P.: Imunomodulačný účinok glukánov na profesionálne fagocyty. *Bratisl. lek. Listy*, 89, 1988, s. 424-432.
- GORMAN, N. T. - HALLIWELL, R. E. W.: Mechanism of immunobiological injury in hypersensitive reactions. In: *Veterinary clinical immunology*, Philadelphia, W. B. Saunders company 1989, s. 212-231.
- HAMURO, J. - WAGNER, H. - RÖLLINGHOFF, F. M.: β -1, 3-glucan as probe for T cell specific immune adjuvants. II. Enhanced *in vitro* generation of cytotoxic T lymphocytes. *Cell. Immunol.*, 38, 1978, s. 328-331.
- 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.
- HARVAN, M. - BAJOVÁ, V. - HUDÁK, P. - LEVKUTOVÁ, M. - LINDEROVÁ, I.: Aplikácia glukánu pri imunodeficientných teľatách. *Imunol. Zprav.*, VI, 1991, s. 35.
- HIPÍKOVÁ, V. - BAJOVÁ, V. - LEVKUTOVÁ, M. - HUDÁK, P. - HARVAN, M. - MOJŽISOVÁ, J.: Sledovanie imunomodulačného účinku glukánu pri teľatách. I. Celulárne faktory. *Imunol. Zprav.*, VI, 1991, s. 37.
- 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.
- HOŠPES, J. - BENDA, V. - PALISA, V.: Stimulační účinok glukánu na vybrané imunologické parametry u kôz. *Imunol. Zprav.*, III, 1988, s. 59.
- HÚSKA, M. - ŠVRČEK, Š. - PAULÍK, Š. - BENÍŠEK, Z. - ĐUROVE, A. - ZÁVADOVÁ, J. - SŮLIOVÁ, J.: Vplyv imunomodulácie glukánmi na antiribickú imunitu. *Imunol. Zprav.*, VI, 1991, s. 44.
- CHIHARA, G.: The antitumors and tumour metastasis-inhibitory activities of lentinan in preclinical animal models and its possible immune mechanisms. In: *Basis mechanisms and clinical treatment of tumor metastasis*. New York, Acad. Press 1985, s. 535-547.
- KASIČKOVÁ, A. - TAKÁČOVÁ, J. - KOTULOVÁ, D. - FERENČÍK, M.: Vplyv derivátov karboxymetylglukánu na niektoré funkcie fagocytov. Zbor. Ref. Glukány a iné imunomodulačné polysacharidy, Stará Lesná, DVP SAV, 1990, s. 12-13.
- MÁDR, P. - BENDA, V. - STANĚK, R. - HOLAN, Z.: Adjuvantní a imunostimulační efekt glukánu u kôz. In: Zbor. Ref. Glukány a iné imunomodulačné polysacharidy. Stará Lesná, DVP SAV 1990, s. 20.
- MORENO-LÓPEZ, 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.
- OLSTAD, R. - SELJELID, R.: The cellular reaction in normal and tumor-bearing mice following intraperitoneal glucan injection. *Acta Pathol. Microbiol. Scand.*, Ser. C., 88, 1980, s. 97-102.
- PATCHEN, M. L. - MAC VITTIE, T. J.: Comparative effects of soluble and particulate glucans on survival in irradiated mice. *J. Biol. Resp. Modif.*, 5, 1986, s. 45-60.
- PATCHEN, M. L. - DILUZIO, N. R. - JACQUES, P. - MACVITTIE, T. J.: Soluble polyglycans enhance recovery from cobalt-60-induced hemopoietic injury. *J. Biol. Resp. Modif.*, 3, 1984, s. 627-633.
- PAULÍK, Š. - VRZGULA, L.: Možnosť použitia dinitrofluorobenzénu k preukázaniu bunecnej imunitnej odpovede u teľiat. *Veter. Med. (Praha)*, 34, 1989, s. 321-328.

- PAULÍK, Š. - ŠVRČEK, Š. - BENÍŠEK, Z. - HÚSKA, M. - ĐUROVE, A.: Vplyv imunomodulácie glukánmi na bunečnú imunitu u myši a výkrmových býčkov. *Imunol. Zprav.*, **V7**, 1991, s. 91.
- PÉREZ, H. A. - BOLÍVAR, J. - BLAS, G. S.: The immunomodulatory effect of yeast glucan on delayed hypersensitivity. *J. Immunopharmacol.*, **6**, 1984, s. 305-321.
- POLÁČEK, M.: Základy biometrie pre veterinárnych lekárov. Bratislava, Príroda 1984, 100 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.
- RIGGI, S. J. - DILUZIO, N. R.: Identification of a reticuloendothelial stimulating agent in zymosan. *Amer. J. Physiol.*, **200**, 1961, s. 297-305.
- ROITT, I. M.: Základy imunológie. 4. vyd. Martin, Osveta 1981. 315 s.
- SANGRET, M. - BAJOVÁ, V. - MOJŽISOVÁ, J. - LEVKUTOVÁ, M. - VILČEK, Š. - KUČA, V. - VRTIAK, O. J. - HARVAN, M.: Sledovanie imunostimulačného účinku karboxymetylglukánu pri tefatách. In: Zbor. Ref. Glukány a iné imunomodulačné polysacharidy. Stará Lesná DVP SAV 1990, s. 28.
- SEDLÁČEK, D. - PALISA, V. - KRIGAR, V. - STAJNER, A.: Kožná reakcia buňkami zprostredkované imunity; imunohistochemie glukánového infiltrátu. *Imunol. Zprav.*, **III**, 1988, s. 58.
- SHERWOOD, E. R. - WILLIAMS, D. L. - DiLUZIO, N. R.: Glucan stimulates production of antitumor cytolytic/cytostatic factor (s) by macrophages. *J. Biol. Resp. Modif.*, **5**, 1986, s. 504-526.
- SHERWOOD, E. R. - WILLIAMS, D. L. - McNAMEE, R. B. - JONES, E. L. - BROWDER, I. W. - DiLUZIO, N. R.: Enhancement of interleukin-1 and interleukin-2 production by soluble glucan. *Int. J. Immunopharm.*, **9**, 1987, s. 261-267.
- SMITH, S. M. - LEVY, N. S. - HAYES, C. E.: Impaired immunity in vitamin A - deficient mice. *J. Nutr.*, **117**, 1987, s. 857-865.
- ŠOLTÝS, J.: Vplyv glukánového prípravku MIAL G₁ na fagocytárnu schopnosť krvných leukocytov prasiat pri experimentálnej askarióze. In: Zbor. Ref. Glukány a iné imunomodulačné polysacharidy. Stará Lesná, DVP SAV 1990, s. 33.
- VĚTVÍČKA, V. - FORNUSEK, I. - KOPEČEK, J. - KAMÍNKOVÁ, J. - KAŠPÁREK, I. - VRÁNOVÁ, M.: Phagocytosis of human blood leukocytes: A simple micromethod. *Immunol. Lett.*, **5**, 1982, s. 97-100.
- VRTIAK, O. J. - ŠVRČEK, Š.: Cudzorodé látky a imunita. *Veterinářství*, **41**, 1991, s. 29-30.
- WAGNEROVÁ, J. - LIŠKOVÁ, A. - ČERVENÁKOVÁ, L. - TRNOVEC, T. - FERENČÍK, M.: The immunoadjuvant effect of soluble glucan derivatives in mice. *Folia microbiol.*, **36**, 1991, s. 198-204.
- WHISTLER, R. L. - BUSHWAY, A. A. - SINGH, P. P.: Noncytotoxic antitumor polysaccharides. *Adv. carbohyd. Chem. Biochem.*, **31**, 1976, s. 235-241.
- WILLIAMS, D. L. - SHERWOOD, E. R. - McNAMEE, R. B. - JONES, E. L. - DiLUZIO, N. R.: Therapeutic efficacy of glucan in murine model of hepatic metastatic disease. *Hepatology*, **5**, 1985, s. 198-206.
- WILLIAMS, D. L. - SHERWOOD, E. R. - BROWDER, I. W. - McNAMEE, R. B. - JONES, E. L. - RAKINIC, J. - DiLUZIO, N. R.: Effect of glucan on neutrophil dynamics and immune function in *Escherichia coli* peritonitis. *J. Surg. Res.*, **44**, 1986, s. 54-61.
- 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 29.7.1991

The level of delayed skin hypersensitivity (DSH) was evaluated *in vivo* after dinitrofluorobenzene induction (3rd and 7th week of the experimental) while the level of phagocytic activity (FA) of blood leucocytes (in weekly intervals during six weeks of observation) was evaluated in calves (4.5 to 5.5 months of age) after administration of particular fungal glucane (from oyster mushroom) at a dose of 10 mg/kg live weight. In calves which were administered glucane (abbr. G), a significantly stronger cell-mediated immune response was recorded by means of DSH test in the 3rd week of observation, namely in comparison with its starting value ($P < 0.01$) and also with the value of control animals ($P < 0.01$; K group) - Tab. I. In the seventh week of the experiment there was not a statistical difference in the average values of DSH any more (Tab. I). But at that time 100 percent of calves showed a skin reaction above 6.5 mm ($\bar{x} = 7.64 \pm 0.55$) evoked by the used sensitizer in the G group; this reaction was significantly higher ($P < 0.01$) in comparison with the value of DSH in a majority (80 %) of calves of the K group ($\bar{x} = 6.15 \pm 0.21$) - Fig. 1. The immunostimulating effect of the used glucane on the FA of blood leucocytes was less significant. A significantly higher number of phagocytic cells (from the 21st day to the termination of observation, $P < 0.05$, and/or 0.01) and a significant increase in the values of FA index (FAI) almost during the whole observation ($P < 0.05$, and/or 0.01) were demonstrated in the calves of G group only in comparison with the values before glucane administration, but not in the mutual comparison of these groups (except the FAI values on day 42 of the experiment in favour of the calves of G group; $P < 0.05$ (Fig. 2).

calves; delayed skin hypersensitivity; dinitrofluorobenzene; cellular immunity; immunomodulation; glucane; phagocytic activity of blood leucocytes

Adresa autorov:

MVDr. Štefan Paulík, CSc., doc. MVDr. Viera Bajová, CSc., MVDr. Jana Mojžisová, Univerzita veterinárskeho lekárstva, Komenského 73, 041 81 Košice

Upozorňujeme čtenáře, že v čísle 12/92 časopisu

VETERINÁRNÍ MEDICÍNA

mají být uveřejněny tyto příspěvky:

Paulík Š., Švrček Š., Húska M., Mojžíšová J., Durove A., Beníšek Z.: Vplyv fungálneho a kvasinkového glukánu a levamizolu na úroveň celulárnej imunitnej odpovede *in vivo* a fagocytárnu aktivitu krvných leukocytov u myší

Lauková A.: Vplyv kultivačného média na produkciu bakteriocínov u vybraných bakteriálnych kmeňov

Bíreš K., Bartko P., Juhásová Z., Kovářová E., Hudák P.: Biologická plnohodnotnosť mledziva a teliat od dojnic injekčne ošetrovaných zinkom počas gravidity

Svoboda J.: Sezónná dynamika výskytu parazitů trávicího ústrojí u kura domácího

Láníková A., Toullová M.: Inhibiční účinnost organických kyselin a solí na vybrané druhy mikromycetů

ŠTÚDIUM VPLYVU APLIKÁCIE VITAMÍNU E NA KONCENTRÁCIU SÉROVÝCH IMUNOGLOBULÍNŮV A ÚROVEŇ FAGOCYTÁRNEJ AKTIVITY

P. Mudroň, G. Kováč, A. Hojerová, P. Bartko, J. Bíreš, A. Michna, R. Baldovič

MUDROŇ, P. - KOVÁČ, G. - HOJEROVÁ, A. - BARTKO, P. - BÍREŠ, J. - MICHNA, A. - BALDOVIČ, R. (Univerzita veterinárskeho lekárstva, Košice; Mestská veterinárna správa, Košice): *Štúdium vplyvu aplikácie vitamínu E na koncentráciu sérových imunoglobulínov a úroveň fagocytárnej aktivity*. Veter. Med. (Praha), 37, 1992 (11) : 587-594.

Študovali sme účinok perorálne a parenterálne podaného vitamínu E na hladinu sérových imunoglobulínov a fagocytárnu schopnosť krvných leukocytov u dvoch vekových kategórií teliat. Skupina teliat na mliečnej výžive (1. pokus) a skupina trojmesačných teliat (2. pokus) bola ošetrovaná prípravkami na báze vitamínu E (Combinál E, resp. Erevit inj. ad usum vet.) v dávke 20 mg.kg⁻¹ živej hmotnosti. Toto množstvo spôsobilo signifikantný vzostup koncentrácie vitamínu E v krvnej plazme teliat ($P < 0,01$, resp. $P < 0,05$). V priebehu dvojtyždňového sledovania sme nezaznamenali imunomodulačný vplyv aplikovaného vitamínu na koncentráciu sérových imunoglobulínov. Zistené zvýšenie ich hladiny u teliat pokusnej a kontrolnej skupiny v II. experimente pri posledných odberoch ($P < 0,05$, resp. $P < 0,01$) nebolo závislé od hladiny vitamínu E v krvnej plazme. Signifikantný vzostup indexu fagocytárnej aktivity (IFA) u pokusných teliat v 2. pokuse z počiatočnej hodnoty 13,69 na 17,05 ($P < 0,05$) zaznamenané 10 hodín po aplikácii poukázalo na možný modulačný účinok vitamínu E na fagocytárne reakcie. Nevýznamné zvýšenie IFA v ostatných skupinách, tiež 10 hodín po podaní prípravkov a placebo, potvrdilo priaznivý imunomodulačný vplyv olejových nosičov.

teliatá; vitamín E; sérové imunoglobulíny; fagocytóza

Pri vývoji a funkčnom uplatnení imunitného systému má nezastupiteľnú úlohu výživa zvierat (Beisel a i., 1981). Jej jednotlivé zložky ovplyvňujú nielen humorálnu a bunkami sprostredkovanú imunitu, ale aj mnohé nešpecifické faktory, ako sú C - reaktívny proteín, lyzozýmy, beta-lyzíny a hormóny (Faulk, 1976).

Vitamín E sa svojimi antioxidantnými a štruktúrnymi funkciami významnou mierou podieľa na priebehu reakcií generovaných v priebehu imunitnej odpovede (Halliwell a Gutteridge, 1985).

Mnohé z doposiaľ vykonaných pokusov *in vitro* a *in vivo* poukázali na úlohu vitamínu E pri proliferácii lymfocytov (Larsen a Tollerud, 1981; Bendich a i., 1984, 1986; Reddy a i., 1986; Sulaimanee a Vongsakul, 1987; Jensen a i.,

1988; Bonnette, 1990), pri tvorbe protilátok (Cipriano ai., 1982; Riedel-Caspari ai., 1986; Blodgett ai., 1988; Reffett ai., 1988; Droke a Loerch, 1990), aktivite neutrofilov (Harris ai., 1980) ako aj pri produkcii lymfokínov (Fukuzawa ai., 1989) a lyzozymálnej aktivite (Riedel-Caspari ai., 1986).

Cieľom našej štúdie bolo posúdiť vplyv vitamínu E na vybrané ukazovatele imunity u teliat rôzneho veku.

MATERIÁL A METÓDY

Do 1. pokusu s perorálnou aplikáciou bolo zaradených 12 teliat, krížencov slovenského strakatého a nižinného čiernostrakatého plemena, vo veku do 14 dní s priemernou živou hmotnosťou 41,2 kg, z ktorých 6 bolo ošetrovaných Combinalom E (*Tocopherolum aceticum* 40 mg in 1 ml) v dávke 20 mg tokoferolacetátu.kg⁻¹ ž.h. Kontrolným zvieratám bol ako placebo v rovnakom objeme ako Combinal E podaný slnečnicový olej bez úpravy.

V 2. pokuse bolo použitých 16 trojmesačných teliat (priemerná živá hmotnosť 112,6 kg), krížencov vyššie uvedených plemien, z ktorých ôsmym bol do krčného svalstva podaný Erevit inj. ad usum vet. (*Tocopherolum aceticum* 300 mg in 1 ml *selutions oleosae*) v dávke 20 mg tokoferolacetátu.kg⁻¹ ž.h. 8 teliat kontrolnej skupiny bolo opäť ošetrovaných placebom (slnečnicový olej sterilizovaný teplom a tlakom) podaným i.m. v množstve rovnakom ako Erevit.

Kŕmna dávka teliat v 1. pokuse pozostávala z mliečnej náhražky (Laktavit), lúčneho sena a od IV. odberu aj Doplnkovej zmesi pre odchov teliat - štartérnej (TKŠ) *ad libitum*. V 2. pokuse boli tefatá kŕmené kukuričnou silážou, lúčnym senom a TKŠ *ad libitum*.

Krv pre stanovenie sledovaných ukazovateľov bola odoberaná z v. *jugularis* pred (I), 10 (II), 24 (III), 48 (IV) hodín a prvý (V) a druhý (VI) týždeň po aplikácii. V plazme bola zisťovaná koncentrácia vitamínu E metodikou, ktorú uvádzajú Kováč ai. (1987). Celkové sérové imunoglobulíny (cs-Ig) boli stanovované metódou turbidimetrie podľa autorov McEwana ai. (1970). Fagocytárna aktivita krvných leukocytov bola hodnotená podľa autorov Tomana a Pšika (1985). Zmiešali sme 0,05 ml suspenzie mikrosférických hydrofilných častíc a 0,1 ml krvi. Pre výpočet indexu fagocytárnej aktivity, ktorý predstavuje podiel sumy partikul pohltých bunkami z počtu potenciálnych fagocytov, sme hodnotili 200 buniek.

Štatistická významnosť bola hodnotená *t*-testom pre párové hodnoty (*Pt-test*) a Studentovým *t*-testom (*St-test*) - Poláček (1984).

VÝSLEDKY

PERORÁLNA APLIKÁCIA

Podanie Combinalu E sa výrazne odrazilo v plazmatickej koncentrácii vitamínu E, jeho vzostupom už pri prvých odberoch. Najvyššie hladiny v oboch skupinách boli zaznamenané pri treťom odbere, t.j. 24 hodín po aplikácii roztokov (*Pt-test*, $P < 0,01$, resp. $P < 0,05$; *St-test*, $P < 0,05$). Počas ďalšieho obdobia koncentrácia vitamínu E pozvoľne klesala, avšak v pokusnej skupine sa až do konca experimentu udržiavala na signifikantne vyšších hodnotách oproti východným a hodnotám v kontrolnej skupine (tab. I).

I. Dynamika vitamínu E v krvnej plazme po perorálnej aplikácii Combinalu E [$\mu\text{mol.l}^{-1}$] - Dynamics of vitamin E in blood plasma after peroral administration of Combinal E [$\mu\text{mol/l}$]

Skupina zvierat ¹		Odbor ⁴					
		I	II	III	IV	V	VI
Pokusná ²	$\bar{x}$	1,85	b 4,53 y	c 8,05 x	c 7,23 z	b 6,17 y	b 5,17 y
	s	0,37	1,35	0,74	1,7	1,85	1,81
Kontrolná ³	$\bar{x}$	2,02	a 2,59	b 5,36	a 3,14	2,87	2,6
	s	0,38	0,39	2,02	0,8	0,8	0,4

Platí pro tab. I-IV - Applies for Tabs. I-IV:

a = $P < 0,05$ x = $P < 0,05$

b = $P < 0,01$ vs I. y = $P < 0,01$ vs k

c = $P < 0,001$ z = $P < 0,001$

¹group of animals, ²experimental, ³control, ⁴sampling

Na začiatku experimentu boli u teliat oboch skupín zaznamenané stavy miernej hypoglobulinémie (15,25 resp. 16,68 U.ZST). Ošetrovanie teliat vitamínom E neovplyvnilo štatisticky významne koncentráciu sérových imunoglobulínov, ktorá sa až do konca pokusu výrazne nemenila. V kontrolnej skupine nastal signifikantný pokles ($P < 0,05$) cs-Ig len pri druhom odbere (tab. II).

II. Dynamika celkových sérových imunoglobulínov po perorálnej aplikácii Combinalu E [U.ZTS] - Dynamics of total serum immunoglobins after peroral administration of Combinal E [U.ZTS]

Skupina zvierat ¹		Odbor ⁴					
		I	II	III	IV	V	VI
Pokusná ²	$\bar{x}$	15,28	14,86	14,79	16,07	15,28	15,61
	s	1,36	1,21	1,51	1,84	2,5	2,98
Kontrolná ³	$\bar{x}$	16,68	a 15,68	16,45	16,69	14,86	15,38
	s	6,8	6,8	6,4	6,08	4,78	3,6

For 1-4 see Tab. I

Fagocytárna aktivita leukocytov preukázala podobný trend v oboch skupinách. Jej index (IFA) sa nevýznamne zvýšil pri druhom odbere s následným pozvoľným poklesom pri ostatných odberoch, v kontrolnej skupine prerušeným nesignifikantným vzostupom pri piatom odbere (tab. III).

III. Dynamika indexu fagocytárnej aktivity po perorálnej aplikácii Combinalu E - Dynamics of phagocytic activity index after peroral administration of Combinal E

Skupina zvierat ¹		Odbor ⁴					
		I	II	III	IV	V	VI
Pokusná ²	$\bar{x}$	9,09	11,6	9,15	9,18	9,09	8,62
	s	3,52	3,9	5,56	8,47	9,18	4,66
Kontrolná ³	$\bar{x}$	10,23	11,13	10,23	10,47	11,20	8,43
	s	2,03	3,69	3,62	4,2	4,42	5,08

For 1-4 see Tab. I

Koncentrácia plazmatického tokoferolu vykazala v pokusnej skupine ošetrenej Erevitom podobnú kinetiku ako pri perorálnej aplikácii. Najvyššia hladina $5,51 \mu\text{mol.l}^{-1}$ krvnej plazmy bola opäť zaznamenaná 24 hodín po aplikácii. Placebo, na rozdiel od experimentu s perorálnou aplikáciou, neovplyvnilo u kontrolných teliat jeho hladinu (tab. IV).

IV. Dynamika vitamínu E v krvnej plazme po intramuskulárnej aplikácii Erevitu [$\mu\text{mol.l}^{-1}$] - Dynamics of vitamin E in blood plasma after intramuscular implantation of Erevit [$\mu\text{mol/l}$]

Skupina zvierat ¹		Odber ⁴					
		I	II	III	IV	V	VI
Pokusná ²	$\bar{x}$	4,07	4,69 ^a	5,51	5,34	4,05	3,61
	s	0,69	0,79	2,47	2,04	1,04	0,84
Kontrolná ³	$\bar{x}$	4,25	4,73	4,39	4,59	3,96	3,72
	s	1,02	1,01	0,87	0,80	0,49	0,82

For 1- 4 see Tab. I

Pri stanovení koncentrácie cs-Ig sme zaznamenali mierne kolísanie ich hladín so signifikantným vzostupom pri treťom ($P < 0,01$), piatom ($P < 0,05$) a šiestom ($P < 0,01$) odbere v kontrolnej a od piateho ($P < 0,01$) odbere v pokusnej skupine (tab. V).

V. Dynamika celkových sériových imunoglobulínov po intramuskulárnej aplikácii Erevitu [U.ZST] - Dynamics of total serum immunoglobulins after intramuscular implantation of Erevit [U.ZST]

Skupina zvierat ¹		Odber ⁴					
		I	II	III	IV	V	VI
Pokusná ²	$\bar{x}$	21,71	21,73	23,92	21,75	26,91 ^b	26,07 ^b
	s	2,87	3,12	2,85	4,53	6,00	2,71
Kontrolná ³	$\bar{x}$	21,97	20,31	24,24 ^c	22,42	24,60 ^a	26,09 ^b
	s	2,27	1,91	2,16	3,16	2,00	1,52

For 1- 4 see Tab. I

Index fagocytárnej aktivity sa v pokusnej skupine významne zvýšil v 10. hodine po aplikácii ($P < 0,05$). Pri ďalších odberoch naopak významne klesal a vzostup bol opätovne zistený až pri poslednom odbere ($P < 0,05$). Podobnú dynamiku mala fagocytárna aktivita aj v kontrolnej skupine, v ktorej sme však signifikantný vzostup nezaznamenali (tab. VI).

Skupina zvierat		Odber ⁴					
		I	II	III	IV	V	VI
Pokusná ²	$\bar{x}$	13,69	a 17,05	14,17	b 10,59	b 10,39	a 14,22
	s	1,62	3,77	2,16	1,88	2,49	2,76
					b		
Kontrolná ³	$\bar{x}$	13,31	15,03	13,76	10,23	11,17	12,61
	s	2,29	3,23	1,17	1,13	2,24	2,11

For 1- 4 see Tab. I

DISKUSIA

Jednorázová aplikácia vitamínu E signifikantne zvýšila jeho koncentráciu v krvnej plazme teliat už po 10 hodinách, bez rozdielu od formy podania. Zvýšená jeho hladina sa v 1. pokuse udržiavala v priebehu jeho trvania. Pri intramuskulárnej aplikácii klesla medzi 48. a 72. hodinou. Tento nález sa stotožňuje s údajmi, ktoré publikoval K o v á ě (1977), po aplikácii vyššie uvedených prípravkov vitamínu E. Uvedený autor však zaznamenal podstatne vyššie hladiny vitamínu E po perorálnom podaní Combinalu E, nakoľko v experimente použil teľatá mladšie, len na mliečnej výžive. Výrazný vzostup hladiny vitamínu E u teliat na mliečnej výžive, ošetrovaných placebom, je možné vysvetliť vysokoúčinnou resorpciou jeho stopových koncentrácií, v ktorých sa v slnečnicovom oleji nachádzal (0,02 mg.ml⁻¹).

Koncentrácia celkových imunoglobulínov v krvnom sére teliat perorálne ošetrovaných odrážala vekovú dynamiku. Vek, v ktorom boli zaradené do pokusu, sa vyznačuje počiatčným poklesom koncentrácie cs-Ig, dôsledkom katabolizácie kolostrálnych imunoglobulínov a následným pozvoľným vzostupom (od štvrtého týždňa života) súvisiacim s vlastnou imunopoézou. Nami zistené hodnoty sú podobné s hladinami u teliat, ktoré boli P a u l í k o m a i. (1983) zaradené do skupiny s normálnou koncentráciou (nad 18 U.ZST) imunoglobulínov 48 hodín po narodení, a u ktorých počas prvých štyroch týždňov života zaznamenali ich pohyb v rozpätí 13,72 - 15,49 U.ZST a od piateho týždňa vzostup nad 17 U.ZST. Teľatá zaradené do 2. pokusu sa svojimi hladinami cs-Ig blížili hodnote 26 U.ZST, ktorá predstavuje dolnú hranicu normy udávanú autormi S l a n i n a a B e s e d a (1979) pre teľatá tejto vekovej kategórie. R e d d y a i. (1986) zaznamenali nevýznamne vyššie hladiny IgG u teliat suplementovaných vitamínom E. K výsledku podporujúcim názor, že tokoferoly môžu priaznivo ovplyvniť tvorbu protilátok dospel aj B a a l s r u d a O v e r n e s (1986), keď súčasne s tetanovým toxoidom a vírusom chrípky koní ošetril pokusné zvieratá vitamínom E. Nesignifikantné rozdiely medzi pokusnými a kontrolnými skupinami v našich experimentoch nepotvrdili pozitívny účinok vitamínu E na tvorbu imunoglobulínov. R i e d e l - C a s p a r i a i. (1986) a R e f f e t t a i. (1988) sa domnievajú, že vitamín E ovplyvňuje priaznivo imunitný systém len vtedy, ak antigény vyvolajú masívne poškodenie buniek spojené so zvýšenou tvorbou peroxidov spúšťajúcich prostaglandínovú kaskádu. Prostaglandíny, najmä PGE 2, môžu pôsobiť imunosupresívne na niektoré zložky imunitného systému.

Oxidačné reakcie spojené s produkciou voľných radikálov sú však aj nevyhnutnou súčasťou baktericídnej funkcie polymorfonukleárov. Do týchto reakcií vstupuje vitamín E

ako prirodzený antioxidant s úlohou chrániť membrány a nenasýtené mastné kyseliny pred vysoko reaktívnymi, kyslík obsahujúcimi radikálmi (N o c k e l s , 1988). V prípade, že koncentrácia tokoferolov je príliš vysoká, môže však znížením tvorby radikálov dôjsť k supresii baktericídnych vlastností fagocytov. E n g l e (1987) zistili zníženú tvorbu superoxidu v polymorfonukleároch *in vitro* vystavených pôsobeniu vysokým množstvám vitamínu E. Jeho koncentrácia presahujúca 5 mg.dl⁻¹ potlačila taktiež migračnú schopnosť leukocytov (G o e t z l , 1980). Nami sledovaný účinok na fagocyty hodnotený indexom fagocytárnej aktivity sa ukázal ako mierne stimulačný u teliat vyššej vekovej kategórie, ošetrovaných intramuskulárne, u ktorých sme zaznamenali signifikantné zvýšenie IFA ($P < 0,05$). Nevýznamné zvýšenie nastalo aj v kontrolnej skupine v rovnakom čase, čo poukazuje aj na možný vplyv oleja obsiahnutého v aplikovaných emulziách. Hodnoty IFA boli u teliat na mliečnej výžive mierne vyššie ako hodnoty zistené P a u l í k o m a i. (1987) u rovnako starých teliat a výrazne vyššie ako zaznamenali T o m a n a P š i k a l (1985).

Literatúra

- BAALSRUD, K. J. - OVERNES, G.: Influence of vitamin E and selenium supplement on antibody production in horses. *Equine veter. J.*, 18, 1986, s. 472-474.
- BEISEL, W. R. - EDELMAN, R. - NAUSS, K. - SUSKIND, R. M.: Singlenutrient effects on immunologic functions. *JAMA*, 245, 1981, s. 53-58.
- BENDICH, A. - D' APOLITO, P. - GABRIEL, E. - MACHLIN, L. J.: Interaction of dietary vitamin C and vitamin E on guinea pig immune responses to mitogenes. *J. Nutr.*, 114, 1984, s. 1588-1593.
- BENDICH, A. - GABRIEL, E. - MACHLIN, L. J.: Dietary vitamin E requirement for optimum immune responses in the rat. *J. Nutr.*, 116, 1986, s. 675-681.
- BLODGETT, D. J. - KORNEGAY, E. T. - SCHURIG, G. G. - MELDRUM, J. B. - BONNETTE, E. D.: Vitamin E - selenium and immune response to selected antigens in swine. *Nutr. Rep. Int.*, 38, 1988, s. 37-43.
- BONNETTE, E. D. - KORNEGAY, E. T. - LINDEMANN, M. D. - HAMMERBERG, C.: Humoral and cell-mediated immune response and performance of weaned pigs fed four supplemental vitamin E levels and housed at two nursery temperatures. *J. anim. Sci.*, 68, 1990, s. 1337-1345.
- CIPRIANO, J. E. - MORRILL, J. L. - ANDERSON, N. V.: Effect of dietary vitamin E on immune response of dairy calves. *J. Dairy Sci.*, 65, 1982, s. 2357-2365.
- DROKE, E. A. - LOERCH, S. C.: Effects of parenteral selenium and vitamin E on performance, health and humoral immune response of steers new to the feedlot environment. *J. Anim. Sci.*, 67, 1989, s. 1350-1359.
- ENGLE, W. A. - YODER, M. C. - BAURLEY, J. L. - PAOLO, Y.: Vitamin E decreases superoxide anion production by polymorphonuclear leukocytes. *Pediat. Res.*, 23, 1988, s. 245-248.
- FAULK, W. P.: The immunological system in health and malnutrition. *Proc. Nutr. soc.*, 35, 1976, s. 253-259.
- FUKUZAWA, K. - KURATORI, Y. - TOKUMURA, A. - TSUKATANI, H.: Vitamin E. Deficiency increases the synthesis of platelet-activating factor (PAF) in rat polymorphonuclear leucocytes. *Lipids*, 24, 1989, s. 236-239.
- GOETZL, E. J.: Vitamin E modulates the lipooxygenation of arachidonic acid in leukocytes. *Nature*, 288, 1980, s. 183-185.
- HALLIWELL, B. - GUTTERIDGE, J. M. C.: Free radicals and toxicology. In: HALLIWELL, B. - GUTTERRIDGE, J. M. C. (eds): *Free radicals in biology and medicine*. Oxford, Clarendon Press 1985, s. 206-245.
- HARRIS, R. E. - BOXER, L. A. - BAEHNER, R. L.: Consequences of vitamin E deficiency on the phagocyte and oxidative function of the rat polymorphonuclear leucocyte. *Blood*, 55, 1980, s. 338-343.
- JENSEN, M. - FOSSUM, C. - EDEROTH, M. - HAKKARAINEN, R. V. J.: The effect of vitamin E on the cell-mediated immune response in pigs. *J. Veter. Med.*, 35, 1988, s. 549-555.

- KOVÁČ, G.: Hladiny vitamínu E v krvnom sére teliat po rôznych spôsoboch aplikácie jeho prípravkov. *Veter. Med. (Praha)*, 22, 1977, s. 327-332.
- KOVÁČ, G. - MUDROŇ, P. - PROSBOVÁ, M. - PAŠTĚKAA, K.: Klinická a biochemická odozva prevencie nutričnej myodystrofie u jalovíc. *Veter. Med. (Praha)*, 32, 1987, s. 81-92.
- LARSEN, H. J. - TOLLERSUD, S.: Effect of dietary vitamin E and selenium on the phytohaemagglutinin response of pig lymphocytes. *Res. veter. Sci.*, 31, 1981, s. 301-305.
- Mc EWAN, A. D. - FISHER, E. W. - SELMAN, I. 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.
- NOCKELS, C. F.: The role of vitamins in modulating disease resistance. *Veter. Clin. N. Amer. Fd Anim. Pract.*, 4, 1988, s. 531-542.
- PAULÍK, Š. - SLANINA, L. - BOMBA, A. - POLÁČEK, M.: Imunobiokovínový profil teliat v zdravotne extrémnych podmienkach. *Veter. Med. (Praha)*, 28, 1983, s. 669-678.
- PAULÍK, Š. - SLANINA, L. - DUBAJ, J. - SKOTNICKÝ, J. - GEDEON, V.: Fagocytóza teliat a jej dynamika po experimentálnom zásahu. *Veter. Med. (Praha)*, 32, 1987, s. 93-104.
- POLÁČEK, M.: Základy biometrie pre veterinárnych lekárov. Bratislava, Príroda 1984, 100 s.
- REDDY, P. G. - MORRILL, J. L. - MINOCHA, H. C. - MORRILL, M. B. - DAYTON, A. D. - FREY, R. A.: Effect of supplemental vitamin E on the immune system of calves. *J. Dairy Sci.*, 69, 1986, s. 164-171.
- REFFETT, J. K. - SPEARS, J. W. - BROWN, T. T.: Effect of dietary selenium and vitamin E on the primary and secondary immune response in lambs challenged with parainfluenza 3 virus. *J. Anim. Sci.*, 66, 1988, s. 1520-1528.
- RIEDEL-CASPARI, G. - SCHMIDT, F. W. - GÜNTHER, K. D. - WAGNER, K.: Zum Einfluss oraler Vitamin - E - Gaben auf Parameter der Infektionsabwehr beim Schwein in der Anfangmast. *J. Veter. Med. B.*, 33, 1986, s. 650-663.
- SLANINA, L. - BESEDA, I.: Metabolický profil hovädzieho dobytku vo vzťahu k zdraviu a úžitkovosti. Bratislava, ÚVIO ŠVS MPVŽ SSR 1979, 150 s.
- SULAIMANEE, P. - VONGSAKUL, M.: The effect of megadosage vitamin E consumption on rat thymocyte rosette-forming cells and proliferative response. *J. Sci. Soc. Thailand.*, 13, 1987, s. 113-117.
- TOMAN, M. - PŠÍKAL, I.: Test fagocytárnej aktivity krvných leukocytů teliat. *Veter. Med. (Praha)*, 30, 1985, s. 393-400.

Došlo dňa 29.1.1992

MUDROŇ, P. - KOVÁČ, G. - HOJEROVÁ, A. - BARTKO, P. - BÍREŠ, J. - MICHNA, A. - BALDOVIČ, R. (University of Veterinary Medicine, Košice; Municipal Veterinary Administration, Košice): *Study of the effect of vitamin E supplementation on the concentration of serum immunoglobulins and on the level of phagocytic activity.* *Veter. Med. (Praha)*, 37, 1992 (11) : 587-594.

The effect of peroral administration and parenteral implantation of vitamin E was followed as exerted on the concentration of total serum immunoglobulins and phagocytic activity of blood leucocytes in calves. Twelve calves at the age of maximally 14 days with the average live weight of 41.2 kg were included in an experiment with peroral administration; six of them were given Combinal E (*Tocopherolum aceticum* 40 mg in 1 ml) at a dose of 20 mg tocopherol acetate per kg live weight. Sixteen

calves at the age of three months and with the average live weight of 112.6 kg were included in the second trial. The Erevit preparation was implanted intramuscularly to eight calves at the same dose as in the first experiment (*Tocopherolum aceticum* 300 mg in 1 ml *solutions oleosae*). The animals of control groups in both experiments were administered sunflower oil as a placebo, namely at the same amount as the above-mentioned preparations (no oil treatment for peroral administration, heat and pressure treatments of oil for intramuscular implantation). All the preparations lead to a significant increase in vitamin E concentrations in the blood plasma of calves in both experiments, the highest average level being recorded in 24 hours after administration (8.05, and/or 5.51 $\mu\text{mol/l}$; Tabs. I and IV). The level of total serum immunoglobulins was not influenced by vitamin E supplementation; this level remained below the physiological range of values in calves with peroral administration during the whole time of observation. An increase in the concentration of total serum immunoglobulins observed in the last samplings (26.91; 26.07 and/or 24.6 and 26.09 U.ZSZ = $P < 0.05$ and/or $P < 0.01$) in calves of the experimental and control groups in the experiment with Erevit intramuscular implantation and placebo administration did not depend on vitamin E levels in the blood plasma (Tabs. II and V). An evaluation of the phagocytic activity of leucocytes expressed by the phagocytic index showed its highest increase in calves administered the Erevit preparation in which the index value increased from the initial value of 13.69 to 17.05 ($P < 0.05$) in ten hours after administration. Similar dynamics of the phagocytic activity index was also observed in the other calves (Tabs. III and VI), in which the increase also occurred in ten hours but this increase was not statistically significant. A decrease in the phagocytic activity was recorded in the subsequent sampling, that means in the 24th hour, and then in the course of these experiments. Except the fifth sampling in the control group of the first experiment, there was no increase exceeding the above values. These results indicate the possible modulating effect of vitamin E on phagocytic responses, as well as positive immunomodulating effects of oil carriers.

calves; vitamin E; serum immunoglobulins; phagocytosis

Adresy autorov:

MVDr. Pavol Mudroň, doc. MVDr. Gabriel Kováč, DrSc., prof. MVDr. Pavol Bartko, DrSc., doc. MVDr. Jozef Bříř, CSc., doc. MVDr. Alexander Michna, CSc., Univerzita veterinárskeho lekárstva, Komenského 73, 041 81 Košice
MVDr. Andrea Horejová, Mestská veterinárna správa, Dukelských hrdinov 1, 040 01 Košice

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

HANUŠ, O. - ŽVÁČKOVÁ, I. - GENČUROVÁ, V. - GABRIEL, B. (Výzkumný ústav pro chov skotu, Rapotín): *Vztah obsahu laktózy v mléce k ukazatelům zdravotního stavu mléčné žlázy v první třetině laktace*. Veter. Med. (Praha), 37, 1992 (11) : 595-604

Bylo vyšetřeno 662 konvových vzorků mléka krav dvou plemenných skupin: 1. červenostrakaté = české strakaté s různým podílem zušlechťujících plemen ayrshire a červené holštýnské; 2. černostrakaté = černostrakaté nížinné a různé stupně převodného křížení s podílem plemene holštýnského. Vzorky celodenních nádojů byly odebírány měsíčně po dobu jednoho roku v prvních třech měsících laktace. Byla posuzována možnost použití poklesu obsahu laktózy jako pomocného ukazatele k detekci poruch sekrece mléčné žlázy v počáteční fázi laktace. Byly zjištěny tyto průměrné hodnoty: obsah laktózy (L) $4,88 \pm 0,20$ % obsah chloridů (Cl⁻) $113,7 \pm 22,4$ mg.100 ml⁻¹, počet somatických buněk (SB) 474 ± 805 tis.ml⁻¹, log počtu SB 2,3693 odpovídá geometrickému průměru 234 tis.ml⁻¹, titrační kyselost (SH) $7,34 \pm 0,83 \times 2,5$ mmol.l⁻¹, chlórucukrové číslo (CIL) $2,27 \pm 0,51$, konduktivita (γ) $442,4 \pm 34,5$ mS.m⁻¹ a mastitis test (MT-NK) $0,72 \pm 1,18$. Účinnost použitého statistického modelu byla nejvyšší pro obsah Cl⁻ a nejnižší pro počet SB. Plemenná skupina měla významný vliv na Cl⁻, SB, log SB, SH, CIL, γ a MT-NK. Měsíc laktace významně ovlivnil SB, log SB, SH a γ . Byl nalezen významný vliv pořadí laktace pro L, SB, log SB, SH, CIL, γ a MT-NK. Sezóna ovlivnila významně L, log SB, SH, CIL, γ a MT-NK. Na rozdíl od tří vlivů předcházejících byly u sezóny jen málo patrné zřetelné tendence. Obsah laktózy vykázal významné ($P < 01$) korelační koeficienty k : Cl⁻ -0,44; SB -0,25; log SB -0,29; SH 0,25; γ -0,54; MT-NK -0,38. Vzhledem k významným vztahům L k dalším ukazatelům zdravotního stavu vemene, poměrně nízké variabilitě a nižšímu uplatnění sledovaných vlivů na obsah L v první třetině laktace a vzhledem ke skutečnosti, že u většiny dojníc v kontrole užítkovosti jsou analyzovány zatím vzorky mléka na obsah tuku, bílkovin a laktózy, nikoliv však na počet SB, se jeví jako účelné prakticky využít obsahu laktózy v exponovaném (z hlediska sekrečních poruch) počátečním období laktace jako pomocného indikačního ukazatele. Při respektování určitého poklesu L s pořadím laktace je velmi pravděpodobné za zřetelného poklesu počítat se zhoršeným zdravotním stavem vemene. Následně je nutné provést bližší vyšetření na mastitidu, popřípadě vyluku mléka z dodávky a léčebný zákrok.

mléko; konvový vzorek; plemeno; pořadí laktace; stadium laktace; obsah laktózy; obsah chloridů; počet somatických buněk; konduktivita; chlórucukrové číslo; zdravotní stav vemene

Rutiní sledování obsahu laktózy vedle obsahu tuku a bílkovin v mléce individuálních krav v rámci kontroly mléčné užitkovosti vytváří předpoklady pro zohlednění obsahu laktózy jako pomocného ukazatele ve vztahu k zdravotnímu stavu mléčné žlázy. V překládané práci je posouzen vztah obsahu laktózy k dalším ukazatelům zdravotního stavu vemene v první třetině laktace. Toto období je významné vzhledem k rozhodujícímu vlivu na produkci mléka v celé laktaci. Intenzivní sekreční činnost mléčné žlázy v první třetině laktace pak klade zvýšené nároky na udržení dobrého zdravotního stavu. Thiel a Dodd (1977 - cit. Gravert, 1983) uvádějí počátek laktace spolu s přechodem k době stání na sucho jako období výrazně exponovaná z hlediska frekvence vzniku nových infekcí. Podobně uvádí počáteční období laktace jako velmi rizikové z hlediska mastitidy Andersen (1990).

Řada prací uvádí negativní vztah obsahu laktózy v mléce k počtu somatických buněk (SB), přičemž korelační koeficienty jsou v hodnotách od -0,23 do -0,65 podle toho, zda se jednalo o vzorky čtvrtové, konvové nebo bazénové, resp. zda bylo nebo nebylo použito logaritmické transformace počtu SB (Renner, 1972; Körner aj., 1977; Bergmann, 1978, 1979; Ryšánek a Olejník, 1980; Schneeberger a Leuenberger, 1981; Leuenberger, 1986; Suchánek a Köhler, 1990; Hanuš a Suchánek, 1991; Suchánek a Gajdůšek, 1991; Danuser, 1991). Někteří z těchto autorů doporučují proto obsah laktózy jako jeden z doplňujících ukazatelů k posuzování zdravotního stavu vemene. V jiných pracích spatřují autoři takovou možnost jako problematickou a nepřikláníjí se k ní, neboť podle jejich výsledků je diagnostická účinnost nízká (Ingraj., 1973; Ryšánek, 1988).

Kreuzer a Kirchgessner (1985) poukazují na nepodstatný vliv změn ve výživě dusíkatými látkami na obsah laktózy, Peaker (1980) připouští ovlivnění obsahu laktózy úrovní výživy až v extrémních případech hladovění. Vedle toho Famigli Bergamini (1987) naznačuje zřetelné snížení obsahu laktózy při metabolických poruchách jako jsou ketózy. KIRST aj. (1983, 1985) našli rapidní pokles obsahu laktózy (z asi 4,70 na 4,30 %) jako důsledek absolutního nedostatku glukoplastických složek v návaznosti na energeticky restriktivní výživu dojníc. Dále uvádějí, že klesá-li syntetizační kapacita pro laktózu v důsledku poklesu plazmové glukózy, tak u krav ve vrcholu laktace neklesá koncentrace laktózy, nýbrž mléčná užitkovost, zatímco u krav v poslední třetině laktace klesá při energeticky nedostatečné krmné dávce koncentrace laktózy.

Ačkoliv z mnoha prací vyplývá, např. Suchánek a Gajdůšek (1991), Suchánek a Kvapilík (1974), Suchánek aj. (1988), že laktóza je v porovnání s ostatními hlavními složkami mléka nejstabilnější a podléhá poklesům především v důsledku zhoršeného zdravotního stavu vemene (Renner, 1972; Ingraj., 1973, 1974; Bergmann, 1978, 1979; Schneeberger a Leuenberger, 1981; Šebela aj., 1983; Suchánek a Köhler, 1990), z mnohdy i protichůdných literárních odkazů je zřejmé, že při využití její hodnoty jako doplňkového ukazatele zdravotního stavu mléčné žlázy je nutno zohlednit ještě některé další možné vlivy.

MATERIÁL A METODY

V období jednoho roku bylo provedeno pokusné sledování ve třech stádech. Zastoupeny byly dvě plemenné skupiny: krávy plemene českého strakatého a kříženky s různým podílem zušlechťujících

plemen ayrshire a červené holštýnské na první laktaci a dalších laktacích (stáda 1 a 2); krávy plemene černostrakaté nížinné a kříženky v různém stupni převodného křížení z plemene české strakaté na druhé a vyšších laktacích (stádo 3). Podmínky chovu tří stád byly velmi podobné.

Konvové vzorky mléka byly odebírány jako směsné z ranního a večerního nádoje v měsíčních intervalech u krav v prvních třech měsících laktace, minimálně však týden po otelení. Celkem bylo odebráno 662 vzorků mléka, které byly analyzovány druhý den po odběru a do doby analýzy byly uloženy nekonzervované v chladničce (4 °C). Bylo měřeno základní složení mléka (včetně obsahu laktózy) a některé ukazatele zdravotního stavu mléčné žlázy.

Byl sledován denní nádoj mléka (DN) v kg, obsah tuku (T) v % = $\text{g} \cdot 100 \text{ ml}^{-1}$, bílkovin (B) v % hrubých bílkovin = $\text{g} \cdot 100 \text{ g}^{-1}$, laktózy (L) v % monohydrátu = $\text{g} \cdot 100 \text{ g}^{-1}$, tukuprosté sušiny (TPS) v % = $\text{g} \cdot 100 \text{ g}^{-1}$, obsah chloridů (Cl⁻) v $\text{mg} \cdot 100 \text{ ml}^{-1}$, počet somatických buněk (SB) v $\text{tis} \cdot \text{ml}^{-1}$, logaritmicky transformovaný počet SB, dále hodnoty aktuální kyselosti (pH), titrační kyselosti (SH), v spotřebě 2,5 $\text{mmol} \cdot \text{l}^{-1} \text{NaOH}$, chlórucukrového čísla podle Koestlera jako poměru obsahů chloridů a laktózy (C/L), konduktivity (γ) v $\text{mS} \cdot \text{m}^{-1}$ a Mastitis test NK (MT-NK).

Obsahy T, B, L a TPS byly určeny na infraanalýzátoru Milko-Scan 133 B (Foss Electric, Dánsko), který byl v měsíčních intervalech kalibrován. Jako referenční postupy sloužily pro T metoda podle Gerbera, pro B metoda podle Kjeldahla (Kjeltec, Tecator, Švédsko; veškerý N x 6,38) a pro L metoda polarimetrická (kruhový polarimetr, Carl Zeiss, Jena). Obsah chloridů byly vyšetřovány potenciometricky s využitím iontové selektivní elektrody na zařízení Chloride Ion Metr OP-261 (Radelkis, Maďarsko). Počet SB byl určován metodou ECC na přístroji Coulter Counter Industrial-D (Velká Británie), který byl seřízen na referenční metodu přímého mikroskopického vyšetření podle Prescottta a Breeda. Hodnota pH byla určena potenciometricky pH-metrem OP-264/1 (Radelkis, Maďarsko) a konduktivita zařízením ZD 8-016 (STS Červený Kostelec) kalibrovaným etalonovým roztokem NaCl.

K statistickému vyhodnocení byla použita vícefaktorová analýza variance (H a r w e y, 1977) podle modelu:

$$y_{ijklm} = \mu + q_i + l_j + s_k + m_l + e_{ijklm}$$

kde: y = ukazatel vlastností mléka,

μ = obecný průměr,

q_i = vliv plemene ($i = 2$),

l_j = vliv pořadí laktace ($j = 7$),

s_k = vliv měsíce laktace ($k = 3$),

m_l = vliv kalendářního měsíce ($l = 12$),

e = náhodné vlivy.

VÝSLEDKY A DISKUSE

Průměrné hodnoty sledovaných ukazatelů mléka s vyjádřením variability jsou shrnuty v tab. I. Kromě poněkud nižší hodnoty konduktivity odpovídají ostatní průměry hodnotám pro počátek laktace. Nejnížší variabilita byla stanovena pro pH a obsah L ($4,88 \pm 0,20$ %; $v_x = 4,1$ %). Průměrnému počtu SB $474 \text{ tis} \cdot \text{ml}^{-1}$ odpovídá genomický průměr $\bar{x}_g = 234 \text{ tis} \cdot \text{ml}^{-1}$.

Z hodnot koeficientů determinace v tab. I je patrné, že použitý model vystihuje nejvíce variabilitu obsahu Cl⁻, dále pak C/L a γ . Naopak nejméně počtu SB, přičemž účinnost modelu je dvojnásobná po logaritmické transformaci počtu SB.

I. Základní statistické ukazatele vzorků mléka individuálních krav; výsledek analýzy variance v hodnotách F testu a koeficienty determinace R^2 ($n = 662$) - Basic statistical indicators of milk samples of individual cows; the result of analysis of variance in the values of F -test and determination coefficient R^2 ($n = 662$)

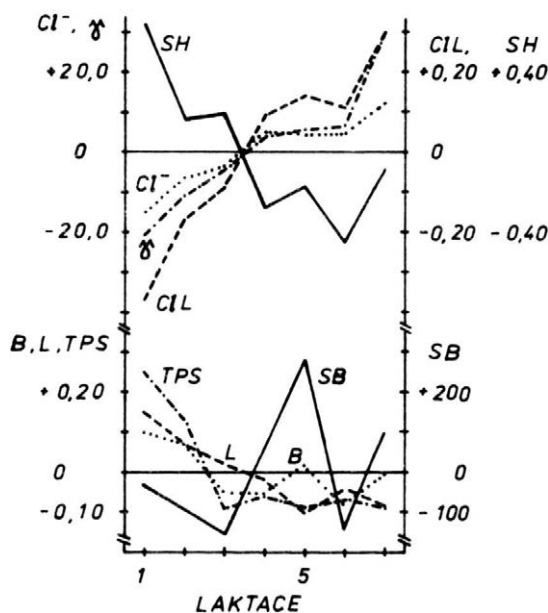
Ukazatel ¹		DN	T	B	L	TPS	Cl ⁻	SB	log SB	pH	SH	CIL	γ	MT-NK
$\bar{x}$		21,1	4,04	3,16	4,88	8,74	113,7	474,0	2,3693	6,29	7,34	2,27	442,4	0,72
s_x		4,8	0,54	0,29	0,20	0,54	22,4	805,0	0,4951	0,13	0,83	0,51	34,5	1,18
v_x [%]		22,7	13,40	9,20	4,10	6,20	19,7	169,8		2,10	11,30	22,50	7,8	163,90
Zdroj ²	DF	F												
Plemeno ³	1	13,1***	4,4*	27,9***	1,3	4,5*	10,3**	5,1*	20,5***	7,0**	13,0***	10,0**	42,1***	7,8**
Pořadí laktace ⁴	6	42,1***	1,7	8,5***	20,3***	8,0***	21,6***	2,2**	3,0**	1,3	27,5***	24,0***	18,1***	2,4*
Měsíc laktace ⁵	2	7,5***	4,9**	19,3***	0,6	3,0	2,8	5,1**	6,9**	34,6***	19,2***	2,4	17,3***	2,7
Kalendářní měsíc ⁶	11	2,5**	6,7***	12,6***	12,8***	3,3***	23,2	1,1	3,9***	21,3***	6,2***	16,8***	12,2***	2,8**
R^2		0,33	0,14	0,33	0,33	0,17	0,41	0,07	0,15	0,36	0,36	0,36	0,39	0,10

¹indicator, ²source, ³breed, ⁴lactation number, ⁵month of lactation, ⁶calendar month

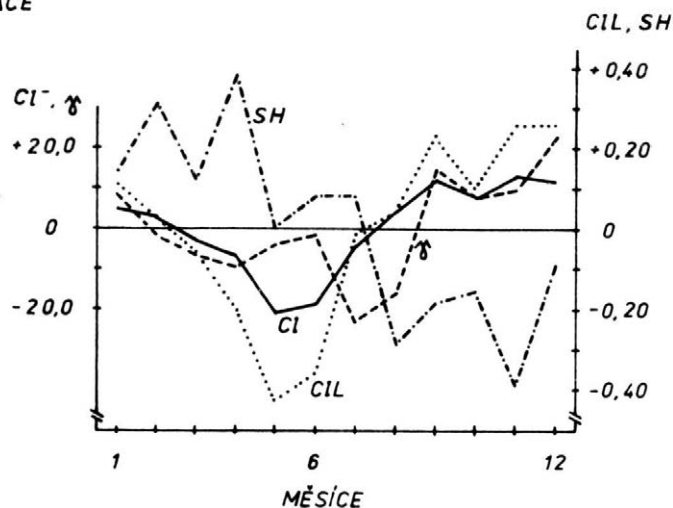
Vysvětlivky k tab. I. - III a k obr. 1 a 2 - Explanatory notes to Tabs. I-III and to Figs. 1 and 2:

$\bar{x}$ = aritmetický průměr; s_x = směrodatná odchylka; v_x = variační koeficient; DN = denní náboj [kg]; T = tuk [%]; B = bílkoviny [%]; L = laktóza [%]; TPS = tukoprostá sušina [%]; Cl⁻ = chloridy [mg.100 ml⁻¹]; SB = počet somatických buněk v tis.ml⁻¹; log SB = dekadický logaritmus SB; pH = aktuální kyselost; SH = titrační kyselost v 2,5 mmol.l⁻¹; CIL = chlórucukrové číslo; γ = konduktivita v mS.m⁻¹; MT - NK = mastitis test NK; DF = stupně volnosti; * = P 0,05; ** = P 0,01; *** = P 0,001 - $\bar{x}$ = arithmetical mean; s_x = standard deviation; v_x = coefficient of variation; DN = daily milk yield [kg]; T = fat [%]; B = proteins [%]; L - lactose [%]; TPS = solids-non-fat [%]; Cl⁻ = chlorides [mg/100ml]; SB = somatic cell count in thousand/ml; log SB = decadic logarithm of SB; pH = actual acidity; SH = titratable acidity in 2.5 mmol/l; CIL = chloride-lactose ratio; γ = conductivity in mS/m; MT-NK = NK mastitis test; DF = degrees of freedom; * = P 0.05; ** = P 0.01; *** = P 0.001

1. Vliv pořadí laktace na některé ukazatele mléka -
The effect of lactation order on some milk indicators



2. Vliv sezóny na některé ukazatele mléka - The effect of the year season on some milk indicators



Významnost uplatnění jednotlivých vlivů je v tab. I. Z tab. II a obr. 1 a 2 byly pak pro přehlednost vypuštěny ukazatele mléka ovlivněné testovanými efekty statisticky nevýznamně a ty z významně ovlivněných, které nepravidelně kolísaly a nevykázaly žádné zřetelné tendence (především ve vztahu k ročnímu období) nebo byly méně významné pro cíl sledování.

Vzhledem k charakteru sledování nelze zcela oddělit vliv plemene od vlivu podmínek chovu (3 stáda). Vliv plemene byl významný pro všechny ukazatele kromě obsahu L (tab. I). Plemenná skupina červenostrakatých krav (tab. II) vykazovala vyšší obsahy složek (T, B, TPS) a hodnotu SH a příznivější hodnoty ukazatelů zdravotního stavu mléčné žlázy (Cl^- , SB, log SB, CIL, γ a MT-NK). Rovněž údaje švédského chovatelského svazu (S w e n s k ,

Husdžurssköttsel, 1990) i údaje více autorů, např. Batra (1986), Emanuelson a Persson (1984), Brolund (1985) a Bergmann (1978, 1979) pro počet SB, Ryšánek aj. (1984) a Batra a McAllister (1984) pro konduktivitu a Hanuš a Pitnerová (1987) pro SH potvrzují meziplemenné rozdíly. Bergmann (1978) a v nedávné práci Hanuš (1992) našli malé, ale významné rozdíly mezi plemeny také pro obsah laktózy v protikladu k současnému zjištění.

II. Odchyly od průměru vlastností mléka podle vlivu plemenné skupiny a měsíce laktace zjišťované analýzou variance - Deviations from the mean of milk characteristics according to the effect of breed group and month of lactation determined by analysis of variance

Vliv ¹	n	DN	T	B	TPS	CI	SB	logSB	pH	SH	CIL	γ	MI-NK
Plemenná skupina ²													
Červenostřakaté ³	426	0,69	0,05	0,06	0,05	-2,70	-86	-0,10	0,01	0,12	-0,06	-8,57	-0,15
Černostrakaté ⁴	236	-0,69	-0,05	-0,06	-0,05	2,70	86	0,10	-0,01	-0,12	0,06	8,57	0,15
Měsíc laktace ⁵													
1.	221	0,53	0,09	0,05			131	0,09	0,23	-0,04		8,06	
2.	222	0,33	-0,04	-0,08			20	-0,01	-0,13	0,00		0,42	
3.	219	-0,86	-0,05	0,03			-111	-0,08	-0,10	0,04		7,64	

¹ effect, ² breed group, ³ red and white, ⁴ black and pied, ⁵ month of lactation

Vliv měsíce laktace byl významný (tab. I) pro DN, T, B, SB, log SB, pH, SH a γ. Pokles počtu SB a log SB od prvního měsíce (tab. II) byl v souladu s pracemi autorů, např. Ng-Kwai-Hang aj. (1984), Hanuš a Suchánek (1991), Schultz (1977 - cit. Rencau, 1986) a dalších, očekávan. Opačný trend plynulého vzrůstu byl zaznamenán pro hodnoty γ a SH. Vzhledem k tomu, že jak počtu SB, tak hodnoty se využívá k detekci mastitid (Batra a McAllister, 1984; Fernando aj., 1985; Emanuelson aj., 1987), nebyl při jejich vzájemném pozitivním vztahu tento protichůdný trend očekávan a souvisí pravděpodobně s fyziologickými změnami v složení mléka na začátku laktace více, než s vlastními mastitidními stavy. V předcházející práci (Hanus a Suchánek, 1991) jsme zaznamenali významný vliv stadia laktace na obsah L během celé laktace, který se nyní, v počátečním období laktace neuplatnil. Také nebyl nalezen významný vliv stadia laktace na CI, který pro celé laktace uvádějí Glabow a aj. (1989) s nárůstem při postupující laktaci.

Vliv pořadí laktace (tab. I) byl významný pro všechny ukazatele kromě obsahu T a aktuální kyselosti. Jak je patrné z obr. 1, tendenci téměř plynulého poklesu s pořadím laktace měly ukazatele TPS, L, B a SH, naopak zase CI, γ a CIL. Pokles laktózy s pořadím laktace je v souladu s dřívějšími výsledky autorů Hanuš a Suchánek (1991), Hanuš (1992) a s výsledky, které uvedli Bergmann (1979) a Danuser (1991). Nárůst CI s věkem dojníc zaznamenala rovněž Glabow a aj. (1989).

Vzrůst počtu SB s pořadím laktace dokumentují práce autorů Bergmann (1978, 1979, 1988), Syrstad (1978), Batra (1986), Ng-Kwai-Hang aj. (1984),

Emanuelson a Persson (1984), Brolund (1985), Hanuš a Suchánek (1991) a Danuser (1991). V nynějších výsledcích (obr. 1) je patrný počáteční pokles a přerušovaný nárůst v počtu SB s pořadím laktace. Tento odklon od obecně očekávaného průběhu byl patrně způsoben nižším počtem případů pro vyšší laktace a také sledováním jen počáteční fáze laktace.

Vliv sezóny (tab. I) byl významný pro všechny ukazatele kromě počtu SB. Nebyly však zřetelné výrazné tendence u většiny ukazatelů. V obr. 2 jsou pouze ty, kde lze vidět tendenční náznaky. Např. je možné usuzovat na vyšší hodnoty Cl^- , CIL a γ v zimních měsících než v letních.

Vzájemné vztahy mezi sledovanými vlastnostmi mléka jsou vyčísleny v tab. III. Obsah laktózy byl významně korelován se všemi ukazateli, které mají užší vztah k zdravotnímu stavu mléčné lžázy. Nejvyšší byla korelace (mimo CIL) ke konduktivitě ($r = -0,54$), nejnižší k počtu SB a SH ($r = -0,25$ a $0,25$). Ve srovnání k některým hodnotám (tab. III) uvádí literatura korelace: mezi obsahem L a počtem SB $-0,25$ (Hanus a Suchánek, 1991) - individuální mléko, $-0,30$ (Leuenberger, 1986) - individuální mléko, $-0,23$ (Suchánek a Gajdůšek, 1991) - bazénové mléko, $-0,48$ (Renner, 1972) - individuální mléko, log počtu SB; mezi obsahem L a konduktivitou $-0,55$ a obsahem L a Cl^- $0,53$ (Fernando aj., 1985) - dodojky. Proti hodnotě korelace $r = 0,20$ mezi γ a počtem SB (tab. III) našli Števonková a Boroš (1988) $r = 0,35$ v bazénových vzorcích mléka. Emanuelson aj. (1987) vypočítali korelační koeficienty $r = 0,46$ a $0,68$ mezi log konduktivitou a log SB pro čtvrtové vzorky bez infekce a při přítomnosti hlavních patogenů mastitidy. Zajímavé jsou významné negativní korelace titrační kyselosti SH k Cl^- , CIL a γ (tab. III).

III. Významné korelační koeficienty ($P < 0,01$ nad diagonálou a $P < 0,05$ pod diagonálou) mezi sledovanými ukazateli v konvových vzorcích mléka ($n = 662$) - Significant correlation coefficients ($P < 0,01$ above the diagonal and $P < 0,05$ under the diagonal) for the investigated indicators in bucket milk samples ($n = 662$)

	DN	T	B	L	TPS	Cl^-	SB	log SB	pH	SH	CIL	γ	MT-NK
DN			-0,41		-0,21			-0,13	-0,19	-0,24			
T			0,22		0,12	-0,23			-0,20	0,27	-0,19	-0,31	
B					0,41				0,15	0,43		-0,21	
L					0,39	-0,44	-0,25	-0,29		0,25	-0,59	-0,54	-0,38
TPS						-0,24				0,23	-0,29	-0,29	
Cl^-			-0,11				0,18	0,24	0,13	-0,45	0,98	0,75	0,34
SB	-0,10	0,09						0,74			0,22	0,20	0,63
log SB		0,10									0,28	0,27	0,68
pH					0,10					-0,29		0,14	
SH											-0,46	-0,43	-0,21
CIL			-0,11						0,11			0,78	0,39
γ	0,09												0,36
MT-NK					-0,11								

Významná negativní korelace odpovídající literárním údajům (pro celé laktace) byla mezi obsahem L a počtem SB a log SB zachycena v první třetině laktace i přes skutečnost, že z fyziologických důvodů se časný počátek laktace vyznačuje vyššími počty SB při vysokém obsahu laktózy. Z výsledků vyplývá pro obsah L poměrně velmi nízká variabilita i poněkud

nižší uplatnění sledovaných vlivů v první třetině laktace. S přihlédnutím k významným vztahům k dalším ukazatelům zdravotního stavu mléčné žlázy se jeví jako účelné zohlednit obsah laktózy při detekci poruch sekrece u krav, které nejsou zapojeny do pravidelného sledování počtu SB v individuálním nádoji. Zatím většina vzorků mléka od dojníc zapojených do kontroly užitkovosti je analyzována na obsah T, B a L, nikoliv však na počet SB. Proto je vhodné údaj o obsahu laktózy využít za předpokladu, že chovatel obdrží výsledek rozboru včas. Při respektování určitého poklesu obsahu L s počátkem laktace je velmi pravděpodobné za zřetelného poklesu počítat se zhoršeným zdravotním stavem vemene. Následně nutno provést bližší vyšetření na mastitidu, popřípadě vyloučení mléka z dodávky a léčbu. Obsah laktózy tak může v exponovaném počátečním období laktace posloužit jako pomocný indikační ukazatel.

Literatura

- ANDERSEN, O.: Health control. National Committee on Danish Cattle Husbandry, Summary of Annual Report 1990, s. 16-22.
- BATRA, T. R.: Relationship of somatic cell concentration with milk yield in dairy cows. *Can. J. anim. Sci.*, 66, 1986, s. 607-614.
- BATRA, T. R. - McALLISTER, A. J.: A comparison of mastitis detection methods in dairy cattle. *Can. J. anim. Sci.*, 64, 1984, s. 305-312.
- BERGMAN, J.: Laktosegehalt und Zellzahl in Einzeltierproben. *Der Tierzüchter*, 31, 1978, č. 6, s. 238-240.
- BERGMANN, J.: Der Laktosegehalt von Einzelgemelksproben als Parameter für den Gesundheitszustand des Euters. Aus den Arbeiten des Landeskontrollverbandes Schleswig-Holstein, 1979, s. 25-43.
- BERGMANN, J.: Zellzahlbestimmung für jede Kuh hilft Kosten sparen. Aus den Arbeiten des Landeskontrollverbandes Schleswig-Holstein e.V., Kiel, 1987/88, 1988, č. 31, s. 27-45.
- BROLUND, L.: Cell counts in bovine milk. VI. Non-bacterial and bacterial factors influencing the cell count in udder total milk samples. *Acta veter. scand.*, Suppl. 80, 1985, s. 59-79.
- DANUSER, J.: Zellzahl der Milch und Eutergesundheit. *Simmentaler Fleckvieh*, 1991, č. 4, s. 18-25.
- EMANUELSON, U. - OLSSON, T. - HOLMBERG, O. - HAGELTORN, M. - MATILA, T. - NELSON, L. - ASTRÖM, G.: Comparison of some screening test for detecting mastitis. *J. Dairy Sci.*, 70, 1987, s. 880-887.
- EMANUELSON, U. - PERSSON, E.: Studies on somatic cell counts in milk from Swedish dairy cows. I. Non-genetic causes of variation in monthly test-day results. *Acta Agric. scand.*, 34, 1984, s. 33-44.
- FAMIGLI BERGAMINI, P.: Rapporti tra patologia (non mammaria) ed aspetti quali - quantitativi del latte nella bovina. *Atti Soc. ital. di Buiatria*, XIX, 1987, č. 8-10, s. 89-99.
- FERNANDO, R. S. - SPHAR, S. L. - JASTER, E. H.: Comparison of electrical conductivity of milk with other indirect methods for detection of subclinical mastitis. *J. Dairy Sci.*, 68, 1985, s. 449-456.
- GLABOWNA, M. - SENDER, B. - LUKASZEWICZ, M. - BASSALIK-CHABIELSKA, L.: The influence of udder health state and selected environmental factors upon chloride level in milk. *Arch. Tierz.*, 32, 1989, č. 5, s. 449-454.
- GRAVERT, O. H.: Die Milch-Erzeugung-Gewinnung-Qualität. Verlag Eugen Ulmer Stuttgart 1983. 230 s.
- HANUŠ, O.: Obsah laktózy v mléce v kontrole užitkovosti krav. *Živoč. Výr.*, 1992, v tisku.
- HANUŠ, O. - PITNEROVÁ, L.: Hodnota titrační kyselosti kravského mléka ve vztahu k některým faktorům. *Náš chov*, 1987, č. 12, příl. Mlékárenský průmysl, s. 2-4.
- HANUŠ, O. - SUCHÁNEK, B.: Variabilita a obsah somatických buněk v mléce krav pod vlivem některých vnitřních a vnějších faktorů. *Živoč. Výr.*, 36, 1991, č. 4, s. 303-311.
- HARVEY, W. R.: User's guide for LSML 76. The Ohio State Univ., Columbus 1977.

- INGR, I. - PLEVA, J. - RYŠÁNEK, D. - JANKOVÁ, B. - RENDA, V.: Změny chemického složení kravského mléka využitelné v diagnostice subklinických mastitid. *Veter. Med. (Praha)*, 18, 1973, č. 3, s. 153-164.
- INGR, I. - RYŠÁNEK, D. - PLEVA, J. - RENDA, V.: Snížení produkce mléka a jeho hlavních složek při subklinické mastitidě dojníc. *Veter. Med. (Praha)*, 19, 1974, č. 9, s. 527-532.
- KIRST, E. - LILL, R. - KRENKEL, K. - CERSOVSKY, H. - BARTEL, B. - JACOBI, U. - LEMKE, B.: Einfluss einer Energiemangelernährung laktierender Rinder auf Zusammensetzung und Eigenschaften der Rohmilch. Untersuchungen bei Kühen im ersten und zweiten Laktionsdrittel. *Milchforschung-milchpraxis*, 27, 1985, č. 3, s. 54-56.
- KIRST, E. - LILL, R. - SCHLEUSENER, I. - KRENKEL, K. - JACOBI, U.: Einfluss einer Energiemangelernährung laktierender Rinder auf Zusammensetzung und Eigenschaften der Rohmilch. Orientierende Untersuchungen. *Milchforsch. Milchpraxis*, 25, 1983, č. 1, s. 3-6.
- KÖRNER, E. - RENNER, E. - SCHMIDT, R.: Zur Ermittlung euterkrankheitsverdächtiger Kühe mit Hilfe der Lactosebestimmung Einzelmilchproben. *Arch. Lebensm.-Hyg.*, 28, 1977, s. 161.
- KREUZER, M. - KIRCHGESSNER, M.: Proteinfehlernährung und ihre Nachwirkungen auf die Leistung Milchkühen. Übers. *Tierernährg.*, 13, 1985, s. 39-64.
- LEUENBERGER, H.: Osobní sdělení. 1986.
- NG-KWAI-HANG, K. F. - HAYES, J. F. - MOXLEY, J. E. - MONARDES, H. G.: Variability of test-day milk production and composition and relation of somatic cell counts with milk yield and compositional changes of bovine milk. *J. Dairy Sci.*, 67, 1984, s. 361-366.
- PEAKER, M.: Influence of diet on the yields and contents of lactose and minerals in milk. Chapter 15, Bulletin IDF, Doc. 125, 1980, s. 159-163.
- RENEAU, J. K.: Effective use of dairy herd improvement somatic cell counts in mastitis control. *J. Dairy Sci.*, 69, 1986, s. 1708-1720.
- RENNER, E.: Möglichkeit der Feststellung von Eutererkrankungen mit dem Infrarot-Milchanalyse (IRMA). *Dtsch. Molk. Zeit.*, 93, 1972, č. 3, s. 71-75.
- RYŠÁNEK, D.: Oponentský posudek k dílčí zprávě Vliv různých faktorů na obsah somatických buněk v mléce. VÚCHS Rapotín, 1988.
- RYŠÁNEK, D. - OLEJNÍK, P.: Diagnostická účinnost měření elektrické vodivosti mléka. *Veter. Med. (Praha)*, 25, 1980, č. 8, s. 467-474.
- RYŠÁNEK, D. - OLEJNÍK, P. - SOKOL, J. - OPLETAL, A. - PECKA, F. - MAJBOVÁ, D. - KREJČÍ, J.: Analýza faktorů ovlivňujících elektrickou vodivost kravského mléka - plemenná příslušnost, lokalita, roční období. *Veter. Med. (Praha)*, 29, 1984, č. 2, s. 89-94.
- SCHNEEBERGER, M. - LEUENBERGER, H.: Relationship of lactose content, somatic cell concentration and California mastitis test in an experimental herd. In: 32nd Annual Meeting of the European Association for Animal Production, Zagreb, 1981.
- SUCHÁNEK, B. - GAJDÚŠEK, S.: Složení mléka plemen skotu v ČSFR. *Živoč. Výr.*, 36, 1991, č. 4, s. 289-296.
- SUCHÁNEK, B. - KÖHLER, P.: Obsah laktózy v mléce jako indikátor zdravotního stavu vemene. *Veterinářství*, 40, 1990, č. 11, s. 493-494.
- SUCHÁNEK, B. - KVAPILÍK, J.: Variabilita celkové sušiny mléka v průběhu laktace. *Živoč. Výr.*, 19, 1974, č. 2, s. 125-136.
- SUCHÁNEK, B. - MÜLLEROVÁ, E. - BRODOVÁ, J.: Obsah složek mléka podle výsledků centrální laboratoře. *Náš Chov (Praha)*, 1988, č. 12, s. 2-4.
- SYRSTAD, O. - RON, I.: Daglig variasjon i celletall i mjolk. *Nord. Veter.-Med.*, 30, 1978, s. 192-198.
- ŠEBELA, F. - KLÍČNÍK, V. - INGROVÁ, M. - HLOUŠEK, M.: Souvislosti mezi počtem somatických buněk a chemickým složením mléka. *Acta Univ. Agric.*, XXXI, 1983, č. 1-2, s. 272-279.
- ŠTEVONKOVÁ, E. - BOROŠ, V.: Sledovanie vzťahu obsahu somatických buniek a elektrickej vodivosti v bazénových vzorkách mlieka. *Mliekárstvo*, 19, 1988, č. 3, s. 10-12.
- SWENSK HUSDJURSSKÖTSEL. Djur Hälsovaord 88/89. Meddelande Nr. 161, Ann. Rev., 1990, s. 30-37.

Došlo dne 11.2.1992

A total of 662 bucket milk samples from cows of two breed groups were examined: red and white breed = Bohemian Pied cattle with different genetic proportions of Ayrshire and Red Holstein improvement breeds; black and white breed = Black and White Lowland breed and different degree of absorptive crossing with a genetic proportion of the Holstein breed. Samples of daily milk yields were taken in the first three months of lactation once a month within a year. A possibility of using lactose content as an auxiliary indicator for detection of the mammary gland secretion disorders in the initial lactation stage was evaluated. The average values of the different indicators and their variability are summarized in Tab. I showing also the significance in a statistical model of included effects. Lactose content (L) was $4.88 \pm 0.20\%$, chloride content (Cl^-) $113.7 \pm 22.4 \text{ mg/100 ml}$, somatic cell (SC) count 474 ± 805 thousand/ml, SC count log corresponds to the geometrical mean of 234 thousand/ml, titratable acidity (SH) $7.34 \pm 0.83 \times 2.5 \text{ mmol/l}$, chloride-lactose ratio (C/L) 2.27 ± 0.51 , conductivity (γ) $442.4 \pm 34.5 \text{ mS/m}$ and mastitis test (MT-NK) 0.72 ± 1.18 . The efficiency of the used statistical model was highest for Cl^- content (Tab. I, $R^2 = 0.41$), and it was lowest for SC counts ($R^2 = 0.07$), while it increased to the twofold value ($R^2 = 0.15$) after logarithmic transformation of SC counts. The breed group exerted a significant effect on Cl^- , SC, log SC, SH, C/L, γ and MT-NK (Tab. I). The breed group of red and white cows (Tab. II) had higher component contents and better indicators of the udder health state (Cl^- , SC, log SC, C/L, γ and MT-NK). The month of lactation influenced significantly SC, log SC, SH and γ (Tab. I). A decrease in SC counts with the accruing month of lactation was observed (Tab. II), the trend of γ and SH was opposite. The effect of lactation number was found to be significant for L, SC, log SC, SH, C/L, γ and MT-NK (Tab. I). A tendency of a gradual decrease with the lactation number was observed in these indicators: L, SH, proteins and solids-non-fat (Fig. 1), while Cl^- , γ and C/L showed an opposite tendency. The year season influenced significantly L, log SC, SH, C/L, γ and MT-NK (Tab. I, Fig. 2). Unlike the latter three effects, the effect of the year season showed only rather unclear tendencies, it meant more or less regular fluctuations. Lactose content had significant correlation coefficients k ($P < 0.01$, Tab. III): Cl^- -0.44; SC -0.25; log SC -0.29; SH 0.25; γ -0.54; MT-NK -0.38. Tab. III shows other correlations ($P < 0.01$): between L and solids-non-fat content $r = 0.39$; between Cl^- and SH $r = 0.45$; Cl^- and log SC $r = 0.24$; log SC and C/L, $r = 0.28$; log SC and γ $r = 0.27$; SH and C/L $r = -0.46$; SH and γ $r = -0.43$; C/L and γ $r = 0.78$. Respecting the significant relationships of L to other indicators of the udder health state, respecting the relatively low variability and weaker action of the investigated effects on L content in the first third of lactation and respecting the fact that milk samples are analyzed for fat, protein and lactose contents, but not for SC counts, it seems practically useful to employ the lactose content as an auxiliary indicator in the initial period of lactation when secretion disorders may occur. Considering a certain decrease in L with the lactation number, it is very probable that a marked decrease indicates the worse health state of the udder. Then the cows should be examined for mastitis, or their milk should be excluded from supplies and curative treatments should be applied.

milk; bucket milk sample; breed; lactation number; lactation stage; lactose content; chloride content; somatic cell counts; conductivity; chloride-lactose number; udder health state

Adresa autorů:

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

P. Jaďuď, I. Beseda, J. Králiková, J. Váľka, B. Ďurišová, P. Stanko

JAĎUĎ, P. - BESEDA, I. - KRÁLIKOVÁ, J. - VÁĽKA, J. - ĎURIŠOVÁ, B. - STANKO, P. (Štátny veterinárny ústav, Zvolen; Ústav biochémie a genetiky živočíchov SAV, Ivanka pri Dunaji, pracovisko Zvolen): *Funkčne narušená pečeň vo vzťahu ku zníženej titračnej kyslosti mlieka*. Veter. Med. (Praha), 37, 1992 (11) : 605-612.

Sledovali sme vnútorné prostredie 17 dojnic pomocou 23 ukazovateľov metabolického profilu v krvi a mlieku pri zníženej titračnej kyslosti mlieka. Priemerné hodnoty sledovaných ukazovateľov sme konfrontovali s referenčnými hodnotami v histograme. Vypočítali sme tiež štatistickú významnosť rozdielov aritmetických priemerov od referenčného priemeru. Korelačnou analýzou sme vypočítali korelačné koeficienty každého ukazovateľa s každým. Vybraté korelačné vzťahy sme znázornili v korelogramoch. Zistili sme významné korelačné vzťahy medzi AST a °SH ($r = -0,791$), AST a pH mlieka ($r = 0,617$), AST a laktózou ($r = -0,69$), AST a glukózou ($r = -0,56$), pH krvi a pH mlieka ($r = -0,608$), pH mlieka a laktózou ($r = -0,89$). Vzájomné súvislosti stupňa SH s vybratými ukazovateľmi krvného séra a mlieka sme hodnotili pomocou regresných koeficientov, vypočítaných pre každý sledovaný parameter z matematického modelu. Najvyššiu súvislosť sme zistili pri pH krvi (regresný koeficient (k) $k_{pH} = -11,9$), pri AST ($k_{AST} = -3,1$), pH mlieka ($k_{pHml} = -1,72$) a Mg ($k_{Mg} = -1,98$). Porovnali sme tiež namerané a z matematického modelu vypočítané teoretické hodnoty °SH. Rozdiely medzi nimi neboli štatisticky významné. Z uvedených výsledkov je zjavné, že na titračnú kyslosť mlieka majú vplyv acidobazická rovnováha a funkčný stav pečene.

dojnice; titračná kyslosť; mlieko; acidobáza; korelačné a regresné koeficienty

Sledovanie porúch látkovej výmeny u dojnic v poslednom období poukazuje na zvýšenú incidenciu porúch pečene a zároveň i na zmenu kvality mlieka z hľadiska jeho fyzikálno-chemických vlastností, ktorá sa prejavuje najčastejšie znížením titračnej kyslosti. K a d l e c (1982) uvádza, že rozhodujúcim faktorom kvality mlieka z hľadiska jeho chemického zloženia a technologických vlastností je v našich podmienkach výživa. Ako príčinu nízkej titračnej kyslosti v zimných mesiacoch uvádza nedostatok energetickej zložky krmiva. Podobné výsledky popisuje v svojej práci M a r t i n k o (1988). T h i e m e a i. (1983) uvádzajú ako hlavné príčiny odchýlok titračnej kyslosti od fyziologických hodnôt vplyv kŕmenia s následným porušením látkového metabolizmu. Na základe získaných výsledkov doporučuje využívať stanovenie titračnej kyslosti na zisťovanie porúch

proteinovo-energetického zásobovania dojnic. Na nejednoznačné závery v tomto zmysle poukazuje Rossow (1980), ktorý sa však odvoláva na zatiaľ nedostatočne objasnenú účasť mliečnej žľazy pri regulácii acidobázickej homeostázy organizmu.

Janetschke (1983) pri objasňovaní prípadov pozitívnych inhibičných testov a hodnôt kyslosti mlieka pod 6 x 0,25 N NaOH/100 ml ($^{\circ}\text{SH}$) došiel k záveru, že došlo k výrazným poruchám látkovej výmeny u kráv, čo potvrdilo i nápadne časté zistenie stučnenia pečene, obličiek a srdca u zabitých kráv.

Jacobi a i. (1983) uvádzajú, že hodnoty pod 6 $^{\circ}\text{SH}$ sa vyskytujú pri skrmovaní nekvalitnej siláže, pasením a skrmovaním mladej trávy a krmív chudobných na energiu, no zároveň bohatých na obsah dusíkatých látok. Ďalej popisuje, že obsah laktózy v mlieku je citlivým indikátorom zásobovania kráv energiou. S týmto názorom sa stotožňujú i práce viacerých autorov (Kvíz a Hofman, 1990; Beseda a i., 1990; Lachmann a Seffner, 1979; Polák, 1986), ktorí ako hlavnú príčinu nízkej titračnej kyslosti mlieka popisujú krmnú dávku, ktorá obsahuje prebytok dusíkatých látok, nedostatok energie a sušiny. V mlieku sa tým zníži beztuková sušina (BTS) a obsah laktózy, avšak obsah bielkovín nevykazuje až tak výrazné zmeny. Zvýšený obsah somatických buniek v mlieku je priamym dôsledkom metabolických porúch (Polák, 1986).

Autori, ktorí vo svojich prácach sledovali vplyv nedostatku energie na látkový metabolizmus došli zhodne k záveru, že v danom prípade dochádza k atakovaniu pečenej parenchýmy s následnou lypolýzou rôzneho stupňa (Reichel, 1989; Vrzgula a i., 1990; Beňuška a Kolouch, 1989 a iní).

Pri syndróme zníženej titračnej kyslosti mlieka sa ako hlavná príčina uvádza nedostatočné energetické zásobovanie dojnic krmivom. Zároveň tento fenomén je i hlavnou príčinou funkčného narušenia pečene s možnosťou vzniku steatózy, čo nás viedlo k hlbšiemu štúdiu vzťahov týchto dvoch produkčných ochorení, u ktorých predpokladáme, že môžu prebiehať i súčasne.

MATERIÁL A METÓDY

Testovali sme 17 dojnic, ktoré produkovali mlieko so zníženou titračnou kyslosťou. V krvi, krvnom sére a mlieku sme stanovili 23 parametrov. Mlieko na vyšetrenie sme odoberali pri rannom dojení. V krvi sme stanovili Astrupové ukazovatele pH, pCO_2 , BE, AB, SB, BB pomocou automatického analyzátora krvných plynov AVL 947.

V krvnom sére sme stanovili fotometricky:

- vápnik, fosfor, močovinu, glukózu (autoanalyzátorom Contiflo podľa doporučených firemných metód),
- CB, AST, ALT, GMT, horčík (Bio La Testy),
- sodík a draslík iónselektívnymi elektródami (AVL 982 podľa doporučených firemných metód).

V mlieku sme sledovali pH, titračnú kyslosť (ČSN 570530, 1974) vápnik, fosfor, močovinu a laktózu (autoanalyzátor Contiflo).

Metabolický profil testovaných dojnic sme spracovali vo forme histogramov (Beseda a Vářka, 1977). Vypočítali sme korelačné koeficienty každého ukazovateľa s každým, pričom vybrané korelačné vzťahy sme znázornili vo forme korelogramov. Vzájomné súvislosti $^{\circ}\text{SH}$ mlieka s vybranými ukazovateľmi krvného séra a mlieka sme hodnotili pomocou regresných koeficientov vypočítaných pre každý sledovaný parameter z matematického modelu programom Mulinreg (Blackith a Reymont, 1971). Porovnali sme namerané a z matematického modelu vypočítané hodnoty SH. Výsledky sme spracovali na personálnom počítači PC AT.

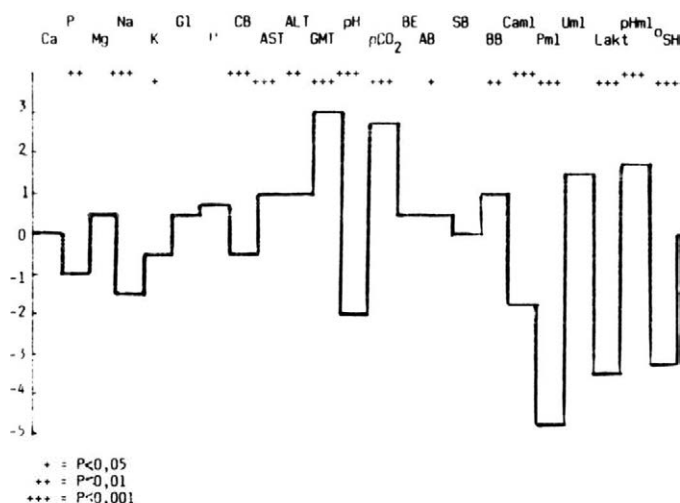
VÝSLEDKY

Priemerné hodnoty ukazovateľov profilového testu sa konfrontovali s referenčnými hodnotami v histogramoch. Súčasne sa stanovila signifikancia rozdielov priemerov s referenčnými hodnotami (obr. 1).

V tab. I sú uvedené pre každý parameter minimálne a maximálne namerané hodnoty ako aj aritmetické priemery a smerodajné odchýlky ($n = 17$).

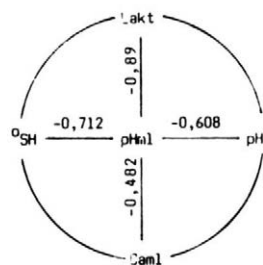
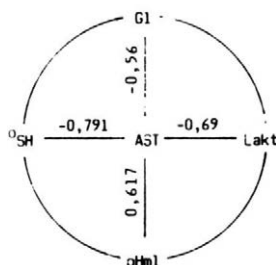
Vybraté korelačné vzťahy medzi AST, glukózou, laktózou, $^{\circ}\text{SH}$, Ca mlieka a pH krvi a mlieka sú znázornené na obr. 2.

Matematický model závislosti $^{\circ}\text{SH}$ od vybratých ukazovateľov krvného séra a mlieka a ich regresné koeficienty sú znázornené na obr. 3.



1. Histogram ukazovateľov profilu krvi, krvného séra a mlieka dojnic so zníženou titračnou kyslosťou mlieka - A histogramme of the parameters of blood profile, blood serum and milk of dairy cows with lowered titratable acidity of milk

2. Korelogramy vybratých ukazovateľov metabolického profilu dojnic so zníženou titračnou kyslosťou mlieka - Correlogrammes of some parameters of the metabolic profile of dairy cows with lowered titratable acidity of milk



I. Aritmetické priemery, smerodajné odchýlky, minimálne a maximálne namerané hodnoty ukazovateľov krvi, krvného séra a mlieka ($n = 17$) - Arithmetical means, standard deviations, minimum and maximum recorded values of the parameters of blood serum and milk ($n = 17$)

Ukazovateľ jednotky ¹	Ca	P	Mg	Na	K	Gl	U	CB	AST	ALT	GMT	pH	pCO ₂	BE	AB	SB	BB	Ca	P	U	Lak- tóza	pH	*SH
	[mmol.l ⁻¹]							[g.l ⁻¹]		[μkat.l ⁻¹]			[kPa]				[mmol.l ⁻¹]				[g.100 ml ⁻¹]		
Priemerné hodnoty ($\bar{x}$) ²	2,53	1,59	0,98	131,80	4,40	3,58	4,68	68,60	0,47	0,37	1,12	7,35	6,66	2,65	26,8	25,1	49,25	22,58	13,46	4,34	3,92	6,90	4,14
Smerodajná odchýlka ³	0,23	0,47	0,18	7,98	0,77	0,41	1,91	5,71	0,11	0,11	0,43	0,02	0,36	1,93	1,83	1,55	2,55	4,32	2,64	1,81	0,78	0,17	0,75
Minimálne namerané hodnoty ⁴	1,98	0,89	0,74	120,00	3,32	2,70	2,66	59,00	0,30	0,21	0,62	7,32	6,15	0,00	24,4	23,2	45,7	13,50	7,50	2,30	2,57	6,63	2,20
Maximálne namerané hodnoty ⁵	2,81	2,90	1,37	152,00	5,90	4,23	9,92	82,00	0,72	0,59	2,38	7,39	7,47	6,90	30,8	28,7	52,2	29,40	17,90	9,86	5,11	7,16	5,40

¹unit parameter, ²average values ($\bar{x}$), ³standard deviation, ⁴minimum recorded values, ⁵maximum recorded values

$$oSH = f(Mg.k_{Mg} + Gl.k_{Gl} + U.k_U + CB.k_{CB} + AST.k_{AST} + ALT.k_{ALT} + GMT.k_{GMT} + pH.k_{pH} + BE.k_{BE} + AB.k_{AB} + U_{ml}.k_{U_{ml}} + lakt.k_{lakt} + pH_{ml}.k_{pH_{ml}}) + A$$

k_{Mg} - 1,9788	k_{pH} - 11,9142
k_{Gl} - 0,8212	k_{BE} - 0,3586
k_U - 0,3359	k_{AB} - 0,4521
k_{CB} - 0,1832	$k_{U_{ml}}$ - 0,5297
k_{AST} - 3,1675	k_{lakt} - 0,2995
k_{ALT} - 1,0556	$k_{pH_{ml}}$ - 1,7210
k_{GMT} - 0,3535	A - 120,5859

3. Matematický model závislosti °SH od vybraných ukazovateľov krvného séra a mlieka dojnic pri zníženej titračnej kyslosti - A mathematical model of °SH dependence on some parameters of blood serum and milk of dairy cows at lowered titratable acidity

II. Porovnanie analyticky nameraných a z matematického modelu vypočítaných hodnôt °SH mlieka u dojnic so zníženou titračnou kyslosťou - Comparison of analytically recorded and from the mathematical model calculated °SH values of milk in dairy cows with lowered titratable acidity

Číslo dojnice ¹	Analyticky namerané hodnoty ² (°SH)	Vypočítané hodnoty ³ (°SH)
1	2,6	2,62370
2	3,8	3,74032
3	2,2	2,31378
4	4,0	3,83512
5	4,0	4,06862
6	4,3	4,29402
7	4,3	4,37406
8	4,8	4,89599
9	4,8	4,73250
10	4,2	4,18595
11	4,0	4,13622
12	5,4	5,29197
13	4,6	4,49490
14	4,4	4,13574
15	4,8	5,09470
16	4,1	4,01382
17	4,0	1,06862

¹dairy cow no., ²analytically recorded values, ³calculated values

V tab. II sú porovnané namerané a z matematického modelu vypočítané teoretické hodnoty °SH. Rozdiely medzi nimi nie sú štatisticky významné (P > 0,05).

Doterajšie poznatky v oblasti technopatií dojnic naznačujú pravdepodobný súvis funkčného poškodenia pečene so zmenou kvality mlieka, ktorá sa prejavuje okrem iného aj znížením titračnej kyslosti. Uvedený predpoklad potvrdzujú naše výsledky získané u sledovaných dojnic ($n = 17$), ktorým bola nameraná znížená titračná kyslosť (od $2,2^{\circ}\text{SH}$ do $5,4^{\circ}\text{SH}$) - tab. I, zistená pri rannom dojení priamo z mliečnej žľazy, čím sme vylúčili možnosť vonkajšieho ovplyvnenia titračnej kyslosti mlieka.

Z obr. 1 je zreteľne vidieť signifikantne zníženú hodnotu laktózy v mlieku oproti referenčnej hladine ako aj mierne zvýšenú hladinu močoviny v mlieku i v krvnom sére. Nakoľko priemerné hladiny urey a glukózy v krvnom sére nevykazujú výrazné rozdiely oproti fyziologickým normám (tab. I), predpokladáme, že daný stav pretrváva dlhšiu dobu, čo vedie až ku zmenám kvality produkovaného mlieka. Naše výsledky sa stotožňujú s tvrdením autorov (K a d l e c, 1982; P o l á k, 1986; T h i e m e a i., 1983; J a n e t s c h k e, 1983 a iní), ktorí uvádzajú ako hlavnú príčinu nízkej titračnej kyslosti mlieka nedostatok energie, prebytok dusíkatých látok, čo je priamou príčinou metabolických porúch.

Enzymatický profil sledovaných dojnic (obr. 1) nám poukazuje na záťaž pečene parenchýmu, hlavne zvýšenými hladinami GMT, AST a ALT. Výsledky sa stotožňujú s prácami viacerých autorov (R e i c h e l, 1989 a iní).

Korelačná analýza nami vybraných ukazovateľov potvrdzuje vzťah zaťaženia pečene so súčasnou zmenou kyslosti mlieka. Korelačné koeficienty AST s laktózou, s pH mlieka a $^{\circ}\text{SH}$ (obr. 2) sú štatisticky významné ($P < 0,01$).

Použitím viacrozmerných štatistických metód sme vypočítali matematický model súvislosti $^{\circ}\text{SH}$ mlieka s vybranými biochemickými ukazovateľmi krvného séra a mlieka (obr. 3). Z vypočítaných regresných koeficientov je vidieť súvislosť titračnej kyslosti mlieka s AST (obr. 3).

V danom prípade zúžený úživný pomer kŕmnej dávky bol príčinou narušenia acidobázickej homeostázy dojnic, pričom je charakteristické, že do mlieka prestupujú bázické látky, znižujúce jeho titračnú kyslosť (tab. I). Dokazuje to vysoko signifikantná korelácia pH krvi - pH mlieka ($P < 0,01$, obr. 2). Uvedený výsledok súhlasí s údajmi autorov M a r t i n k o (1988), S o k o l a i. (1990). Úzka súvislosť tiež medzi pH krvi a $^{\circ}\text{SH}$ je potvrdená regresným koeficientom $k_{\text{pH}} = -11,9$ (obr. 3). Uvedené výsledky poukazujú na vzájomnú súvislosť funkčného narušenia pečene parenchýmu ku zníženej titračnej kyslosti mlieka v dôsledku porúch acidobázickej rovnováhy organizmu.

Vzájomné súvislosti $^{\circ}\text{SH}$ s vybranými ukazovateľmi krvného séra a mlieka sú kvantifikované regresnými koeficientami vypočítanými z matematického modelu pre každý sledovaný parameter (obr. 3). Najvyššiu súvislosť sme zistili pri pH krvi (regresný koeficient (k) $k_{\text{pH}} = -11,9$) pri AST ($k_{\text{AST}} = -3,1$), ALT ($k_{\text{ALT}} = 1,09$), pH mlieka ($k_{\text{pHml}} = -1,72$) a Mg ($k_{\text{Mg}} = -1,98$) - obr. 3.

Pomocou matematického modelu sa vypočítali teoretické hodnoty titračnej kyslosti mlieka (tab. II). Štatisticky významné rozdiely medzi vypočítanými a nameranými hodnotami sa nezistili.

Matematický model naznačuje možnosť sledovať zmeny $^{\circ}\text{SH}$ mlieka v súvisi so zmenou hladín každého z ukazovateľov použitého k jeho výpočtu.

Z výsledkov je zjavné, že na titračnú kyslosť mlieka má veľký vplyv stav acidobázickej rovnováhy a funkčný stav pečene.

- BEŇUŠKA, N. - KOLOUCH, F.: Možnosti prevencie a liečby porúch energetického metabolizmu dojníc. *Veterinářství*, 39, 1989, č. 5, s. 207-208.
- BESEDA, I. - VÁLKA, J.: Hodnotenie metabolických profilových testov samočinným počítačom. *Veter. Med. (Praha)*, 22, 1977, s. 705-712.
- BESEDA, I. - ĎURIŠOVÁ, B. - SOKOL, J. - POLAHÁR, P. - VÁLKA, J. - STANKO, P.: Vzťahy medzi ukazovateľmi profilového testu dojníc pri syndróme zníženej titračnej kyslosti. *Veter. Med. (Praha)*, 35, 1990, č. 3, s. 137-144.
- BLACKITH, R. E. - REYMENT, R. A.: *Multivariate morphometrics*. London, New York, Academia Press 1971.
- ČSN 570530. Metody zkoušení mléka a tekutých mléčných výrobků. 1974.
- JACOBI, V. et al.: Fütterungsbedingte Mängel der Rohmilchqualität. *Tierzucht*, 37, 1983, s. 210-212.
- JANETSCHKE, P.: Praktické zkušenosti se zajištěním požadavků na výrobu jakostního syrového mléka. In: Zbor. Ref. XIV. Lenfeldovy a Höklový dny, 1983, s. 20-28.
- KADLEC, I.: Vliv zootechnických faktorů na kvalitu a složení mléka. *Náš chov*, 11, 1982, příloha, s. 1-3.
- KOLB, E.: *Lehrbuch der Physiologie der Haustiere*. Jena, VEB Gustav Fischer Verlag, 1962, 942 s.
- KVÍZ, J. - HOFMAN, J.: Metabolický profil dojnice a analýza vzorků mléka. *Náš Chov (Praha)*, 1990, č. 8, s. 364-373.
- LACHMANN, G. - SEFFNER, W.: Zur Problematik der metabolischen Acidose des Wiederkäuers. *Mh Veter.-Med.*, 34, 1979, s. 44-45.
- MARTINKO, A.: Vplyv niektorých faktorov na zníženú kyslosť mlieka. In: Zbor. Ref. Symp. Kvalita nakupovaného mlieka. Žilina, 1988, s. 42-49.
- POLÁK, M.: Výživa dojníc, limitující faktor produkce jakostního mléka. *Náš Chov (Praha)*, 1986, č. 3, příloha, s. 3-4.
- REICHEL, P.: Etipatogenéza syndrómu stučnenia kráv z hľadiska diagnostiky, prevencie a terapie. [Kandidátska dizertácia.] Košice 1989. 195 s. - Vysoká škola veterinárska.
- ROSSOW, N.: Störungen der N-Verwertung bei Wiederkäuern. *Mh. Veter.-Med.*, 35, 1980, s. 338-342.
- SLANINA, L. - BESEDA, I.: Metabolický profil hovädzieho dobytku vo vŕahu k zdraviu a ťžitkovosti. Košice, Ústav veterinárnej osvety ŠVS MPVŽ SSR 1979. 150 s.
- SOKOL, J. - BESEDA, I. - VÁLKA, J. - ĎURIŠOVÁ, B. - STANKO, P. - JAĎUĎ, P.: Acidobázický stav dojníc vo vŕahu ku kvalite mlieka. In: Sbor. Ref. Semin. o jakosti potravín a potravinových surovín živočišného původu. 5.3.1990, Vysoká škola zemědělská Brno, s. 7.
- THIEME, D. - GRUNWALD, A. - KRON, A. - SANDER, W. - SCHEICHEL, A.: Normalabweichungen der Säurezahl von Herdenmischmilch und deren Ursachen. *Mh. Veter.-Med.*, 38, 1983, s. 16-24.
- VRZGULA, L. a kol.: Poruchy látkového metabolismu hospodárskych zvierat a ich prevencia. Bratislava, Príroda 1990. 503 s.

Došlo dňa 9.1.1992

JAĎUĎ, P. - BESEDA, I. - KRÁLIKOVÁ, J. - VÁLKA, J. - ĎURIŠOVÁ, B. - STANKO, P. (State Veterinary Institute, Zvolen; Institute of Animal Biochemistry and Genetics, Slovak Academy of Sciences, Ivanka pri Dunaji, working-place at Zvolen): *Damaged liver function in relation to lowered titratable acidity of milk*. *Veter. Med. (Praha)*, 37, 1992 (11) : 605-612.

The internal environment of 17 dairy cows was observed by help of 23 variables of metabolic profile in blood and milk at lowered titratable acidity of milk (Tab. I). Average values of the observed variables were compared with reference values in a histogramme (Fig. 1). We calculated the statistical

significance of differences of arithmetical means from reference average. Using correlation analysis we calculated the correlation coefficients for the observed variables. We represented the chosen correlation relations in correlogrammes (Fig. 2). We found significant correlation relations between AST and titratable acidity ($^{\circ}\text{SH}$) ($r = -0.791$), AST and milk pH ($r = 0.617$), AST and lactose ($r = -0.69$), AST and glucose ($r = -0.56$), blood pH and milk pH ($r = -0.608$), milk pH and lactose ($r = -0.89$). Mutual relations of titratable acidity with chosen variables of blood serum and milk were evaluated by help of regression coefficients, calculated for each parameter from the mathematical model (Fig. 3). The nearest relations were found for blood pH (regression coefficient $/k/$ kPH = -11.9), for AST (kAST = -3.1), for milk pH (k milk pH = -1.72) and for Mg (k Mg = -1.98). We also compared the recorded results of titratable acidity with theoretical values of titratable acidity calculated from the mathematical model (Tab. II). The differences between them were not statistically significant. It is evident from the results that the acid-base balance and functional liver condition influence the titratable acidity of milk.

dairy cows; titratable acidity; milk; liver; acid-base; balance; correlation and regression coefficients

Adresa autorov:

MVDr. Peter J a ě u ě , Štátny veterinárny ústav, Pod Dráhami 918, 960 86 Zvolen
Ing. Imrich B e s e d a , DrSc., MVDr. Jana K r á l i k o v á , Ing. Jozef V á ě k a , CSc., Ing. Bibiana Ď u r i -
š o v á , Ing. Peter S t a n k o , Ústav biochémie a genetiky živočíchov SAV, Ivanka pri Dunaji, Pod Dráhami
918/18, 960 86 Zvolen

BIOCHEMICKÉ ASPEKTY TOXICKÉHO ÚČINKU SUPERMETRÍNU A HISTOCHEMICKÁ AKTIVITA ALKALICKEJ FOSFATÁZY, KYSLEJ FOSFATÁZY A NEŠPECIFICKEJ ESTERÁZY V PODMIENKACH SUBCHRONICKEJ INTOXIKÁCIE OVIEC

E. Dudriková, E. Lenhardt, J. Poráčová

DUDRIKOVÁ, E. - LENHARDT, E. - PORÁČOVÁ, J. (Univerzita veterinárskeho lekárstva, Košice): *Biochemické aspekty toxického účinku supermetrínu a histochemická aktivita alkalickkej fosfatázy, kyslej fosfatázy a nešpecifickej esterázy v podmienkach subchronickej intoxikácie oviec*. Veter. Med. (Praha), 37, 1992 (11) : 613-622.

Sledovali sme vplyv rôznych odstupňovaných dávok originálneho čs. syntetického pyretroidu supermetrínu prijímaného diétou (50 mg.kg^{-1} ž.h. denne v I. pokusnej skupine a 200, neskôr od 4. týždňa 300 mg.kg^{-1} ž.h. denne u II. pokusnej skupiny po dobu šiestich týždňov) na zmeny aktivít enzýmov AST, ALT, ACHE, zmeny koncentrácie močoviny a kreatinínu v krvnom sére a zmeny alkalickkej fosfatázy, kyslej fosfatázy a nešpecifickej esterázy v pečeni, obličkách a tenkom čreve pätnástich oviec. Dynamika zmien enzymatickej aktivity AST, ALT a ACHE po zaťažení organizmu pokusných oviec sledovanými dávkami supermetrínu po dobu šiestich týždňov experimentu sa v podstate nelíšila od hodnôd aktivít sledovaných enzýmov u kontrolných zvierat. Histochemickým vyšetrením neboli zistené žiadne zmeny v aktivite sledovaných enzýmov, ktoré by súviseli so skrmovaním supermetrínu.

ovce; supermetrín; AST; ALT; ACHE; močovina; kreatinín; alkalická fosfatáza; kyslá fosfatáza; nešpecifická esteráza

Syntetické pyretroidy sú relatívne novou skupinou insekticídov. Prvé syntetické pyretroidy s vysokou účinnosťou na hmyz a nízkou toxicitou na cicavce boli popísané v roku 1973 (Elliott a i., 1978).

Pyretroidy sú odvodené z pyretrínov, ktoré sa prirodzene vyskytujú v kvetoch kráľika cinerálieolistového (*Chrysanthemum cinerariaefolium*) - Harris (1985).

Ekologický význam pyretroidov spočíva vo veľmi nízkej toxicite pre necieľové organizmy, ktorá je daná ich rýchlou premenou na málo toxické metabolity a malou perzistenciou v prostredí (Omaka, 1987; Henniger, 1988).

Na základe niekoľkých faktorov sa pyretroidné insekticídy delia na typ I a II (Verschoyle a Aldridge, 1980; Gammon a i., 1981; Lawrence a Casida, 1982; Vijverberg, 1982).

Vo svojej štruktúre pyretroidy typu II zvyčajne obsahujú alfa-kyano-fenoxibenzylovú skupinu, pyretroidom typu I táto skupina chýba (Lawrence a Casida, 1983; Lawrence a i., 1985).

Mnoho autorov sa už podrobne zaoberalo ich insekticídnymi účinkami, chemickou štruktúrou, metabolizmom, degradáciou a praktickým použitím v poľnohospodárstve (Elliot, 1977; Casida, 1980; Hutson a i., 1981; Matsuda a i., 1990).

Z chemického hľadiska patria pyretroidy medzi estery päťčlánkových alkoholov (cyklopentanolu) a trikarboxylových kyselín, ktoré nemajú, alebo majú vo svojej molekule naviazanú kyanoskupinu, čím dochádza k významnému zvýšeniu ich toxického účinku (Elliot a i., 1978).

Po chemickej stránke, supermetrín čs. výroby je /R, S/-alfa-cyano-3-fenoxibenzylo-1-RS/-cis-3/2,2-dichlorovinyl/-2-2-dimetyl cyklopropán karboxylát ($C_{22}H_{19}O_3NCl_2$) s molekulovou hmotnosťou 416,32. Je slabo rozpustný vo vode (1 mg.ml^{-1}), dobre rozpustný v bežných organických rozpúšťadlách, najmä xyléne. Dráždi pokožku, sliznice, oči. V poľnohospodárstve sa má používať ako insekticíd.

Cieľom predloženej práce bolo stanoviť vplyv syntetického pyretroidu čs. výroby vyskytujúceho sa v diéte v rôznych odstupňovaných dávkach na vybrané biochemické parametre krvného séra oviec v podmienkach subchronickej intoxikácie a sledovanie histochemických zmien aktivity alkalické fosfatázy, kyslej fosfatázy a nešpecifickej esterázy vo vybraných orgánoch a tkanivách oviec po ich odporazení.

MATERIÁL A METÓDY

Do experimentu bolo zaradených 15 oviec plemena slovenské merino obidvoch pohlaví vo veku 8 mesiacov o živej hmotnosti 21-28 kg. Zvieratá boli rozdelené do 3 skupín po 5 oviec, individuálne ustajnených.

Ovce boli kŕmené v skorých ranných hodinách. Kŕmna dávka pozostávala zo sena lúčneho priemerného - 0,55 kg a Melasového krmiva M - 0,6 kg, ktoré obsahuje melasu, miagany ovos, pšeničnú kŕmnu múku, pšeničné a ražné otruby a minerálne kŕmne prísady. Do tejto kŕmnej dávky bol priemiešaný supermetrín v dávke $50 \text{ mg.kg}^{-1} \text{ ž.h.}$ pre prvú experimentálnu skupinu zvierat a 200, resp. od 4. týždňa pokusu $300 \text{ mg.kg}^{-1} \text{ ž.h.}$ pre druhú experimentálnu skupinu. Kontrolná skupina bola kŕmená kŕmnom dávkou pozostávajúcou z tých istých komponentov bez prídavku supermetrínu. Nami pripravenú diétu sme podávali denne po dobu šiestich týždňov po predchádzajúcej trojtýždňovej adaptácii zvierat na ustajňovacie podmienky. Voda bola podávaná *ad libitum*.

V pokuse sme použili originálny syntetický pyretroid supermetrín vyvinutý v Spolane Neratovice.

Enzymatickú aktivitu aminotransferázy AST-aspartátaminotransferázy (EC 2.6.1.1), ALT-alanínaminotransferázy (EC 2.6.1.2), ACHE - acetylcholinesterázy (EC 3.1.1.7), zmeny koncentrácie kreatinínu a močoviny v krvnom sére sme sledovali v časových intervaloch: pred p.o. podaním supermetrínu - 0. týždeň, 1., 2., 3., 4., 5., 6. týždeň experimentu. Odbery krvi sme robili vždy ráno (o 8. hodine) z v. *jugularis*.

Sérovú aktivitu AST, ALT, ACHE, ako aj sérovú koncentráciu kreatinínu a močoviny sme stanovili spektrofotometricky použitím Bio-La-Testov (Lachema Brno).

Výsledky jednotlivých stanovení boli spracované osobným počítačom Sinclair ZX Spectrum plus, programom Biostat-d.

Vzorky na histochemické vyšetrenie z pečene, obličiek, duodena, jejuna a ilea sme odoberali ihneď po zabíjaní zvierat vykvrvením, zmrazili v petroleteri a rezali na kryostate (Frigocut model 2700) pri teplote -23 °C.

Aktivity AF - alkalické fosfatázy (EC 3.1.3.2), kyslej fosfatázy - KF (EC 3.1.3.1) a NE - nešpecifické esterázy (EC 3.1.1.1) sme dokazovali izokopulačnými reakciami s použitím metód, ako ich uvádzajú L o j d a i . (1979).

VÝSLEDKY

V tab. I udávame dynamiku zmien enzymatickej aktivity aminotransferázy AST v krvnom sére oviec. Ako z tabuľky vyplýva, v sére kontrolnej a I. pokusnej skupiny oviec je oproti východným hodnotám aktivita AST signifikantne znížená ($p < 0,05$). Z údajov možno tiež vyčítať, že u oviec II. pokusnej skupiny nedošlo k žiadnym signifikantným zmenám v aktivite AST, ani po zvýšení dennej dávky supermetrínu. Z tab. I ďalej vyplýva, že v priebehu skrmovania testovaného insekticídu neboli v krvnom sére oviec zistené žiadne štatisticky významné rozdiely v aktivite tohto enzýmu u oboch experimentálnych skupín oproti kontrolnej skupine zvierat.

I. Priemerné hodnoty enzymatickej aktivity aspartátaminotransferázy (AST) v krvnom sére oviec [$\mu\text{kat.l}^{-1}$] pri teplote 37 °C - Average values of the enzymatic activity of aspartate aminotransferase (AST) in the blood serum of sheep [$\mu\text{kat/l}$] at a temperature of 37 °C

		0.týždeň ⁴	1.týždeň ⁴	2.týždeň ⁴	3.týždeň ⁴	4.týždeň ⁴	5.týždeň ⁴	6.týždeň ⁴
Kontrolná skupina ¹	$\bar{x}$	1,27	1,27	0,74	1,09	0,79	0,29	0,43
	s	0,44	0,35	0,19	0,35	0,32	0,17*	0,07*
I.pokusná skupina ²	$\bar{x}$	1,17	1,10	0,61	0,80	0,75	0,29	0,38
	s	0,63	0,51	0,23	0,10	0,15	0,20*	0,17*
II. pokusná skupina ³	$\bar{x}$	0,81	1,15	0,69	0,87	0,69	0,38	0,45
	s	0,51	0,51	0,33	0,32	0,16	0,09	0,12

* = $P < 0,05$

¹control group; ²experimental group I; ³experimental group II; ⁴week

Tab. II udáva dynamiku zmien enzymatickej aktivity aminotransferázy ALT. Z tabuľky vyplýva, že počas celej doby testácie supermetrínu u kontrolnej skupiny oviec a II. experimentálnej skupiny nedošlo k signifikantným zmenám v aktivite ALT oproti východným hodnotám. Naproti tomu v krvnom sére oviec I. kontrolnej skupiny bolo zaznamenané signifikantné zníženie ($p < 0,05$) aktivity ALT oproti východným hodnotám. Počas celého 6-týždňového skrmovacieho obdobia pyretroidu neboli evidované v krvnom sére oviec I. pokusnej skupiny štatisticky významné rozdiely v aktivite tohto enzýmu oproti kontrole.

Dynamika enzymatickej aktivity acetylcholinesterázy je uvedená v tab. III. Počas celého obdobia, od začiatku skrmovania supermetrínu sa aktivita tohto enzýmu signifikantne nemenila i oproti východným hodnotám, i v porovnaní s I. a II. pokusnou skupinou zvierat oproti kontrole.

II. Priemerné hodnoty enzymatickej aktivity alaninaminotransferázy (ALT) v krvnom sére oviec [$\mu\text{kat.l}^{-1}$] pri teplote 37 °C - Average values of the enzymatic activity of alanine aminotransferase (ALT) in the blood serum of sheep [$\mu\text{kat/l}$] at a temperature of 37 °C

		0.týždeň ⁴	1.týždeň ⁴	2.týždeň ⁴	3.týždeň ⁴	4.týždeň ⁴	5.týždeň ⁴	6.týždeň ⁴
Kontrolná skupina ¹	$\bar{x}$	0,72	0,81	0,33	0,51	0,25	0,10	0,18
	s	0,40	0,56	0,20	0,21	0,33	0,07	0,24
I. pokusná skupina ²	$\bar{x}$	0,77	0,65	0,17	0,39	0,10	0,08	0,08
	s	0,39	0,34	0,09*	0,07	0,08*	0,05*	0,05*
II. pokusná skupina ³	$\bar{x}$	0,40	0,77	0,29	0,41	0,09	0,04	0,09
	s	0,33	0,57	0,18	0,10	0,06	0,02	0,09

* = $P < 0,05$

For 1-4 see Tab. I

III. Priemerné hodnoty aktivity acetylcholinesterázy (ACHE) v krvnom sére oviec [$\mu\text{kat.l}^{-1}$] - Average values of acetylcholine esterase (ACHE) activity in the blood serum of sheep [$\mu\text{kat/l}$]

		0.týždeň ⁴	1.týždeň ⁴	2.týždeň ⁴	3.týždeň ⁴	4.týždeň ⁴	5.týždeň ⁴	6.týždeň ⁴
Kontrolná skupina ¹	$\bar{x}$	2,91	1,62	1,83	2,11	3,11	1,85	2,09
	s	0,98	0,40*	0,48	0,10	0,48*	0,59*	0,35
I. pokusná skupina ²	$\bar{x}$	2,62	2,59	1,50	2,22	2,87	1,81	1,68
	s	0,88	0,79	0,56	0,22	0,29*	0,34	0,43*
II. pokusná skupina ³	$\bar{x}$	2,16	2,16	1,89	2,30	2,94	1,75	1,97
	s	0,79	0,18	0,43	0,29	0,44*	0,42*	0,48*

* = $P < 0,05$

For 1-4 see Tab. I

IV. Priemerné hodnoty koncentrácie kreatinínu v krvnom sére oviec [$\mu\text{mol.l}^{-1}$] - Average values of creatinine concentrations in the blood serum of sheep [$\mu\text{mol/l}$]

		0.týždeň ⁴	1.týždeň ⁴	2.týždeň ⁴	3.týždeň ⁴	4.týždeň ⁴	5.týždeň ⁴	6.týždeň ⁴
Kontrolná skupina ¹	$\bar{x}$	103,54	94,40	86,08	105,21	106,94	89,99	116,24
	s	8,49	8,98	11,32	29,00	18,96	28,42	13,20
I. pokusná skupina ²	$\bar{x}$	100,22	96,91	88,65	110,52	101,31	84,01	116,75
	s	17,77	9,42	7,32	5,73	5,68	12,08	14,98
II. pokusná skupina ³	$\bar{x}$	107,20	96,47	83,50	111,19	102,94	85,59	112,67
	s	9,99	11,84	9,78*	3,13	9,30	20,20	8,58

* = $P < 0,05$

For 1-04 see Tab. I.

V priebehu celého experimentu ani v kontrolnej ani v I. pokusnej skupine neboli zistené oproti východným hodnotám štatisticky významné rozdiely v koncentracii

kreatinínu v krvnom sére oviec (tab. IV). U oviec II. pokusnej skupiny bola koncentrácia kreatinínu prechodne štatisticky znížená ($p < 0,05$).

Z tab. V vyplýva, že počas celého skrmovacieho obdobia supermetrínu, u kontrolnej skupiny oviec, rovnako ako u II. experimentálnej skupiny neboli v sére zaevidované žiadne významné zmeny v koncentrácii močoviny oproti východným hodnotám. Naproti tomu, v sére I. pokusnej skupiny oviec bolo oproti východným hodnotám zaznamenané štatisticky významné zníženie koncentrácie močoviny ($p < 0,05$). Pri porovnávaní pokusných zvierat s kontrolnou skupinou došlo v I. experimentálnej skupine k významnému zníženiu ($p < 0,01$) koncentrácie močoviny v sére v 1. a 3. týždni experimentu a u zvierat II. pokusnej skupiny v 1. týždni experimentu, a to na hranici štatistickej významnosti ($p < 0,05$).

V. Priemerné hodnoty koncentrácie močoviny v krvnom sére oviec [mmol.l⁻¹] - Average values of urea concentrations in the blood serum of sheep [mmol/l]

		0.týždeň ⁴	1.týždeň ⁴	2.týždeň ⁴	3.týždeň ⁴	4.týždeň ⁴	5.týždeň ⁴	6.týždeň ⁴
Kontrolná skupina ¹	$\bar{x}$	8,61	6,45	7,80	6,78	7,40	6,84	8,63
	s	1,17	0,68	1,41	1,05	0,78	1,73	1,31
I. pokusná skupina ²	$\bar{x}$	7,21	4,58	7,97	5,36	6,26	5,15	7,87
	s	1,70	0,60*	1,19	0,48	1,04	0,21	0,92
II. pokusná skupina ³	$\bar{x}$	6,97	5,29	7,55	5,84	6,45	6,43	8,12
	s	1,15	0,85	0,67	1,16	1,58	1,40	1,16

* = $P < 0,05$

For 1-4 see Tab I.

Použitými histochemickými metódami sme v sliznici tenkého čreva, pečene a obličiek vyšetřovaných oviec získali tieto obrazy enzymatických aktivít:

Silná až veľmi silná aktivita alkalické fosfatázy lokalizovanej v mikrovilóznej zóne tenkého čreva nevykazovala zmeny v aktivite pokusných zvierat oproti kontrolnej skupine (obr. 1). Podobný obraz sme zaznamenali aj v parenchýme pečene a obličiek všetkých oviec zaradených do experimentu.

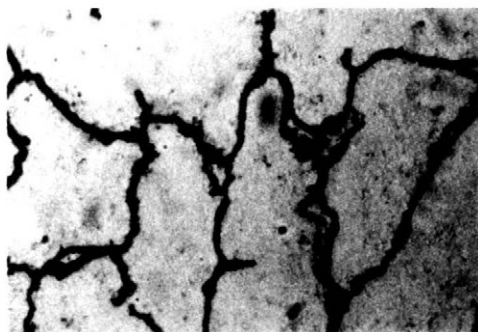
Aktivita kyslej fosfatázy bola v cytoplazme enterocytov tenkého čreva stredne silná až silná (obr. 2). Medzi vzorkami čriev pokusných a kontrolných zvierat sa v aktivite tohto enzýmu nezistili žiadne podstatné rozdiely.

Rozdiely neboli pozorované ani v aktivite kyslej fosfatázy (KF) v tkanive pečene. Aktivita KF sa v hepatocytoch zvyšovala smerom od v. *centralis* k periférii pečenej lobulu, ako u pokusných, tak aj u kontrolných oviec.

Podobne sme zmeny v aktivite tohto enzýmu nezaevidovali ani v cytoplazme buniek obličiek u všetkých troch skupín zvierat.

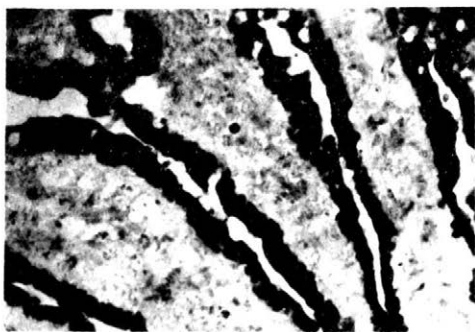
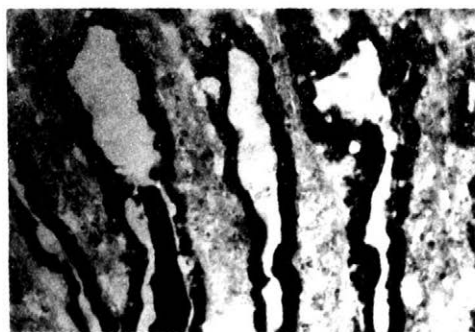
Aktivita nešpecifickej esterázy (NE) sa lokalizovala v cytoplazme enterocytov tenkého čreva. Intenzita aktivity bola v kryptálnej časti sliznice stredná až silná, kým v enterocytoch klkov tenkého čreva bola silná až veľmi silná (obr. 3). Nezistili sa rozdiely v aktivite NE medzi vzorkami z pokusných a kontrolných zvierat (obr. 4).

Cytoplazma pečene i obličiek nevykazovala žiadne významné zmeny v aktivite tohto enzýmu, ako v I. a II. pokusnej skupine zvierat, tak aj v kontrolnej skupine oviec.



1. Histochemický obraz silnej až veľmi silnej aktivity alkalické fosfatázy v rezoch ilea oviec kontrolnej skupiny (obj. 1:10, okul. 3,2) - A histochemical picture of the high to very high activity of alkaline phosphatase in ileum sections of sheep of the control group (lens 1:10, eyepiece 3.2)

2. Silná až veľmi silná aktivita alkalické fosfatázy v mikrovilóznjej zóne enterocytov ilea oviec II. pokusnej skupiny po štyťždňovej aplikácii supermetrínu v dávke 200, resp. 300 mg.kg⁻¹.ž.h. (obj. 1:10, okul. 3,2) - The high to very high activity of alkaline phosphatase in the microvillous zone of ileum enterocytes in sheep of the 2nd experimental group after six-week treatment with supermethrin at doses of 200 or 300 mg/kg live weight (lens 1:10, eyepiece 3.2)



3. Aktivita nešpecifickej esterázy v rezoch ilea oviec kontrolnej skupiny (obj. 1:10, okul. 3,2) - The activity of nonspecific esterase in ileum sections of sheep of the control group (lens 1:10, eyepiece 3.2)

4. Histochemický obraz aktivity nešpecifickej esterázy v rezoch ilea oviec II. pokusnej skupiny (denný príjem supermetrínu 200, resp. 300 mg.kg⁻¹.ž.h. (obj. 1:10, okul. 3,2) - A histochemical picture of the activity of nonspecific esterase in ileum sections of sheep of the 2nd experimental group (daily intake of supermethrin 200 or 300 mg/kg live-weight (lens 1:10, eyepiece 3.2)

DISKUSIA

Zmeny aktivít sledovaných enzýmov AST, ALT, ACHE v krvnom sére pokusných oviec poukazujú na to, že po *p.o.* podaní subchronických dávok supermetrínu sa tieto aktivity výrazne nemenia.

Enzýmy AST, ALT patria do skupiny indikátorových cytoplazmatických enzýmov a zvýšenie ich aktivity v krvnom sére signalizuje poškodenie najmä bunkových membrán, pri ktorom sa tieto intracelulárne enzýmy v nadmernej koncentrácii vyplavujú do krvi (Hořejší a i., 1979). Bartík a Michnová (1970), Kačmár a i. (1979) udávajú zvýšenie aktivity AST, ALT aj pri alimentárnych intoxikáciách. Musil (1981) uvádza, že pre ireverzibilné poškodenie hepatocytov včítane ich nekróz svedčí zvýšenie

aktivity enzýmov, najmä transamináz AST, ALT. Tam, kde nenastane nevratné poškodenie membrán hepatocytov, je zvýšenie aktivity enzýmov, najmä transamináz nepravdepodobné. Za predpokladu, že syntéza uvedených enzýmov prebieha normálne, je možné konštatovať, že perorálny denný príjem podávaných dávok supermetrínu nevyvoláva poškodenie permeability bunkových membrán, resp. biochemické poškodenie pečene u pokusných zvierat.

Acetylcholinesteráza patrí medzi orgánovo špecifické sekrečné enzýmy (H o ř e j š í a i., 1979). Všeobecne sa nízka hladina tohto enzýmu vyskytuje u pacientov s pečenným ochorením. Podobne aj veľký počet liečiv a niektoré insekticídy znižujú aktivitu ACHE (H a r p e r , 1977).

Počas celého experimentu sme nezistili signifikantné zmeny v aktivite acetylcholinesterázy našich pokusných zvierat na rozdiel od S e d o k u r a (1986), ktorý u krýs po experimentálnej intoxikácii pyretroidmi pozoroval zníženie jej aktivity v pečeni, krvnom sére, mozgu a erytrocytoch.

Aj keď došlo k poklesu sledovaných enzýmov na konci experimentu v porovnaní s východiskovými hodnotami u všetkých sledovaných skupín oviec, všetky tieto hodnoty sa počas celého experimentu pohybovali v rámci referenčných hodnôt udávaných autormi V r z g u l a a S o k o l (1987) pre ovce.

Koncentráciu močoviny v krvi ovplyvňuje celý rad faktorov (V á r a d y , 1985). Vzhľadom na to, že všetky nami zistené hodnoty koncentrácie močoviny počas celého obdobia testácie supermetrínu sa u všetkých troch skupín zvierat nachádzali v rozpätí východných hodnôt možno konštatovať, že testovaný pyretroid v subchronických dávkach neovplyvňuje hodnoty močoviny v krvnom sére oviec.

Kreatinín vzniká v organizme zvierat ireverzibilným a neenzymatickým štiepením kreatínfosfátu za predpokladu nedostatku energie viazanej na makroergické väzby ATP. K štiepeniu dochádza najmä v svalových bunkách (H a r p e r , 1977).

Počas celého experimentu sme v žiadnej pokusnej skupine oviec nezistili výrazné zmeny v koncentrácii kreatinínu v sére oviec, z čoho vyplýva vylúčenie možnosti zásahu supermetrínu do energetického metabolizmu pokusných zvierat.

Výsledky nášho štúdia, týkajúce sa vplyvu supermetrínu čs. proveniencie na vybrané biochemické parametre sme nemohli porovnať s výsledkami iných autorov, lebo pokiaľ je nám známe, testovaná látka nebola ešte v tomto smere overovaná na hospodárskych, resp. voľne žijúcich zvieratách.

Podobne v literatúre nenájdeme o histochemickom sledovaní enzymatických aktivít v orgánoch a tkanivách domácich, resp. voľne žijúcich zvierat ako odpovedi na *p.o.* aplikáciu toxických látok takmer žiadne údaje. Aby sme sa vyhli prípadnému nesprávnemu hodnoteniu zmien v aktivite enzýmov, ktoré sme sledovali v rezoch z orgánov oviec usmrtených šesť týždňov po dennom *p.o.* podávaní supermetrínu, porovnávali sme si obraz enzymatických aktivít rezov z orgánov a tkanív oviec, ktoré nám slúžili ako kontrolné, s obrazmi aktivít v rezoch z oviec oboch pokusných skupín. Takto sme zistili, že v obraze enzýmov, ktoré sme sledovali u pokusných, ako aj kontrolných oviec nebol rozdiel.

Rovnako K a č m á r a i. (1991) nezistili v preparátoch tenkého čreva, pečene a obličiek oviec farbených hematoxylín-eozínom po *p.o.* aplikácii supercypermetrínu žiadne štrukturálne zmeny pečene a obličiek, žiadne poškodenie epitelu čriev.

D é s i a i. (1986) popisujú v subchronickom experimente u králikov po *p.o.* aplikácii cypermetrínu zmeny v kôre štítnej žľazy a na nej závislých oblastiach sleziny a lymfatických

uzlín. V pečeni pozorovali v niektorých miestach pečenečných lobulov kresbu a u niektorých zvierat zníženie obsahu glykogénu. K a č m á r a i. (1991) nezistili u oviec v subchronickom pokuse so supercypermetrínom vo vzorkách pečeni rozdiely v obsahu glykogénu.

Podobne ako my v našom experimente K u d w e i s a L o j d a (1990) zaznamenali v pečeni ciciakov experimentálne infikovaných *Coccidium isospora suis* zvyšovanie aktivity kyslej fosfatázy v hepatocytoch smerom od v. *centralis* k periférii pečenečného lobulu.

Je všeobecne známe, že distribúcia látok v organizme závisí na ich fyzikálnych a chemických vlastnostiach. Látky rozpustné v tukoch, medzi ktoré patria aj zlúčeniny s vysoko škodlivým účinkom, pôsobiace už v malých dávkach (jedy) na organizmus sa dostávajú cez membrány buniek tráviaceho aparátu najmä do pečene, kde podliehajú ďalším premenám (M u s i l, 1981).

Testovaný originálny čs. prípravok supermetrín, patriaci medzi pyretroidy, je látka lipoidnej povahy. Aj napriek tejto svojej vlastnosti, na základe našich výsledkov možno skonštatovať, že táto látka nepreniká ľahko bunkovými membránami, alebo inými lipoidnými vrstvami a v organizme sa nehromadí v tukovom tkanive, o čom svedčí aj pri pitve zistený horší výživný stav pokusných utratených zvierat a nepoškodzuje epitel sliznice čriev. K a č m á r a i. (1991) zistili v experimente s denným podávaním tejto látky v odstupňovaných dávkach v diéte v priebehu pokusu neustávajúcu hnačku; patologicko-morfologicky, podobne ako histologicky nebol evidovaný ani zápal čriev, ani poškodenie epitelu sliznice čriev.

Na základe nami zistených výsledkov možno konštatovať, že dávky supermetrínu použité v experimente, skrmované denne po dobu šiestich týždňov nevyvolali žiadne zmeny v aktivite sledovaných biochemických a histochemických parametrov. Dá sa teda predpokladať, že sa jedná o ekologický pesticíd organického pôvodu s polčasom rozpadu asi 72 hodín, ktorý nebude mať vplyv na sledované ukazovatele, najmä ak sa vezme do úvahy jeho množstvo a koncentrácia (0,1-0,21 15% roztoku na 1 ha), ktoré bude používané v poľnohospodárskej praxi.

Podakovanie

Ďakujeme za technickú spoluprácu pani B. K á b r t o v e j a E. M a c e k o v e j .

Literatúra

- BARTÍK, M. - MICHNOVÁ, E.: Enzymatická diagnostika a terapia. VII. Veterinářství, 6, 1970, s. 261-264.
- CASIDA, J. E.: Pyrethrum flowers and pyrethroid insecticides. Envir. Hlth. perspect., 34, 1980, s. 189-202.
- DÉSI, I. - DOBRONYI, I. - VARGA, L.: Immuno-, neuro-, and general toxicologic studies on a synthetic pyrethroid: cypermethrin. Ecol. Envir. Safety, 12, 1986, s. 220-232.
- ELLIOTT, M.: Synthetic pyrethroids. In: Amer. Chem. Soc. Symp. Ser., 42, 1977, s. 1-28.
- ELLIOTT, M. - JANES, N. F. - POTTER, C.: The future of pyrethroids in insect control (Residues, toxicity). Ann. Rew. Entomol., 23, 1978, s. 443-469.
- GAMMON, D. W. - BROWN, M. A. - CASIDA, J. E.: Two classes of pyrethroid action in the cockroach. Pestic. Biochem. Physiol., 15, 1981, p. 181-191.
- HARRIS, B. A.: The development of synthetic pyrethroids, their role in efficient crop protection and the continued improvement in this insecticide crop. In: Materialy XXV. sesji naukovej Institutu Ochrony Roslin. Poznań, 1985, s. 183-198.
- HARPER, H. A.: Přehled fyziologické chemie. Praha, Avicenum 1977, s. 410-573.

- HENNIGER, CH.: Untersuchungen zur Wirksamkeit und Eignung von Pyrethroiden im Pour-on-Verfahren bei Schafen zur Bekämpfung von Zecken (Ixodidae: Ixodes ricinus und Dermacentor marginatus.) Inaugural-Disertation, Hannover, 1988, 94 s.
- HOŘEŠÍ, J. - MATYS, Z. - NEJEDLÝ, B. - PACOVSKÝ, V. - PUDLÁK, P. - SCHREIBER, V. - VORLOVÁ, Z.: Základy klinické biochemie ve vnitřním lékařství. Praha, Avicenum 1979, 168 s.
- HUTSON, D. H. - GAUGHAN, L. C. - CASIDA, J. E.: Metabolism of the cis- and trans- isomers of cypermethrin in mice. Pestic. Sci., 12, 1981, s. 385-398.
- KAČMÁR, P.: Toxikologické aspekty používania pesticídov. In: Zbor. Ref. Semin. Hromadné intoxikácie hospodárskych zvierat-diagnostika, terapia a prevencia. Prešov, 1979, s. 41-43.
- KAČMÁR, P. - BALÁŽ, J. - BÍREŠ, J. - BLAHOVEC, J. - DUDRIKOVÁ, E. - HOJER, R. - KONRÁD, V. - KOVÁČ, G. - LEGÁTH, J. - MIKULA, I. - NEUSCHL, J. - ORIŇÁK, A. - PISTL, J. - PORÁČOVÁ, J. - VAŠKO, L.: Toxikologická testácia pyrethroidného insekticidu supercypermethrinu u oviec v podmienkach subchronickej intoxikácie (6-týždňový skrmovací pokus). ZS v rámci HZ č. 2/90 medzi VÚCHT Bratislava a VŠV Košice, 1991, 69 s.
- KUDWEIS, M. - LOJDA, Z.: Histochemical study on the liver of gnotobiotic piglets during experimental infection with the *Coccidium isospora suis*. Folia Veter., 34, 1990, č. 1-2, s. 53-76.
- LAWRENCE, L. J. - CASIDA, J. E.: Pyrethroid toxicology: Mouse intracerebral structure - activity relationship. Pestic. Biochem. Physiol., 18, 1982, s. 9-14.
- LAWRENCE, L. J. - CASIDA, J. E.: Stereospecific action of pyrethroid insecticides on the gamma-aminobutyric acid receptor-ionophore complex. Science (Wash. DC), 221, 1983, s. 1399-1401.
- LAWRENCE, L. J. - GEE, K. W. - YAMAMURA, H. I.: Interactions of pyrethroid insecticides with the chloride ionophore-associated binding sites. Neurotoxicol., 6, 1985, s. 1399-1401.
- LOJDA, Z. - GROSSAU, R. - SCHIEBLER, T. H.: Enzyme histochemistry. A laboratory manual. Berlin-Heidelberg-New York, Springer Verlag 1979, s. 1-339.
- MATSUDA, K. - HAMADA, M. - NISHIMURA, K. - FUJITA, T.: Quantitative structure-activity studies of pyrethroids. 17. Physicochemical substituent effects of substituted benzyl esters of „kadethric“ acid on symptomatic and neurophysiological activities. Pestic. Biochem. Physiol., 35, 1989, s. 300-314.
- MUSIL, J.: Základy biochemie chorobných procesů. Praha, Avicenum 1981, 379 s.
- OMBAKA, J. H.: Pyrethrum - the natural insecticide. Seifen-Ole-Fattle-Wachse. 113, 1987, s. 111-112.
- SEDOUR, L. K.: Spravočník po pesticídach. Kijev, Urožaj 1986, s. 218.
- VÁRADY, J.: Výmenné procesy dusíkatých látok medzi krvou a tráviacim traktom prežúvavcov. Poľnohosp. Veda, Ser. C, Veterinárstvo, 1, 1985, s. 15-18.
- VERSCHOYLE, R. D. - ALDRIDGE, W. H.: Structure activity relationship of some pyrethroids in rats. Arch. Toxicol., 45, 1980, s. 325-329.
- VIJVERBERG, H. P. M. - RUGHT, G. S. F. - VAN DEN BERCKEN, J.: Structure-related effects of pyrethroid insecticides on the lateral line sense organ and on peripheral nerves of the clawed frog, *Xenopus*. Pestic. Biochem. Physiol., 18, 1982, s. 315-324.
- VRZGULA, L. - SOKOL, J.: Hodnoty metabolických profilových testov u domácich zvierat a ich interpretácia. Inštitút výchovy a vzdelávania veterinárnych lekárov, Košice, ÚVIO-ÚŠVÚ Bratislava, 1987, s. 61.

Došlo dňa 30.9.1991

DUDRIKOVÁ, E. - LENHARDT, L. - PORÁČOVÁ, J. (University of Veterinary Medicine, Košice): *Biochemical aspects of the effect of supermethrin intoxication and histochemistry of alkaline phosphatase, acid phosphatase and non-specific esterase under the conditions of subchronic intoxication of sheep*. Veter. Med. (Praha), 37, 1992 (11) : 613-622.

Fifteen Slovak Merino sheep were included in the experiment. The animals weighing 21-28 kg were divided into three groups per five animals. In a six-week feeding experiment the animals of group I were given 50 mg supermethrin per kg live weight per day while those of group II received 200, and from week four of the experiment 300 mg supermethrin per kg live weight per day. During the experiment changes of aspartate aminotransferase (EC 2.6.1.1), alanine aminotransferase (EC 2.6.1.2), acetylcholine esterase (EC 3.1.1.7), urea and creatinine levels in blood serum were observed. Six weeks after supermethrin treatment the sheep were slaughtered and histochemical evaluation of alkaline phosphatase (EC 3.1.3.2), acid phosphatase (EC 3.1.3.1) and non-specific esterase (EC 3.1.1.1) was carried out in liver, kidney, duodenum, jejunum and ileum. In the course of the experiment changes of the enzymatic activities of aspartate aminotransferase observed in both experimental groups of sheep were similar to those seen in the control group of animals (Tab. I). As compared to the starting values, no significant changes in the activity of alanine aminotransferase were observed in group II of the experiment and in the controls. However, a significantly decreased alanine aminotransferase activity could be seen in the blood serum of sheep of group I (Tab. II). In both experimental groups of animals no significant changes in the acetylcholine esterase could be seen (Tab. III). As compared to the starting values, no significant changes were observed in creatinine levels of the control and the 1st experimental group of sheep (Tab. IV). In the sheep of the 2nd group a temporary significant decrease ($p < 0.05$) in creatinine levels was seen. The dynamics of urea levels was similar to starting values in all animals throughout the experiment (Tab. V). In the control group of animals (Fig. 1) the high density of reaction product of alkaline phosphatase was determined in the microvilli of enterocytes of the small intestine. In the small intestine of the animals of both experimental groups, the activity of this enzyme was shown to be located in the same zone (Fig. 2). In all experimental animals in the parenchyma of the liver and kidney no significant changes could be observed. In both experimental and control animals the high activity of acid phosphatase was demonstrated to be located especially in the cytoplasm of enterocytes. The activity of non-specific esterase was located in the cytoplasm of enterocytes of the small intestine, in the intestinal crypts its activity was slight up to high. The density of this enzyme in the enterocytes of the small intestine villi was found to be high up to highest (Fig. 3). Comparing samples of the small intestine from the experimental and the control sheep no differences were observed in the activity of non-specific esterase (Fig. 4).

sheep; pyrethroids; supermethrin; aspartate aminotransferase; alanine aminotransferase; acetylcholine esterase; urea; creatinine; alkaline phosphatase; acid phosphatase; non-specific esterase

Adresa autorů:

MVDr. Eva Dudriková, CSc., MVDr. Ludovít Lenhardt, Csc., MVDr. Jana Poráčková,
Univerzita veterinárního lékařstva, Komenského 73, 041 81 Košice

J. Legáth, J. Sokol, J. Neuschl, P. Kačmár, G. Kováč

LEGÁTH, J. - SOKOL, J. - NEUSCHL, J. - KAČMÁR, P. - KOVÁČ, G. (Univerzita veterinárskeho lekárstva, Košice): *Vplyv bentazónu čs. výroby na syntézu bakteriálnych proteínov v bachore oviec*. Veter. Med. (Praha), 37, 1992 (11) : 623-631.

Sledovali sme vplyv pesticídu bentazónu čs. výroby prijímaného *per os* (195 mg.kg^{-1}) na zloženie aminokyselín v bielkovinách bachorových baktérií adherovaných na dorzálnu a ventrálnu časť bachora šiestich oviec. Z výsledkov na základe vysokého korelačného koeficientu ($r = 0,94$; $p < 0,01$) je možné usudzovať, že bentazón čs. výroby v diéte výrazne neovplyvňuje zastúpenie aminokyselín v hydrolyzátach baktérií adherovaných na epitel ventrálny a dorzálny časti bachora vo vzťahu ku kontrolnej skupine oviec. Z analýzy jednotlivých aminokyselín však vyplýva, že prítomnosťou bentazónu v kŕmnej dávke oviec sa koncentrácia niektorých aminokyselín v proteínoch baktérií adherovaných na epitel ventrálny a dorzálny časti bachora signifikantne menila ($p < 0,05$). V oboch sledovaných topograficko-anatomických častiach bachora sa signifikantne zvýšila koncentrácia fenylalanínu a znížila koncentrácia alanínu a glycínu. Nevýznamné zmeny v zastúpení aminokyselín v proteínoch baktérií adherovaných na stenu bachora oviec pri skrmovaní 195 mg pesticídu bentazón na kg živej hmotnosti po dobu troch mesiacov svedčia o tom, že pravdepodobne nebude narušená biosyntéza v bachore oviec (degradácia rastlinného materiálu, celulólytická aktivita, ureázová aktivita, trávenie odlupnutých epitelálnych buniek bachora a i.), na čo nepriamo poukazujú rovnaké hmotnostné prírastky u pokusnej a kontrolnej skupiny zvierat v priebehu a po ukončení pokusu (kontrolná skupina - $5,0 \text{ kg}$ a pokusná skupina - $4,9 \text{ kg}$). Z hore uvedených dôvodov sa pesticíd bentazón čs. výroby javí pri správnej agrotechnickej aplikácii ako bezpečný herbicíd vo vzťahu k nami študovanej problematike.

ovce, bachor; adherentné baktérie; aminokyseliny; pesticíd bentazón čs. výroby

Schopnosť degradovať rastlinné pletivá a v procese trávenia ich využívať vo svoj prospech je vlastná len prežúvavcom. Vyvinula sa v dlhom procese evolúcie a postavila prežúvavce v potravinovom reťazci na špecifické miesto. Nezastupiteľnú úlohu na tejto degradácii má bachorová mikroflóra.

Objasnením úlohy bachorovej mikroflóry pri trávení rastlinného materiálu, močoviny, epitelálnych buniek bachora a pri syntéze aminokyselín, resp. bielkovín v bachore, sa

začalo intenzívne štúdium fyziológie bachorového ekosystému vo vzťahu k baktériam, protozóm a húbam.

Cukry, škrob a vláknina sa metabolizujú v bachore cestou anaeróbnej fermentácie na únikové mastné kyseliny (M a t e i a P l a y n e , 1984). Celulóza sa činnosťou mikroorganizmov štiepi pôsobením špecifických enzýmov na beta-4-D-glukózu (E s a u , 1965). Medzi množstvo bakteriálnych druhov, ktoré degradujú celulózu a vykazujú celololytickú aktivitu a sú najčastejšie prítomné v bachore, patria *Ruminococcus albus*, *R. flavefaciens*, *Bacterioides succinogenes* (B r y a n t , 1973). Teda existuje len niekoľko bachorových bakteriálnych druhov, ktoré dokážu štiepiť celulózu na rozpustné glycidy, ktoré slúžia ďalším druhom baktérií v bachore ako ľahko prístupný, na energiu bohatý, substrát. Glycidy sa ďalej vplyvom bakteriálnych enzýmov, štiepia na acetát, propionát, butyrát, metán a oxid uhličitý, ale aj na metabolické medziprodukty, ako sú napríklad kyselina mliečna, kyselina jantárová, plyný vodík, etanol a i. (M e y e r a i . , 1984). Celulolytická aktivita celej mikroflóry bachora, včítane protozoí a húb, rozrušuje okrem iného i steny rastlinných buniek a zároveň sprístupňuje ich obsah k naslednému tráveniu. Degradáciu rastlinného pletiva musíme chápať ako výsledok komplexného spolupôsobenia baktérií, protozoí, húb, ale aj makroorganizmu (prežúvanie, peristaltika a i.).

Degradácia proteínov v bachore je tiež výsledkom enzymatickej činnosti mikroorganizmov. Proteázovú aktivitu vykazujú napríklad bachorové baktérie *Bacterioides amylophilus* (B l a c k b u r n a H u l l a h , 1974), *B. ruminicola* (H a z e l w o o d a E d w a r d s , 1981), *Streptococcus bovis* (R u s s e l l a i . , 1981), *Aerobacter aerogenes* (Y u r w i t z a i . , 1971) a i. Proteolytickou aktivitou mikroorganizmov sa hydrolyzujú proteíny v bachore a natrávená bielkovina, resp. z nej vytvorené medziprodukty (krátke peptidy, aminokyseliny) sú základnou stavebnou jednotkou pre následnú, ale súčasne bežiacu bakteriálnu syntézu nových aminokyselín alebo bielkovín.

Produkcia bielkovín u prežúvavcov je limitovaná proteosyntézou mikrobiálneho pôvodu (H a g e m a i s t e r a K a u f m a n , 1974). Rastom a množením sa mikroorganizmy v bachore majú prežúvavce zabezpečený stály prísun plnohodnotných proteínov (C o t t a a R u s s e l l , 1982), ktoré sa ďalšou pasážou v tráviacom trakte spolu s neatakovanými proteínmi krmiva degradujú v čreve a získané aminokyseliny a krátke peptidy využívajú po reabsorpcii na výstavbu bielkovín, resp. iných dusíkatých látok vlastných organizmu prežúvavca.

Bachorové baktérie v súčasnej dobe delíme na tri základné skupiny (C h e n g a C o s t e r t o n , 1980): baktérie bachorovej tekutiny, baktérie asociované na čiastočky krmiva a baktérie adherované na epitel bachora (epimurálne), ktoré sú predmetom i nášho štúdia.

Okrem procesu trávenia, napr. degradácia a syntéza proteínov, majú baktérie dôležitú úlohu i pri detoxikácii jedovatých látok anorganického a organického pôvodu. Bolo zistené, že vplyvom toxického účinku oxidu uhoľnatého sa znížila fermentácia celulózy, hemi-celulózy a škrobu v bachore, čo malo za následok i zníženie bakteriálnej syntézy aminokyselín *de novo*. Tento stav, vyvolaný stálou zvýšenou koncentráciou oxidu uhoľnatého v bachore, bol však prechodný a prirodzená bachorová fermentácia sa upravila v priebehu niekoľkých hodín (R u s s e l l a J e r a c i , 1984).

Bachorové baktérie sa dokážu prispôbiť vysokým koncentráciám Na^+ (M a c k i e a i . , 1984), dokážu detoxikovať jedy rastlinného pôvodu ako napr. nitropropanol - toxický produkt rastlín rodu *Austragalus* (M a j a k a C h e n g , 1983), kyselinu akonitovú, produkovanú rastlinami rodu *Aconitum* a *Ranunculaceae* (R u s s e l l , 1985), kyanogénne

glykozidy syntetizované veľkým počtom rastlín, napr. rastlinami rodu *Trifolium*, *Prunus* a i. (M a j a C h e n g , 1984).

Vzhľadom na to, že neboli robené štúdie vplyvu pesticídov, na syntézu bielkovín bachorovými baktériami prežúvavcov, cieľom predloženej práce bolo sledovať vplyv široko spektrálneho herbicídu bentazón čs. výroby na proteosyntézu skupiny baktérií adherovaných na stenu bachora oviec.

MATERIÁL A METÓDY

Do experimentu sme zaradili 12 oviec - jariet, plemena slovenské merino, ktoré sme rozdelili po šiestich kusoch do dvoch skupín (kontrola a pokusná skupina). Ovce sme po dobu 90 dní krmili zbilancovanou krmnou dávkou (ČSN 46 7070), ktorá obsahovala seno lúčne priemerné - 1 kg a Melasové krmivo M - 0,46 kg, ktoré obsahovalo melasu, miagany ovos, pšeničnú krmnú múku, pšeničné a ražné otruby a minerálne krmné prísady. Voda bola podávaná *ad libitum*. V melasovom krmive sme v pokusnej skupine oviec denne skrmovali 195 mg bentazónu čs. výroby na kg živej hmotnosti.

Pre štúdium proteosyntézy baktérií adherovaných na stenu bachora oviec, sme si zvolili nami modifikovaný a kvantifikovaný postup (elúciu baktérií izotonickým pufovaným roztokom pri teplote 4 °C), ktorý umožnil získať koncentrát nepoškodených baktérií adherovaných na epitel bachora oviec. Výťažnosť metodiky bola určená rastrovaciou elektrónovou mikroskópiou a predstavovala 93,3 % (L e g á t h a i ., 1990a, b).

Koncentrát trikrát prepraných epimurálnych (na stenu bachora adherovaných) baktérií sme hydrolyzovali v 10 ml 6 M kyseliny chlorovodíkovej v uzavretom prostredí pri teplote 105 °C po dobu 24 hodín. Aminokyseliny v hydrolyzátoch epimurálnych baktérií sme stanovili chromatograficky na prístroji Amino Acids Analyzer T 339 (Mikrotechna Praha).

Výsledky jednotlivých analýz sme spracovali osobným počítačom Sinclair ZX Spectrum plus s grafickou tlačiarňou Alphacom 32 a nami vypracovaným programom Biostat-d, z ktorého sme použili nasledovné časti: Grubssov test, nepárový *t*-test, lineárnu koreláciu a grafický program.

VÝSLEDKY

Pretože vzorky u kontrolnej a pokusnej skupiny oviec boli odoberané z dvoch rôznych miest bachora a vzájomne porovnávané, pristúpili sme k hodnoteniu zmien v zastúpení aminokyselín v proteínoch baktérií adherovaných na epitel bachora oviec vždy v jednom topograficko-anatomickom mieste bachora.

AMINOKYSELINY PROTEÍNOV EPIMURÁLNYCH BAKTÉRIÍ DORZÁLNEJ ČASTI BACHORA OVIEC

Pri kŕmení oviec s diétou obsahujúcou 195 mg bentazónu čs. výroby na kg ž.h. (pokusná skupina) v porovnaní s ovcami kontrolnej skupiny, boli v hydrolyzátoch bachorových baktérií adherovaných na epitel dorzálnej časti bachora zistené signifikantne vyššie koncentrácie (na hladine $p < 0,05$) kyseliny glutámovej, prolínu, tyrozínu, fenyľalanínu a naopak, signifikantne nižšie koncentrácie glycínu, alanínu, valínu a izoleucínu. Zastúpenie ostatných sledovaných aminokyselín (kyselina asparágová, treonín, serín, leucín, histidín, lyzín a arginín), pri skrmovaní nízkych dávok bentazónu čs. výroby v diéte, sa v hydrolyzátoch epimurálnych bachorových baktérií dorzálnej časti bachora výrazne nemeňilo.

Pri kŕmení oviec diétou obsahujúcou prídavok bentazónu čs. výroby (pokusná skupina) v porovnaní s ovcami kontrolnej skupiny, bola v hydrolyzátoch bachorových baktérií adherovaných na ventrálnu časť bachora zistená signifikantne vyššia hladina histidínu a fenylalanínu a súčasne signifikantne nižšia hladina glycínu, alanínu a izoleucínu. U ostatných sledovaných aminokyselín v hydrolyzátoch epimurálnych baktérií ventrálnej časti bachora oviec nedošlo k výrazným zmenám.

Výsledky analýz hydrolyzátoz epimurálnych baktérií dorzálnej a ventrálnej časti bachora oviec kontrolnej a pokusnej skupiny na aminokyseliny sú uvedené v tab. I a II.

Živá hmotnosť zvierat pred a po pokuse je uvedená v tab. III. V kontrolnej skupine oviec sme zaznamenali počas trojmesačného pokusu priemerné zvýšenie živej hmotnosti o 5,0 kg a u oviec, ktorým bol podávaný denne bentazón čs. výroby v uvedenej dávke, v priemere o 4,9 kg.

DISKUSIA

V našich predchádzajúcich experimentálnych prácach uvádzame, že najcitlivejšie na dietetické podmienky reaguje skupina bachorových baktérií adherovaných na epitel ventrálnej a dorzálnej časti bachora oviec. Izodúsikové diéty (vybilancované kŕmne dávky) zmeny v aminokyselinovom zložení proteínov epimurálnych bachorových baktérií nevyvolávajú (Le g á t h, 1988). Na základe tohoto zistenia sme pristúpili k sledovaniu zmien aminokyselinového zloženia hydrolyzátoz bachorových baktérií pochádzajúcich z ventrálnej a dorzálnej časti bachora oviec.

I. Koncentrácia aminokyselín v hydrolyzátoch epimurálnych baktérií dorzálnej časti bachora oviec po trojmesačnom skrmovaní bentazónu čs. výroby v dennej dávke 195 mg.kg⁻¹ živej hmotnosti - Amino acid concentrations in hydrolyzates of epimural bacteria of the dorsal part of sheep rumen after three-month feeding of bentazone of Czechoslovak origin at a daily ration of 195 mg/kg live weight

Aminokyseliny ¹	Kontrolná skupina ²		Pokusná skupina ³	
	$\bar{x}$ (n = 6) nmol.l ⁻¹ Hy	sd	$\bar{x}$ (n = 6) nmol.l ⁻¹ Hy	sd
Asp	17,03	0,34	16,64	1,22
Thr	10,26	0,40	9,60	0,46
Ser	9,51	0,30	9,40	0,38
Glu	19,02	0,37	20,25 ⁺	0,79
Pro	5,70	0,53	8,43 ⁺	0,50
Gly	14,50	0,22	9,95 ⁺	0,33
Ala	15,02	0,45	13,44 ⁺	0,61
Val	9,58	0,16	8,57 ⁺	0,75
Ile	7,82	0,19	6,95 ⁺	0,38
Leu	13,21	0,35	13,12	0,34
Tyr	1,16	0,65	2,82 ⁺	1,07
Phe	5,24	0,15	7,06 ⁺	0,75
His	7,85	1,22	6,96	1,25
Lys	10,16	0,31	10,31	0,31
Arg	7,00	0,62	6,63	0,63

¹amino acids; ²control group; ³experimental group

Vysvetlivky pre tab. I-III - Explanatory notes to Tabs. I-III:

Hy = hydrolyzáty epimurálnych bachorových baktérií; sd = smerodajná odchýlka; + = štatistická významnosť rozdielov priemerov ($\bar{x}$) pri daných smerodajných odchýlkach (sd) na hladine $\bar{p} < 0,05$, hodnotená nepárovým $\bar{t}$ -testom oproti kontrolnej skupine - Hy = hydrolyzates of epimural rumen bacteria; sd = standard deviation; + = statistical significance of differences of the means ($\bar{x}$) at the given standard deviations (sd) at the level $p < 0,05$ evaluated by non-paired $\bar{t}$ -test against the control group

II. Koncentrácia aminokyselín v hydrolyzátoch epimurálnych baktérií ventrálnej časti bachora oviec po trojmesačnom skrmovaní bentazónu čs. výroby v dennej dávke 195 mg.kg⁻¹ živej hmotnosti - Amino acid concentrations in hydrolyzates of epimural bacteria of the dorsal part sheep rumen after three-month feeding of bentazone of Czechoslovak origin at a daily ration of 195 mg/kg live weight

Aminokyseliny ¹	Kontrolná skupina ²		Pokusná skupina ³	
	$\bar{x} (n = 6)$ nmol.mg ⁻¹ Hy	sd	$\bar{x} (n = 6)$ nmol.l ⁻¹ Hy	sd
Asp	17,19	1,30	15,60	1,96
Thr	10,38	1,03	9,88	1,62
Ser	9,18	0,41	9,11	0,35
Glu	19,61	1,10	19,50	1,85
Pro	6,99	1,52	8,27	2,09
Gly	14,42	1,20	9,90 ⁺	0,87
Ala	15,03	0,38	13,22 ⁺	1,37
Val	9,23	0,86	8,94	0,61
Ile	7,38	0,31	6,90 ⁺	0,37
Leu	13,20	0,88	13,43	1,21
Tyr	1,85	1,65	2,36	1,21
Phe	5,57	0,36	7,16 ⁺	1,50
His	5,33	1,28	8,02 ⁺	2,74
Lys	10,54	0,16	10,21	0,89
Arg	7,10	0,50	7,76	1,58

For 1-3 see Tab. I

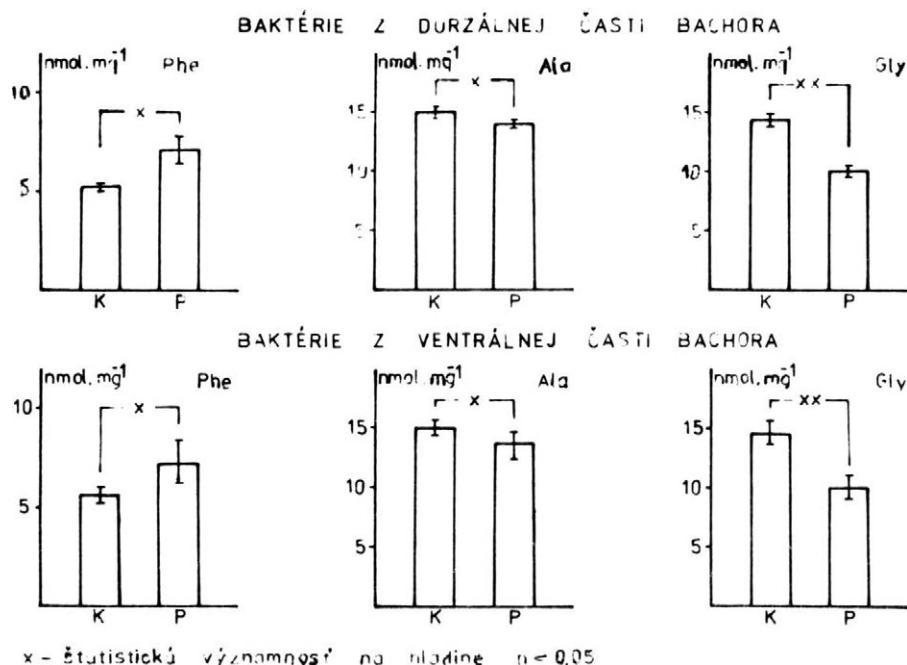
III. Živá hmotnosť [kg] kontrolnej a pokusnej skupiny oviec pri skrmovaní 195 mg bentazónu čs. výroby na kg ž.h. a deň - The live weight [kg] of the control and experimental group of sheep fed 195 mg bentazone of Czechoslovak origin per kg live weight

n	Kontrolná skupina ¹		Pokusná skupina ²	
	Počiatková živá hmotnosť ³	Živá hmotnosť na konci pokusu ⁴	Počiatková živá hmotnosť ³	Živá hmotnosť na konci pokusu ⁴
1	36,0	38,4	36,6	40,5
2	35,0	44,5	39,0	44,7
3	33,0	36,8	43,0	48,5
4	32,8	37,8	38,5	44,4
5	35,0	39,3	38,5	43,3
6	35,0	40,0	41,0	44,2
$\bar{x}$	34,4	39,4	39,4	44,3
sd	1,3	2,7	2,2	2,5

¹ control group; ² experimental group; ³ starting live weight; ⁴ live at the end of the trial

Syntéza aminokyselín bachorovými baktériami závisí od troch základných limitujúcich faktorov: dostatok voľných aminokyselín, zdroj nebielkovinového dusíka a dostupná energia (H a r r i s o n a M c A l l a n , 1980). V našom pokuse sme použili vyváženú (izodusíkovú) krmnu dávku, ktorej zloženie odpovedalo požiadavkám ČSN 46 7070 a to hlavne z toho dôvodu, aby zloženie aminokyselín v bakteriálnych proteínoch ovplyvňoval len prídavok bentazónu v diéte pokusných oviec.

Pesticíd bentazón je prípravok československej výroby, patriaci do skupiny herbicídov určených na ničenie burín v poľnohospodárskych plodinách.



1. Priemerné koncentrácie alanínu, fenylalanínu a glycínu v 1 mg hydrolyzátoch bachorových baktérií adherovaných na dorzálnu a ventrálnu časť bachora oviec po trojmesačnom dennom skrmovaní bentazónu čs. výroby v dennej dávke 195 mg.kg⁻¹ ž.h. (K - kontrolná skupina, P - pokusná skupina) - Average concentrations of alanine, phenylalanine and glycine in 1 mg of hydrolyzates of rumen bacteria adhering to the dorsal and ventral parts of sheep rumen after daily administration of bentazone of Czechoslovak origin at a daily rate of 195 mg/kg live weight for three months (K - control group, P - experimental group)

Na základe vysokého korelačného koeficientu ($r = 0,94$; $p < 0,01$) je možné usudzovať, že uvedený bentazón v diéte výrazne neovplyvňuje zastúpenie aminokyselín v hydrolyzátoch baktérií adherovaných na epitel ventrálnej a dorzálnej časti bachora vo vzťahu ku kontrolnej skupine oviec. Z analýzy jednotlivých aminokyselín však vyplýva, že prítomnosťou bentazónu v kŕmnej dávke oviec sa koncentrácia niektorých aminokyselín v proteínoch baktérií adherovaných na epitel ventrálnej a dorzálnej časti bachora signifikantne menila ($p < 0,05$). V oboch sledovaných topograficko-anatomických častiach bachora sa signifikantne zvýšila koncentrácia fenylalanínu a znížila koncentrácia alanínu a glycínu (obr. 1).

V našich predchádzajúcich prácach (L e g á t h a i., 1990a, b) pri sledovaní vplyvu extrémne nízkych dávok ortute (4 mg na kus a deň po dobu 28 dní) podávaných *per os* u oviec, na syntézu aminokyselín baktérií adherovaných na dorzálnu a ventrálnu časť bachora sme zaznamenali vzostup koncentrácií nasledovných aminokyselín: prolín, valín, izoleucín, tyrozín, lyzín a fenylalanín. Zároveň sme zistili pokles koncentrácií alanínu, histidínu, treonínu, serínu a glycínu. Zmeny v koncentrácií aminokyselín v hydrolyzátoch epimurálnych baktérií v uvedených dvoch topograficko-anatomických častiach bachora oviec po trojmesačnom skrmovaní bentazónu čs. výroby sú v prípade fenylalanínu, alanínu a glycínu totožné so zmenami vyvolanými skrmovaním diéty obsahujúcej nízke koncentrácie ortute. Z uvedených výsledkov dvoch popísaných experimentov vyplýva, že zmeny v zastúpení aminokyselín v proteínoch epimurálnych bachorových baktérií pri trojmesačnom

skrmovaní bentazónu nie sú tak výrazné čo do počtu, ako je to v prípade perorálneho príjmu extrémne nízkych koncentrácií ortute ovcami po dobu 28 dní.

Pesticídy môžu byť jedným z faktorov, ktoré negatívne ovplyvňujú biosyntetické procesy v bachore prežúvavcov. Avšak nevýznamné zmeny (oproti výsledkom pri skrmovaní extrémnych dávok ortute po dobu 28 dní) v zastúpení aminokyselín v proteínoch baktérií adherovaných na stenu bachora oviec pri skrmovaní 195 mg pesticídu bentazón na kg ž.h. po dobu troch mesiacov svedčia o tom, že pravdepodobne nebude výrazne narušená biosyntéza v bachore oviec (degradácia rastlinného materiálu, celulolytická aktivita, ureázová aktivita, trávenie odlupnutých epiteliálnych buniek bachora a i.), na čo nepriamo poukazujú rovnaké hmotnostné prírastky u pokusnej a kontrolnej skupiny zvierat v priebehu a po ukončení pokusu (kontrolná skupina - 5,0 kg a pokusná skupina - 4,9 kg). Z hore uvedených dôvodov sa pesticíd bentazón čs. výroby javí pri správnej agrotechnickej aplikácii ako bezpečný herbicíd vo vzťahu k nami študovanej problematike.

Podakovanie

Ďakujeme za technickú spoluprácu pani Beáte Kábrtovej.

Literatúra

BLACKBURN, T. H. - HULLAH, W. A.: The cellbound protease of *Bacteroides amylophilus* H 18. Can. J. Microbiol., 20, 1974, s. 435-441.

BRYANT, M. P.: Nutritional requirements of the predominant rumen cellulolytic bacteria. Fed. Proc., 32, 1973, s. 1809-1813.

COTTA, M. A. - RUSSELL, J. B.: Effect of peptides and amino acids of efficiency of rumen bacterial protein synthesis in continuous culture. J. Dairy Sci., 65, 1982, s. 226-234.

ESAU, K.: Plant anatomy. New York, Wiley Sons, 1965 s. 33-66.

HAGEMAISTER, H. - KAUFMAN, W.: Effect of dietary on utilize proteins or amino acids in intestines of dairy cows. Kieles Milchwirtsch. Forsch.-Ber., 26, 1974, s. 119-120.

HARRISON, O. G. - McALLAN, A. B.: Factors affecting microbial growth yields in the reticulo-rumen. In: RUCKEBUSCH, Y. - THIREND, P. (eds.): Digestive physiology and metabolism in ruminants. MTP Press Ltd. 1980, s. 205-226.

HAZELWOOD, G. P. - EDWARDS, R.: Proteolytic activities of a rumen bacterium, *Bacteroides ruminicola* R8/4. J. Gen. Microbiol., 125, 1981, s. 11-15.

CHENG, K. J. - COSTERTON, J. W.: Adherent rumen bacteria - their role in the digestion of plant material, urea and epithelial cells. In: RUCKEBUSCH, Y. - THIREND, P. (eds.): Digestive physiology and metabolism in ruminants. MTP Press Ltd., 1980, s. 227-250.

LEGÁTH, J.: Štúdium aminokyselín v hydrolyzátoch baktérií adherovaných na epitel bachora oviec za rôznych nutričných podmienok. [Kandidátska dizertácia.] Košice 1988. - Vysoká škola veterinárská.

LEGÁTH, J. - KAČMÁR, P. - TOMÁŠ, J.: Zmena koncentrácií v baktériách adherovaných na epitel bachora oviec po perorálnej záťaži organizmu extrémne nízkymi dávkami ortute. Veter. Med. (Praha), 35, 1990a, s. 657-665.

LEGÁTH, J. - TIMKOVIČOVÁ, M. - TOMÁŠ, J. - JAVORSKÝ, P. - BELÁK, M.: Elúcia baktérií adherovaných na epitel bachora oviec a ich elektrónovomikroskopický dôkaz. Veter. Med. (Praha), 35, 1990b, s. 397-402.

MACKIE, R. I. - BAHRS, P. G. - THERION, J. J.: Adaptation of rumen bacteria to sodium and monensin. Can. J. Anim. Sci., 64, 1984, s. 351-353.

- MAJAK, W. - CHENG, K. J.: Recent studies on ruminal metabolism of 3-nitropropanol in cattle. *Toxicon Suppl.*, 3, 1983, s. 265-268.
- MAJAK, W. - CHENG, K. J.: Cyanogenesis in bovine rumen fluid and pure cultures of rumen bacteria. *J. Anim. Sci.*, 59, 1984, s. 784-789.
- MATEI, C. H. - PLAYNE, M. J.: Production of volatile fatty acids from bagasse by rumen bacteria. *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, 20, 1984, s. 170-175.
- MEYER, J. - WOLLIN, M. J. - MILLER, T. L.: Interactions in cellulose fermentation. *Fed. Proc.*, 42, 1984, s. 109-113.
- RUSSELL, J. B.: Enrichment and isolation of rumen bacteria that reduce trans-aconitic acid to tricarballic acid. *Appl. Environ. Microbiol.*, 49, 1985, s. 120-126.
- RUSSELL, J. B. - BOTTJE, W. G. - COTTA, M. A.: Degradation of protein by mixed cultures of rumen bacteria: Identification of *Streptococcus bovis* as an actively proteolytic rumen bacterium. *J. Anim. Sci.*, 53, 1981, s. 242-252.
- RUSSELL, J. B. - JERACI, J. L.: Effect of carbon monoxide on fermentation of fiber, starch and amino acid by mixed rumen microorganisms *in vitro*. *Appl. Environ. Microbiol.*, 48, 1984, s. 211-217.
- YURUWITZ, E. C. - GHALAMBOR, M. A. - HEATH, E. C.: The structure of *Aerobacter aerogenes* capsular polysaccharide. *J. Biol. Chem.*, 246, 1971, s. 5596-5606.

Došlo dňa 12.2.1992

LEGÁTH, J. - SOKOL, J. - NEUSCHL, J. - KAČMÁR, P. - KOVÁČ, G. (University of Veterinary Medicine, Košice): *The effect of bentazone of Czechoslovak origin on the synthesis of bacterial proteins in the rumen of sheep*. *Veter. Med. (Praha)*, 37, 1992 (11) : 623-631.

The effect of the perorally ingested pesticide bentazone (195 mg.kg⁻¹) of Czechoslovak origin on the amino acid composition of proteins of bacteria adhering to the ventral and dorsal ruminal wall investigated in six sheep. Proteosynthesis of adherent bacteria was studied by a modified and quantified elution method (elution of bacteria by an isotonic buffered solution at 4 °C). By the latter, a concentrate of undamaged bacteria adhering to the sheep ruminal epithelium could be obtained. The yield of the method was estimated by scanning electron microscopy and it was 93.3% (Legáth et al., 1990). The high correlation coefficient ($r = 0.94$, $p < 0.01$) suggested that in comparison with the control group of sheep, bentazone in the diet did not have a marked effect on the amount of amino acids in hydrolyzates of bacteria adhering to the dorsal and ventral ruminal epithelium. From the analysis of the single amino acids, it however follows that bentazone in the feeding ration caused significant changes in the concentrations of some amino acids in the proteins of bacteria adhering to the epithelium in the ventral and dorsal part of the rumen ($p < 0.05$) (Tab. I, II). In both topographico-anatomical parts of the rumen phenylalanine levels significantly increased whereas those of alanine and glycine decreased (Fig. 1). Pesticides can be one of the factors that negatively affect the biosynthetic processes in the rumen of ruminants. But insignificant changes in the amounts of amino acids encountered in the proteins of bacteria adhering to the ovine ruminal wall during feeding of 195 mg bentazone per kg live weight for three months prove the probability of undisturbed biosynthesis

in the ovine rumen (degradation of herbage, cellulolytic activity, urease activity, digestion of exfoliative ruminal epithelial cells, etc.). Identical weight gains both in the experimental and control groups during the experiment and after its completion (control group 5.0 kg, experimental group 4.9 kg) (Tab. III) confirm the above statement. For the reasons given above, the pesticide bentazone of Czechoslovak origin, if properly applied, seems to be a safe herbicide.

sheep; rumen; adherent bacteria; amino acids; pesticide bentazone of Czechoslovak origin

Adresa autorov:

MVDr. Jaroslav L e g á t h , CSc., ing. Jozef S o k o l , MVDr. Jozef N e u s c h l , CSc., doc. MVDr. Peter K a č m á r , DrSc., doc. MVDr. Gabriel K o v á č , DrSc., Univerzita veterinárskeho lekárstva, Komenského 73, 041 81 Košice

ZAHAJUJETE ŘEŠENÍ NOVÉHO VÝZKUMNÉHO ÚKOLU?

**Potom budete zcela jistě potřebovat nejnovější domácí i zahraniční informace
o stavu vědy a výzkumu v oblasti, kterou se zabýváte.**

**Ústav vědeckotechnických informací pro zemědělství,
oddělení informačních systémů Vám nabízí:**

Rešerše z mezinárodního informačního systému AGRIS. Báze dat AGRIS obsahuje téměř 2 000 000 záznamů z oblasti zemědělství, potravinářství a lesnictví s retrospektivou od roku 1975.

Retrospektivní rešerše jsou zpracovávány z kompaktních disků. Při formulaci dotazu mohou být kromě tematického zaměření zohledněny i další specifické požadavky uživatele (jazyk dokumentu, autor, země původu ap.). Doba dodání rešerše je jeden týden po obdržení objednávky. V případě zájmu se uživatel může zpracování zúčastnit osobně a upřesňovat v průběhu vyhledávání svůj dotaz. Rešerše jsou dodávány tištěné nebo na disketách.

Průběžné rešerše jsou zpracovávány na základě trvalé objednávky a pečlivě odladěného dotazu. Na požádání uživatelů je možné provádět v zadání potřebné změny. Rešerše jsou dodávány uživatelům jednou měsíčně v tištěné formě.

Rešerše ze zahraničníchází dat. Nabízíme zpracování retrospektivních rešerší z více než 500ází dat, uložených v databázových centrech v Evropě i v USA. Databázová centra zpřístupňují dokumentografické i faktografické informace, statistické a ekonomické údaje a informace o zahraničních firmách. Rešerše jsou dodávány tištěné nebo na disketách.

Veškeré informace Vám poskytneme a Vaše objednávky přijmeme:

**Ústav vědeckotechnických informací pro zemědělství
oddělení informačních systémů
120 56 Praha 2, Slezská 7
(metro A, stanice nám. Míru)**

**tel.: 25 14 21, 25 74 75, 25 75 41/274, 276, 340
fax: 25 70 90**

PROTILÁTKY PROTI ARBOVIRŮM U LOVNÉ ZVĚŘE ODCHYCNÉ NA MORAVĚ

Z. Juřicová

JUŘICOVÁ, Z. (Ústav systematické a ekologické biologie ČSAV, Brno): *Protilátky proti arbovirům u lovné zvěře odchycené na Moravě*. Veter. Med. (Praha), 37, 1992 (11) 633-636.

Metodou HIT byla vyšetřena krevní séra lovné zvěře z Moravy (smec, jelen evropský, daněk evropský, muflon, prase divoké, zajíc polní) na přítomnost protilátek proti arbovirům skupiny Alfavirus (Sindbis - SIN), Flavivirus (West Nile - WN), klíšťová encefalitida - TBE) a Bunyamwera (Ťahyňa - TAH, Čalovo - CVO). Protilátky byly zjištěny proti všem zkoumaným virům v různé frekvenci: SIN 0,9%, WN 16,9%, TAH 41,5%, CVO 23,1% a TBE 8,5%.

lovná zvěř; arbovirus; Sindbis; West Nile; Ťahyňa; Čalovo; klíšťová encefalitida; sérologický průzkum; hemaglutinačně-inhibiční test

Arboviry se v přírodě udržují biologickým přenosem z členovců na savce. Předpokládá se, že i lovná zvěř může být zapojena do tohoto cyklu jako příležitostný hostitel. Na Slovensku byly nalezeny protilátky proti arbovirům Sindbis, West-Nile, Ťahyňa, Čalovo a klíšťová encefalitida u smce, daňky evropského, jelena evropského, muflona, prasete divokého a zajíce polního (K o ť a h a j., 1976).

Cílem práce bylo zjistit, jaký je rozsah kontaktu lovné zvěře s arboviry na území Moravy.

MATERIÁL A METODY

Krev sudokopytníků (smec, daněk evropský, muflon, jelen evropský, prase divoké) byla získána při povolených odstřelech na okrese Břeclav a Znojmo během května až září 1990. Odběr byl prováděn kardiální punkcí nebo přímo z hrudní dutiny ihned po odstřelu. Krev zajíců byla odebírána během zimních honů v prosinci 1990 na okrese Brno venkov a Žďár nad Sázavou. Odběr byl proveden kardiální punkcí bezprostředně po odstřelu. Séra byla až do doby vyšetření uložena při teplotě - 20 °C.

Sérologické vyšetření bylo zaměřeno na průkaz protilátek proti arbovirům SIN, WN, TAH, CVO a TBE. Séra byla testována v hemaglutinačně-inhibičním testu (HIT). Nativní séra byla extrahována acetonem a vysycena houseřmi erytrocyty. Test byl proveden podle standardní

metody (Clarková a Casals, 1958) na mikroplatničkách. Antigen viru TBE byl komerční, antigeny viru SIN, WN, TAH a CVO byly připraveny sacharózoacetonovou extrakcí mozků infikovaných sajících myší podle Clarkové a Casalse (1958). V testu byly použity čtyři hemaglutinační jednotky. Za pozitivní byly považovány titry 1:20 a vyšší.

VÝSLEDKY A DISKUSE

V HIT bylo vyšetřeno 118 kusů lovné zvěře. Z toho bylo 70 sudokopytníků: 33 srnců (*Capreolus capreolus*), 4 daňci (*Dama dama*), 2 mufloni (*Ovis musimon*), 7 jelenů evropských (*Cervus elaphus*) a 24 prasat divokých (*Sus scrofa*). Zajíců polních (*Lepus europaeus*) bylo 48. Výsledky vyšetření jsou shrnuty v tab. I. Sérologicky byly detegovány protilátky proti všem použitým virům, a to v různé frekvenci.

I. HI protilátky proti arbovirům v sérech lovné zvěře odchycené v roce 1990 na Moravě - HI antibodies to arboviruses in serums of the game caught in the Moravian in 1990

Virus ¹	<i>Capreolus capreolus</i>	<i>Dama dama</i>	<i>Ovis musimon</i>	<i>Cervus elaphus</i>	<i>Sus scrofa</i>	<i>Lepus europeaus</i>	Celkem ²	Procento pozitivních ³
SIN	1/33	0/4	0/2	0/7	0/24	0/37	1/107	0,9
WN	7/33	1/4	0/2	0/7	4/24	8/48	20/118	16,9
TAH	15/33	1/4	0/2	2/7	10/24	21/48	49/118	41,5
CVO	8/33	1/4	1/2	2/7	8/24	5/38	25/108	23,1
TBE	7/33	0/4	0/2	0/7	2/24	1/48	10/118	8,5

Poznámka: počet pozitivních/počet vyšetřených sér - Note: Number of positive serums/number of examined serums

¹virus; ²total; ³percentage of positive findings

Všichni sudokopytníci i zajíci byli infikováni virem Ťahyňa (s výjimkou muflona, kde byly vyšetřeny pouze 2 vzorky). Promořenost tímto virem byla téměř stejně vysoká u srnců (45,4 %), prasat (41,7 %) i zajíců (43,7 %). Výsledky se dají srovnat s pozorováním A s p ö c k a a K u n z e (1971) ze sousedního Rakouska, kde zjistili pozitivitu u divokých prasat (1 ze 4 kusů) a srnců (4 z 10 kusů) a K o ž u c h a j. (1976), kteří zjistili na Slovensku v Záhorské nížině pozitivitu u 28,9 % divokých prasat a u 15 % zajíců.

Virem CVO byli více promořeni sudokopytníci než zajíci. Nejvyšší pozitivita byla u divokých prasat (33,3 %) a srnců (24,2 %), zatímco u zajíců byla jen 13,2 %. Jak zjistili K o ž u c h a j. (1976) byla prevalence protilátek proti tomuto viru v Záhorské nížině menší, u prasat divokých 5,3 %, u srnců 6,2 % a u zajíců 0,8 %.

Virem WN byli promořeni přibližně stejně srnci (21 %), prasata (16,7 %) i zajíci (16,7 %). Zjištěná pozitivita v Záhorské nížině byla menší - 2 % (K o ž u c h a j., 1976). Tato skutečnost může být způsobena rozdílnou hustotou specifického vektoru, komárů rodu *Culex* (G r e š í k o v á a N o s e k, 1981) nebo *Aedes cantans* (L a b u d a aj., 1974), v dané oblasti.

Incidence protilátek proti viru TBE byla vyšší u srnců (21,2 %) a prasat (8,3 %) než u zajíců (2,1 %), což je v souladu s jejich způsobem života. Výsledek však jasně poukazuje na kontakt lovné zvěře s virem TBE během aktivity klíšťat. V Záhorské nížině, která

představuje známou oblast distribuce TBE viru, zjistili Kožuch aj. (1976) vyšší procento promořenosti u sudokopytníků (32,3 - 37,5 %) než u zajíců (3,5 %).

Cirkulaci viru SIN jsme ve vyšetřované oblasti zjistili jen u srnců (3 %). Srnec se tedy zdá být důležitým indikátorem viru SIN v této oblasti, i když nebude postačujícím zdrojem infekce pro komáry. Kožuch aj. (1976) zjistili u srnců v Záhorské nížině vyšší infikovanost virem SIN - 15,1 %, ale u zajíců pouze 2,2 %.

Výsledky sérologických vyšetření ukázaly, že lovná zvěř byla poměrně často infikována zejména virem TAH, CVO, WN a TBE. Jednalo se pravděpodobně o inaparentní infekce.

Významné však je, že infikovaná zvířata mohou napomáhat cirkulaci virů v této oblasti a diseminaci přenašečů do jiných oblastí. Při přímém styku divoce žijících zvířat s hospodářskými a při existenci společných přenašečů infekce se může uskutečnit přenos tohoto agens mezi jednotlivými skupinami. Na druhé straně člověk při své hospodářské činnosti v krajině přichází do styku s rezervoárovými živočichy i s přenašeči, a tím se zvyšuje riziko jeho infekce.

Zmíněná hlediska jsou proto významná pro posuzování potenciálního nebezpečí výskytu nálezů arbovirů.

Poděkování

Děkuji MVDr. Š. Svobodové a RNDr. M. Pejčochovi za poskytnutí sér lovné zvěře a D. Serbajlové za technickou asistenci.

Literatura

ASPÖCK, H. - KUNZ, CH.: Antikörper gegen Tahyna Virus und Calovo Virus in wildlebenden und domestizierten Säugetieren in östlichen Neusiedlersee-Gebiet (Ost-Österreich). Zbl. Bakt., Abt. I. Orig., 216, 1971, s. 435-440.

CLARKE, D. H. - CASALS, J.: Techniques for hemagglutination and hemagglutination-inhibition test with arthropod-borne viruses. Amer. J. trop. Med. Hyg., 7, 1958, s. 561-573.

GREŠÍKOVÁ, M. - NOSEK, J.: Arboviruses in Czechoslovakia. Bratislava, Veda 1981, s. 132.

KOŽUCH, O. - NOSEK, J. - GREŠÍKOVÁ, M. - ERNEK, E.: Surveillance on mosquito-borne natural focus in Záhorská lowland. In: 2. Int. Arbeitskolloquium über Naturherde von Infektionskrankheiten in Zentraleuropa. Graz, Hygiene. Instit. der Universität, 1976, s. 115-118.

LABUDA, M. - KOŽUCH, O. - GREŠÍKOVÁ, M.: Isolation of West Nile virus from *Aedes cantans* mosquitoes in West Slovakia. Acta virol., 18, 1974, s. 429-433.

Došlo dne 3.2.1992

JUŘICOVÁ, Z. (Institute of Systematic and Ecological Biology, Czechoslovak Academy of Sciences, Brno): *Antibodies to arboviruses in the game caught in Moravia*. Veter. Med. (Praha), 37, 1992 (11): 633-636.

The HIT method was used to examine blood serums of the game in Moravia (roe buck, red deer, fallow deer, mouflon, wild boar, brown hare) for the presence of antibodies to arboviruses of these groups: alphavirus (Sindbis-SIN), flavivirus (West Nile-WN), tick-borne encephalitis (TBE) and Bunyamwera (Tahyňa-TAH, Čalovo-CVO). Antibodies to all viruses were detected, and namely in these frequencies: SIN 0.9 %, WN 16.9 %, TAH 41.5 %, CVO 23.1 % and TBE 8.5 %.

game; Sindbis; West Nile; Tahyňa; Čalovo; tick-borne encephalitis; serological survey; hemagglutination-inhibition test

Adresa autorky:

RNDr. Zina Juřicová, CSc., Ústav systematické a ekologické biologie ČSAV, Květná 8, 603 65 Brno

POKYNY PRO AUTORY VĚDECKÉHO ČASOPISU VETERINÁRNÍ MEDICÍNA

Časopis Veterinární medicína uveřejňuje původní práce, recenze apod.

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

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

Je třeba, aby autoři přesně dodržovali tyto pokyny:

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

Technická úprava rukopisu

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

Úprava vlastní práce

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

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

Souhrn

Vypracování souhrnu je nutné věnovat obzvláštní péči. Autor do něho má 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 přeložený do angličtiny. Souhrn začíná jménem autorů, názvem pracoviště a jeho sídlem (v závorce), titulem článku a citací: Veter. Med. (Praha), 00, 1990. Místa označená nulami doplní na kompletní citaci při korektuře redakce.

Klíčová slova (Key words, index terms)

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

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

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

Úvod

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

Materiál a metody

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

Výsledky

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

Diskuse

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

Poděkování

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

Literatura

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

Literatura musí odpovídat ČSN 01 0197.

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

Adresa autora

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

Upozornění pro přispěvatele časopisu Veterinární medicína

V rámci modernizace výroby přechází naše redakce na vydávání časopisu pomocí DTP. Autory, kteří chtějí publikovat svoje příspěvky v časopise Veterinární medicína a mají možnost je pořizovat na PC, proto žádáme, aby texty příspěvků posílali současně s disketou. Po zkopírování textu bude disketa vrácena zpět autorům.

Po zpracování textu pomocí DTP je pro nás nejvhodnější textový editor T602. Pokud používáte jiný editor, prosíme o převedení do souboru v ASCII kódu. Obrázky pořizované počítačem je možno publikovat přímo, pokud jsou v souboru .TIF.

Pořizování příspěvků na PC není podmínkou pro přijetí do tisku, to znamená, že redakce bude i nadále přijímat příspěvky pořizované na psacím stroji.

Doufáme, že toto opatření se u autorů setká s příznivým ohlasem.

Redakce časopisu



**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.: 258 342 fax.: 207 229



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 257541 ● Sazba a tisk ÚVTIZ Praha ● © Ústav vědeckotechnických informací pro zemědělství, Praha 1992

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