

ÚSTAV ZEMĚDĚLSKÝCH A POTRAVINÁŘSKÝCH
INFORMACÍ

VETERINÁRNÍ MEDICÍNA

3

ROČNÍK 38 (LXVI)
PRAHA 1993
CS ISSN 0375-8427

ČESKÁ AKADEMIE ZEMĚDĚLSKÝCH VĚD
SLOVENSKÁ AKADEMIA PÔDOHOSPODÁRSKYCH VIED

The journal publishes experimental papers and reviews from all spheres of veterinary medicine

The contents of all editions and paper summaries are covered by Current Contents - Agriculture, Biology and Environmental Sciences

Editorial Board - Redakční rada

Prof. MVDr. Jan Bouda, DrSc., University of Veterinary and Pharmaceutical Sciences, Brno, Czech Republic

Prof. MVDr. Bohumír Hofírek, DrSc., University of Veterinary and Pharmaceutical Sciences, Brno, Czech Republic

Prof. MVDr. Karel Hruška, CSc., (Chairman), Veterinary Research Institute, Brno, Czech Republic

Doc. MVDr. Gabriel Kováč, DrSc., University of Veterinary Medicine, Košice, Slovak Republic

Doc. MVDr. Imrich Maraček, DrSc., Research Institute of Experimental Veterinary Medicine, Košice, Slovak Republic

Doc. MVDr. Zdeněk Pospíšil, CSc., University of Veterinary and Pharmaceutical Sciences, Brno, Czech Republic

Doc. MVDr. Ivan Rosival, CSc., Research Institute of Experimental Veterinary Medicine, Košice, Slovak Republic

Prof. MVDr. Bohumil Ševčík, DrSc., Research Institute of Feed Supplements and Veterinary Drugs, Jilové u Prahy, Czech Republic

Editor in Chief - Vedoucí redaktorka

Ing. Zdenka Radošová

AVERAGE TESTOSTERONE LEVELS IN BULLS AFTER GnRH STIMULATION AT BREEDER BULL REARING STATIONS AND A. I. STATIONS

A. Kozdera, Z. Věžník, L. Ryšavá

Veterinary Research Institute, Brno

Base average testosterone levels and testosterone levels in 60 and 90 min after GnRH administration were determined in bulls at five breeder bull rearing stations at their age of 13 months and at nine A. I. stations at their age of 17 - 34 months. Significant increases in testosterone levels in 60 and 90 min after GnRH administration were the responses of all groups of bulls. There were differences between the average testosterone levels typical of the various BRSs and AISs. Highly significant correlation coefficients 0.344 for base levels and 0.583 for induced levels were calculated from a comparison of the testosterone levels determined at BRSs at the bull's age of 13 months and of those recorded after a six-month stay of the same bulls at AISs. A decrease in testosterone levels was also observed.

bull; testosterone; GnRH; breeder bull rearing station; A. I. station for bulls

The boom of artificial insemination enhanced the importance of the breeder bull as a producer of high-quality semen, which is able to cover many times higher numbers of cows through insemination doses than in conventional breeding. The effect of breeder bull, either the positive or the negative one, has ultimately increased.

Worsening environmental conditions, extraneous matter contamination, organizational problems, exercise restriction, low-quality nutrition and high performance as a permanent load distort the homeostatic equilibrium of breeder cows. Hence the breeder bull should guarantee not only high performance, but it should guarantee particularly good health, that means homeostasis of internal environment, regular fertility and good adaptation fitness (Věžník et al., 1989).

These reasons illustrate that it is necessary for better shaping of breeder bull selection criteria to improve not only the methods of qualitative semen examination but also the estimate of testis secretory activity and to provide for the steady function of the hypothalamus - hypophysis - testis axis.

Thibier (1976) describes fast and short episodic secretion of testosterone with diurnal variation of its level in the range of several ng/ml. Hence it follows that the single determination of testosterone level in the peripheral blood circulation is not sufficient to evaluate the secretory activity of the sire's testicles. Miyamoto et al. (1989) used repeated blood collections from one or several animals within a certain time interval to determine average testosterone levels. Kozumplík (1981) prac-

tised single determinations in a large number of animals in about the same part of the day.

New opportunities of evaluating the function of the hypothalamus - hypophysis - testis axis and endocrine activity of testicles have arisen from the intravital stimulation of maximum testosterone secretion through GnRH administration. Clay et al. (1989) reported on an increase in testosterone levels in peripheral blood after GnRH administration in stallions, Navrátil, Forejtek (1979) reported on similar observations in boars and Schanbacher, Echternkamp (1978) in bulls.

Post et al. (1987a) obtained high repeatability of testosterone levels recorded after GnRH administration to bulls in six tests with ten-day breaks. Classification of bulls according to testosterone responses to GnRH stimulation was in agreement with the grouping of bulls according to libido and fertilizing ability; the authors recommend this test as a useful prediction of bull fertility. Mackinnon et al. (1991) determined the heritability coefficient of testosterone response after GnRH administration to reach the values of 0.42 and 0.55 at the bull's age of nine months and 18 months, respectively. They also discussed a possibility of employing this test as an indirect selection criterion for herd fertility improvement.

The objective of this paper was to determine differences (if any) between the testosterone levels recorded at different breeder bull rearing stations and different A. I. stations for bulls. We wanted to verify whether the recorded average testosterone levels for one breeder bull rearing station would not change within several months. We also wanted to know the repeatability of testosterone response to GnRH stimulation in a test performed at the bull's age of 13 months and later on at the age of 17 - 25 months.

MATERIAL AND METHODS

Experimental animals and test description

Bulls of these breeds were included in this test: Bohemian Pied (B) and its cross-breeds with Ayrshire (A), Red Holstein (R), Red Pied Lowland (L) and Red Friesian (F). The bulls were chosen randomly during auctions at five breeder bull rearing stations (BRS: A, B, C, D, E) at the age of 13 months. Following this choice, they were included in observations at nine A. I. stations for bulls (AIS: 1 - 9) at the age of 17 to 34 months.

A total of 113 bulls from BRSs were included in the experiment in 1989 - 1991. GnRH was administered experimentally at 12 to 13 months of age at the time of their choice.

Ninety-three bulls were administered GnRH experimentally at AISs at the age of 17 to 25 months.

The average levels of serum testosterone recorded after GnRH administration to bulls were compared for all breeder bull's rearing stations (BRS A-E).

Two groups of 13-month-old bulls (33 and 31 head) were administered GnRH experimentally at BRSs within five-month interval in 1991 to determine the repeatability of average testosterone levels recorded at a given rearing station.

The testosterone levels recorded in sixty minutes after GnRH administration in 45 bulls at BRSs were compared with the induced testosterone levels observed in the same bulls at AISs to determine possibilities of prediction of the incretory function in breeder bulls.

The average levels of serum testosterone recorded after GnRH administration were compared for all AISs in the years 1990 - 1991 (AIS 1 - 9).

GnRH stimulation

I. v. injections of 500 µg of synthetic GnRH (Dirigestan Spofa inj. ad us. vet.) pro toto were used to determine the bull's testicle testosterone increment after GnRH stimulation. Blood samples were collected before administration and in sixty minutes after administration (Věžík et al., 1989). As Dirigestan production was terminated, the preparation has been replaced since 1990 by a GnRH superanalogue with protracted effects (Supergestran Spofa inj. ad us. vet.) at a dose of 50 µg pro toto *i. v.* The interval of blood collection was prolonged to ninety minutes after administration (Kozderá, 1991).

Blood collection and treatment

The blood was collected from *v. jugularis*, after cooling it was treated in a cooled centrifuge at 4 °C, 2,000 G, for 30 minutes. The serum was deep-frozen at -18 °C till the testosterone analysis was performed.

Testosterone analysis

A testosterone radioimmunoassay was used. An amount of 300 µl rabbit antibody, diluted 10,000 times and prepared in this institute, and 300 µl 125-I-testosterone (Košice) was added to 10 µl of the sample. The mixture was incubated at a temperature of 4 °C until the other day. An amount of 100 µl of 2% BGG (bovine gamma-globulin) and 1000 µl polyethylene glycol was added to this mixture to provide for the separation of free and bound activity. The supernatant was poured off and the sediment activity was measured on an JNG 402 multidetection analyzer (Košice). The whole analysis was performed in triplicates. The data on this analysis were processed in a PC/AT computer by the programme „RIA - radioimmunoassay data evaluation“ (Matoušek et al., 1991).

Parameters of the analysis: total activity per 1 min (CPM) about 20,000 impulses, nonspecific bond (NSB) 13.9 ± 1.31 %, specific bond (bond in 0 standard, BO) 54.3 ± 7.08 %, correlation 0.9921 ± 0.0057 , in all cases higher than 0.9833, sensitivity 0.21 ± 0.04 ng/ml, interassay coefficient 20.84 %, intraassay coefficient 15.24 %.

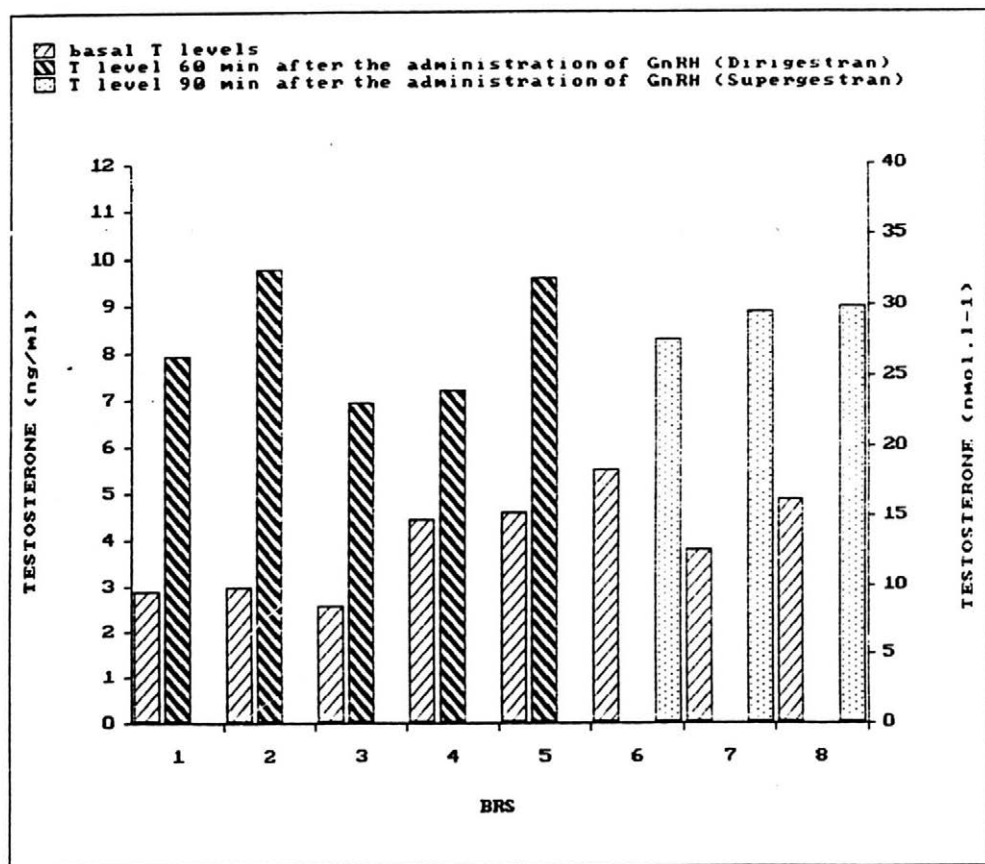
Result evaluation

The mathematico-statistical evaluation of data was performed in a PC/AT computer using the programme Microsoft WORKS v.2.00. for database creation for all investigated parameters and the programme STATISTIKA v.2.00 (Matoušek et al., 1990) to evaluate means, to calculate frequencies, correlation and

regression analyses, analysis of variance, Scheffé test and to represent the results graphically.

RESULTS

Fig. 1 shows and Tab. I characterizes the average base levels of serum testosterone and the levels recorded in 60, and/or 90 minutes after GnRH administration at breeder bull rearing stations A-E. Fig. 1 illustrates that the highly significant increase in testosterone levels was a general response observed in all sets of bulls from all breeder bull rearing stations after GnRH administration. The average rate of response seems to be not depend on the average base levels. The differences in the average testosterone levels after GnRH administration between the different BRSS were significant only for BRSS C and D in relation to BRS E 1989.



1. Average testosterone (T) levels in 13-month-old bulls at the breeder bull rearing stations (BRS): 1 - Bludovecek BRS, 2 - Homole BRS, 3 - Hosticky BRS, 4 - Peskov BRS 1989, 5 - Osik BRS 1989, 6 - Peskov BRS 1991, 7 - Osik BRS 1991 1., 8 - Osik BRS 1991 2.

I. Average testosterone levels in 13-month-old bulls at BRS in 1989 - 1991

	BRS A Bludoveček	BRS B Homole	BRS C Hoštičky	BRS D Peškov 1989	BRS E Osík 1989	BRS D Peškov 1991	BRS E Osík 1991 1.	BRS E Osík 1991 2.
Basal level								
Number	20	6	16	23	30	18	33	31
Average (ng/ml)	2.87	2.95	2.53	4.42	4.55	5.49	3.74	4.83
Standard deviation	3.01	3.33	2.66	3.55	4.80	3.39	3.22	4.12
Coefficient of variation	104.83	112.96	104.92	80.34	105.60	61.72	86.22	85.37
Maximum	9.45	7.89	7.40	13.88	19.92	12.60	10.80	17.91
Minimum	0.22	0.00	0.00	0.00	0.00	0.54	0.31	0.29
60 min after administration GnRH								
Number	20	6	16	24	30			
Average (ng/ml)	7.91	9.76	6.92	7.19	9.54			
Standard deviation	2.18	4.28	2.41	2.90	5.18			
Coefficient of variation	27.56	43.92	34.88	40.30	54.35			
Maximum	11.95	15.61	11.51	12.60	24.87			
Minimum	4.68	3.53	2.79	2.75	1.66			
90 min after administration GnRH								
Number						18	33	31
Average (ng/ml)						8.25	8.33	8.93
Standard deviation						2.03	3.75	3.41
Coefficient of variation						24.61	42.55	38.17
Maximum						13.00	18.69	16.22
Minimum						4.25	3.08	4.37

A comparison of the average testosterone levels for the groups BRS E 1991 1 and 2, that means for two different groups of bulls stimulated in the 1991 spring and summer at BRS E, documents that the average levels in 90 min after GnRH administration are in fact identical.

In the total investigated set of 82 bulls at the age of 13 months from BRSs in 1991, no bull had a negative response (0 - 3 ng/ml) to GnRH administration in 90 minutes, weak responses (3 - 5 ng/ml) were observed in 4.9 % of bulls, good responses (5 - 14 ng/ml) in 87.8 % of bulls and intense responses (> 14 ng/ml) in 7.3 % of bulls.

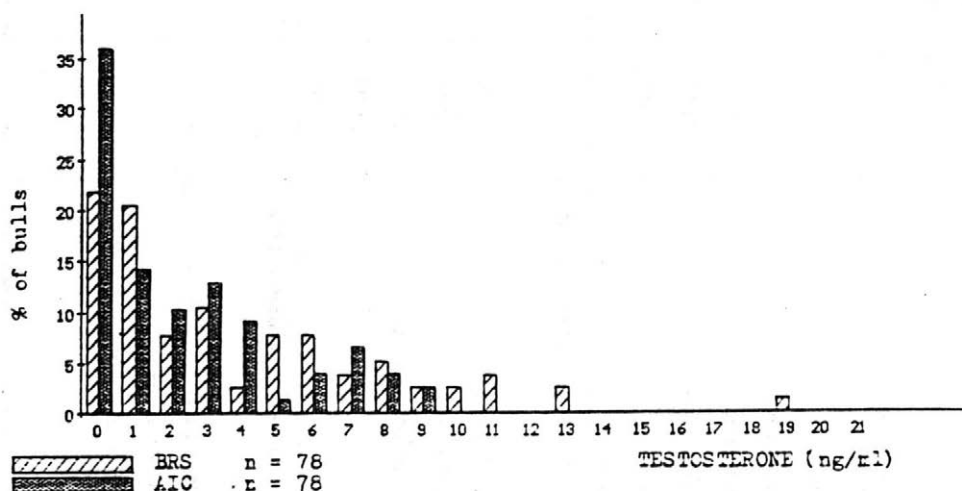
Correlations of base testosterone levels recorded at BRSs and AISs were demonstrated, the coefficient being 0.344 ($n = 78$, $T = 3.1938$, $P < 0.01$), but the value variance was great.

A comparison of the base testosterone levels determined in 13-month-old bulls at BRSs with the base levels determined in the same bulls after their six-month stay at AISs (Fig. 2) indicates a shift of the base testosterone levels in older bulls toward lower values.

A comparison of testosterone levels recorded in 60 min after GnRH administration resulted in the higher correlation coefficient 0.583 ($n = 45$, $T = 4.7054$, $P < 0.01$) with the smaller value variance (Fig. 3).

Fig. 4 documents a shift of testosterone levels after six-month stay at AISs toward lower values even after GnRH administration.

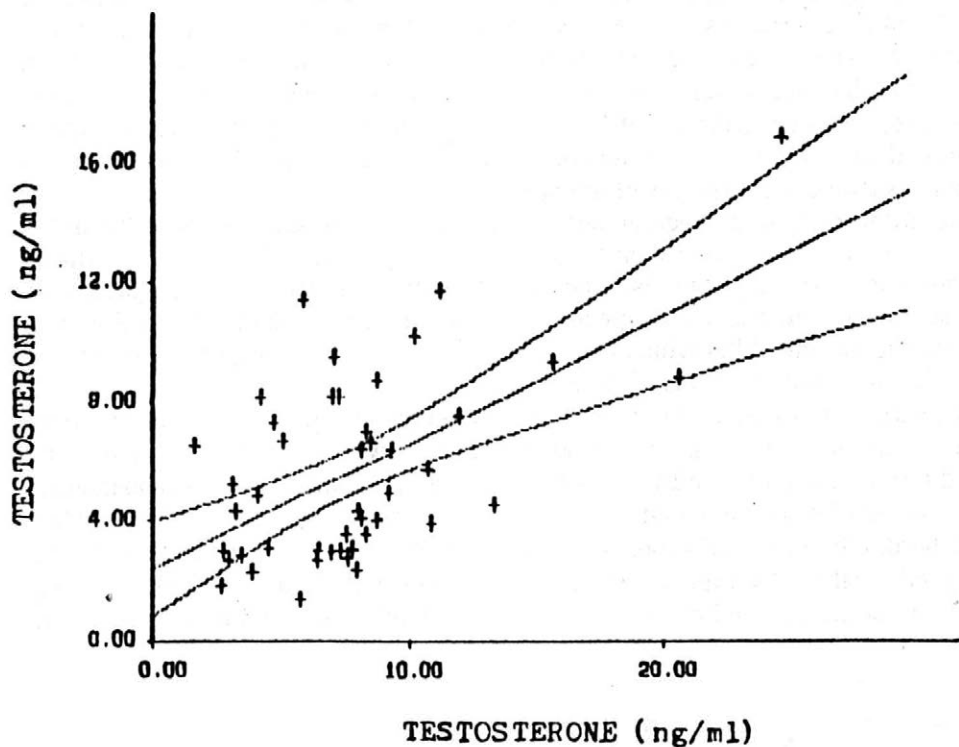
Fig. 5 shows and Tab. II characterizes in detail the resultant average testosterone levels before and after GnRH administration at all AISs 1 - 9. The results illustrate the differences between the stations both in base testosterone levels and in testosterone levels after GnRH administration. In the group evaluated in 90 minutes after GnRH administration there were significant differences ($P < 0.05$) in testosterone



2. Comparison of basal testosterone levels in 13-month-old bulls at BRS with those obtained from 17 to 25-month-old bulls at AIS

levels for AIS 3 x 6, 6 x 7; highly significant differences ($P < 0.01$) for AIS 1 x 6, 4 x 6 (Fig. 5).

3. Relation between the testosterone levels in 13-month-old bulls at BRS 60 min after stimulation with GnRH and those obtained from 17 to 25-month-old bulls at AIS



	Explanatory variable (X)	Effect variable (Y)
Number	45	45
Average	7.844	5.684
Standard deviation	4.421	3.165

Correlation coefficient	0.583
Degrees of freedom	43
Regression coefficients	B (0) = 2.410
	B (1) = 0.417

X 13-month-old bulls
Y 17 - 25-month-old bulls

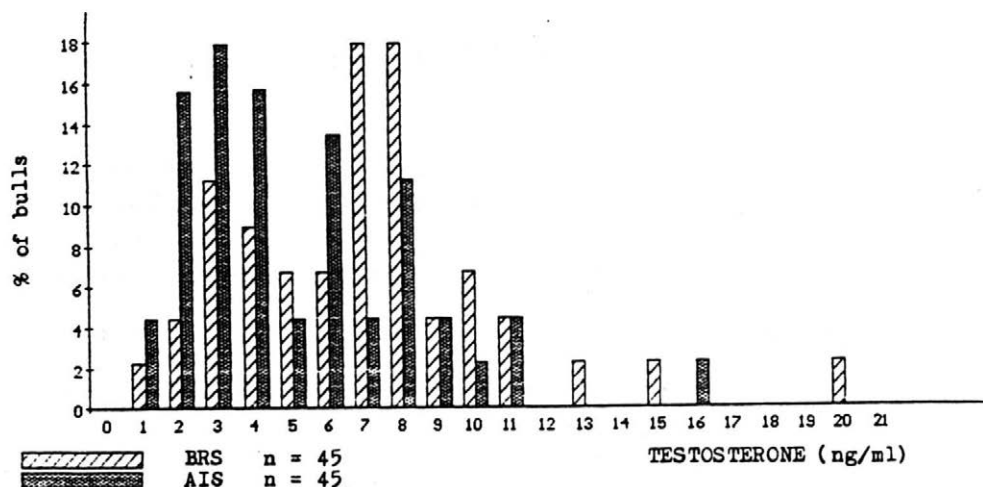
DISCUSSION

Demonstrated significant increases in testosterone levels after GnRH administration are in agreement with the observations mentioned by Post et al. (1987a,b) and Schanbacher, Echtenkamp (1978).

The comparison of average testosterone levels determined at all breeder bull rearing stations revealed some differences in the rate of response to GnRH administration (Fig. 1). Such differences were demonstrated in three cases at a significance level. Identical responses observed for different groups of bulls at the Osík BRS within several months confirm an assumption that the rate of response to GnRH administration may be taken as typical of a given breeder bull rearing station, while respecting animal individuality, in the identical conditions, within a definite time interval and for a sufficiently large set of animals.

The differences in the average testosterone levels determined for all AISs in the years 1990 - 1991 are larger than those in the average levels determined for BRSs. The bull's individuality may also play its role as the numbers of investigated bulls were smaller in some cases. Respecting this fact, there were significant differences between the various AISs which can characterize the bulls of a given station in regard of their endocrine sexual function.

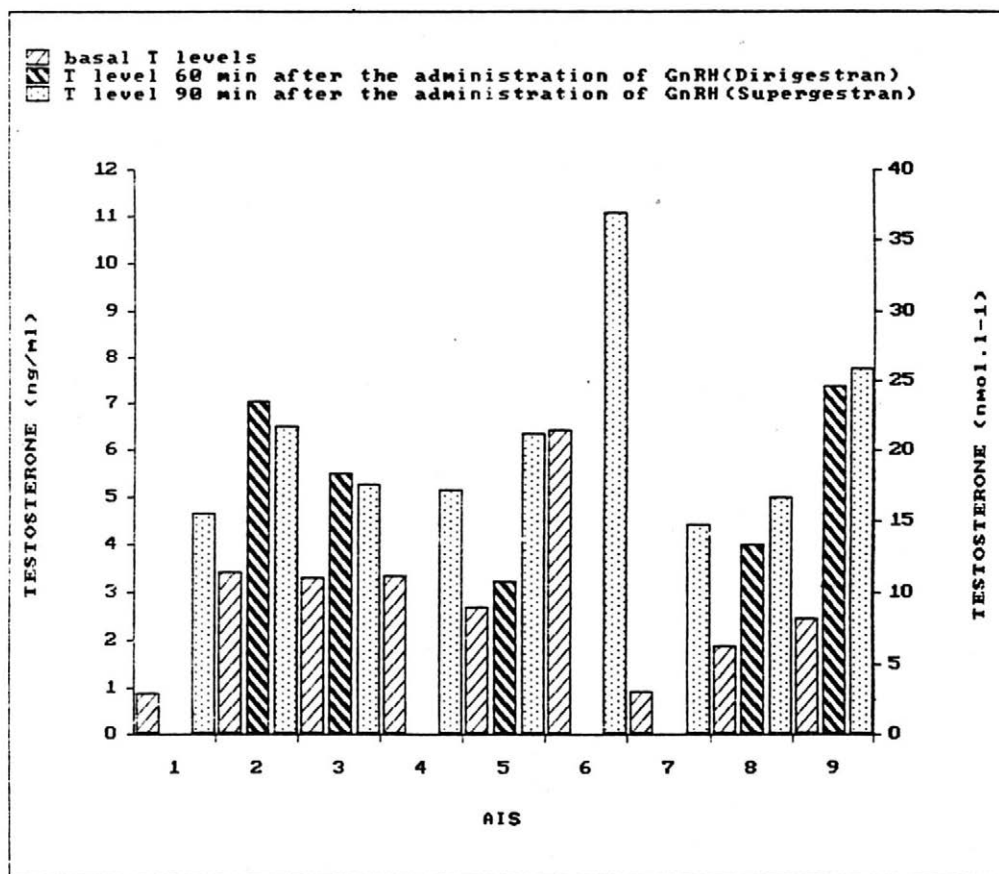
The variation of base and induced levels is likely to be given by a wide spectrum of factors influencing the individual animal and the whole population at a locality. In addition to the bull's individuality, these factors include different management conditions, station location, climatic effects, nutrition, various loads, health condition of the herd, ethological relations in the herd, and the rate of environment pollution at a given locality. Average levels of sex hormones will fluctuate in linkage to any change in the living conditions of the given set of animals, and due to diurnal vari-



4. Comparison of testosterone levels 60 min after stimulation with GnRH in 13-month-old at BRS and those from 17 to 25-month-old bulls at AIS

ations of testosterone levels and as a result of individual responses to GnRH administration these levels will not even be identical for one rearing station (Věžík, Kozdera, 1990).

The results of bulls' responses after GnRH administration at BRSs were compared with those of testicle responses to the same treatment in the identical group of bulls after their six- to eight-month stay on AISs to determine the possibilities of prediction of the bull breeder increment function in practical conditions. Two typical traits were determined as expected by the base level comparison. A highly significant correlation coefficient reaching the value 0.344 was calculated, and the value variance was found to be high. The variance resulted from the natural variation of testosterone levels and from the demonstrated age shift in testosterone levels (Fig. 2). The positive correlation coefficient of the value 0.583, calculated from a comparison of induced testosterone levels, documents certain stability of responses to GnRH stimulation in the period of observation even though an age shift of these levels



5. Average testosterone levels obtained from AIS bulls; 1 - Brna AIS, 2 - Trebon AIS, 3 - Pomezí AIS, 4 - Mor. Krumlov AIS, 5 - Kolicin AIS, 6 - Homole AIS, 7 - Grygov AIS, 8 - Zasmuky AIS, 9 - Zábreh AIS

II. Average testosterone levels obtained from AIS bulls in 1989 - 1991

	AIS 1 Brná	AIS 2 Třeboň	AIS 3 Pomezí	AIS 4 Mor	AIS 5 Krumlov	AIS 6 Količín	AIS 7 Homole	AIS 8 Grygov	AIS 9 Zásmuky
Basal level									
Number	8	12	14	10	8	9	6	9	17
Average (ng/ml)	0.88	3.40	3.27	3.34	2.68	6.41	0.90	1.86	2.45
Standard deviation	1.13	2.99	3.28	3.01	2.07	3.18	0.83	1.82	1.79
Coefficient of variation	128.77	87.92	100.17	90.19	77.46	49.64	91.21	97.93	72.85
Maximum	3.05	9.80	9.94	8.31	6.87	13.72	2.39	4.70	7.28
Minimum	0.00	0.30	0.00	0.00	0.00	3.63	0.09	0.18	0.51
60 min after administration GnRH									
Number		4	14		4			4	7
Average (ng/ml)		7.03	5.47		3.20			3.98	7.36
Standard deviation		2.65	3.62		0.83			1.66	2.35
Coefficient of variation		37.78	66.12		26.01			41.74	31.89
Maximum		8.68	16.72		4.35			6.43	11.35
Minimum		3.06	2.72		2.35			2.90	4.68
90 min after administration GnRH									
Number	8	8	10	10	4	7	6	5	10
Average (ng/ml)	4.62	6.47	5.25	5.12	6.32	11.07	4.42	4.99	7.75
Standard deviation	1.84	2.00	1.91	2.03	1.99	3.55	1.32	0.83	3.63
Coefficient of variation	39.85	30.98	36.37	39.65	31.50	32.11	29.94	16.72	46.83
Maximum	8.60	8.55	7.84	8.47	7.79	17.63	6.34	5.95	14.30
Minimum	2.68	2.52	2.72	2.91	3.47	7.86	2.64	4.17	4.42

toward lower values was observed (Fig. 4). Secchiari et al. (1976) recorded a similar decrease in the base testosterone levels in bulls after the onset of puberty, while Wildes et al. (1984) reported on such a decrease in zebu crossbreds at their age of 16 - 17 months. The reasons of this decrease have not yet been fully elucidated.

The results of our tests document that GnRH administration can be used to determine the level of the endocrine testicular function of bulls at BRSs at their age of 13 months. An examination of bulls at a rearing station or A. I. station can provide data on the endocrine activity of tested bulls which can be used for their further selection. The average level of testosterone increment after GnRH administration illustrates the total endocrine activity of bulls and it can also be used to determine the effect of environmental factors influencing the animal population at a breeder bull rearing station.

Acknowledgement

The authors wish to thank for collaboration and help to veterinarians and employees of all bull-rearing farms and A.I. stations where we performed our investigations.

References

- CLAY, C. M. - SQUIRES, E. L. - AMANN, R. P. - NETT, T. M.: Influences of season and artificial photoperiod on stallions: pituitary and testicular responses to exogenous GnRH. *J. Anim. Sci.*, 67, 1989: 763-770.
- KOZDERA, A.: The importance of testosterone levels for evaluation of the breeder bull. [Candidate's Dissertation.] Brno 1991. 127 p. - Výzkumný ústav veterinárního lékařství.
- KOZUMPLÍK, J.: The level of plasma testosterone during the prenatal and postnatal period of development in bulls. *Acta veter.* Brno, 50, 1981: 27-32.
- MACKINNON, M. J. - CORBET, N. J. - MEYER, K. - BURROW, H. M. - BRYAN, R. P. - HETZEL, D. J. S.: Genetic parameters for testosterone response to GnRH stimulation and scrotal circumference in tropical beef bulls. *Livestock Prod. Sci.*, 29, 1991: 297-309.
- MATOUŠKOVÁ, O. - CÍGLER, M. - HRUŠKA, K.: A programme system for basic statistics denoted STAT version 2.00. In: User's Manual. Brno, Výzkumný ústav veterinárního lékařství 1990. 56 p.
- MATOUŠKOVÁ, O. - HRUŠKA, K. - CHALUPA, J. - CÍGLER, M.: Evaluation of radioimmunoassay RIA version 1.00. In: Instructions for Programme Handling. Brno, Výzkumný ústav veterinárního lékařství 1991. 32 p.
- MIYAMOTO, A. - UMEZU, M. - ISHII, S. - FURUSAWA, T. - MASAKI, J. - HASEGAWA, Y. - OHTA, M.: Serum inhibin, FSH, LH and testosterone levels and testicular inhibin content in beef bulls from birth to puberty. *Anim. Reprod. Sci.*, 20 1989: 165-178.
- NAVRÁTIL, S. - FOREJTEK, P.: The effect of LH - releasing hormone application on testosterone levels in the blood of boars with sexual dysfunctions. *Veter. Med. (Praha)*, 23, 1979: 525-530.
- POST, T. B. - REICH, M. M. - BINDON, B. M.: Characterization of LH and testosterone responses to intramuscular injection of GnRH in tropical postpubertal bulls. *Theriogenology*, 27, 1987a: 305-315.
- POST, T. B. - CHRISTENSEN, H. R. - SIEFERT, G. W.: Reproductive performance and productive traits of beef bulls selected for different levels of testosterone to GnRH. *Theriogenology*, 27, 1987b: 317-328.

- SCHANBACHER, B. D. - ECHTERNKAMP, S. E.: Testicular steroid secretion in response to GnRH - mediated LH and FSH release in bulls. *J. Anim. Sci.*, 47, 1978: 514-520.
- SECCHIARI, P. - MARTORANA, F. - PELLEGRINI, S. - LUISI, M.: Variation of plasma testosterone in developing Friesian bulls. *J. Anim. Sci.*, 42, 1976: 405-409.
- THIBIER, M.: Dijurnal testosterone and 17 alfa- hydroxyprogesterone in peripheral plasma of young postpubertal bulls. *Acta endocrin.*, 81, 1976: 623-634.
- VĚŽNÍK, Z. - KOZDERA, A.: Use of TPA (Testosterone Production Assay) for evaluation of the level of reproductive functions of breeder bulls. *Českoslov. Fysiol.*, 1990.
- VĚŽNÍK, Z. - KOZDERA, A. - ŠVECOVÁ, D. et al.: Andrological evaluation of breeder bulls. [Research Report.] Brno, Výzkumný ústav veterinárního lékařství 1989. 39 p.
- WILDEUS, S. - ENTWISTLE, K. W. - HOLROYD, R. G.: Patterns of pubertal development in Sahiwal and Brahman cross bulls in tropical Australia. II. LH and testosterone concentrations before and after GnRH. *Theriogenology*, 22, 1984: 375-384.

Received for publication November 9, 1992

KOZDERA, A. - VĚŽNÍK, Z. - RYŠAVÁ, L. (Výzkumný ústav veterinárního lékařství, Brno):

Průměrné hladiny testosteronu u býků po stimulaci GnRH v odchovných a inseminačních stanicích.

Veter. Med. - Czech, 38, 1993 (3): 129-140.

U býků v pěti odchovných plemenných býků (OPB) (věk 13 měsíců) a deseti inseminačních stanicích (věk 17 - 34 měsíců) byly stanoveny průměrné hladiny testosteronu přirozené a za 60 a 90 min po aplikaci GnRH. Všechny skupiny býků reagovaly signifikantním zvýšením hladiny testosteronu za 60 a 90 min po aplikaci GnRH. Byly zjištěny rozdíly mezi průměrnými hladinami testosteronu charakteristickými pro jednotlivé OPB a ISB. Porovnáním hladin testosteronu, stanovených v OPB u býků ve 13 měsících věku a následně po šesti měsíčním pobytu na ISB byly získány vysoce signifikantní korelační koeficienty 0,344 pro bazální hladiny a 0,583 pro hladiny indukované. Zároveň byl zjištěn pokles hladiny testosteronu.

býk; testosteron; GnRH; odchovna plemenných býků; inseminační stanice býků

Contact Address:

MVDr. Antonín K o z d e r a , Výzkumný ústav veterinárního lékařství, Hudcova 70, 621 32 Brno
Tel. 05/74 11 21, fax 05/75 22 40

HODNOTENIE ÚROVNE MINERÁLNEHO METABOLIZMU TELIAŤ V OBDOBÍ MLIEČNEJ VÝŽIVY A ODSTAVU NA ZÁKLADE VYBRANÝCH PARAMETROV V KRVÍ

A. Bomba¹, E. Králiček¹, R. Žitňan², E. Králičeková³, M. Poláček³

¹Ústav experimentálnej veterinárnej medicíny, Košice

²Výskumný ústav živočíšnej výroby, Nitra

³Univerzita veterinárskeho lekárstva, Košice

Sledovali sme koncentráciu vápnika, anorganického fosforu, horčíka, sodíka a draslíka v sére teliat v období mliečnej výživy a odstavu (vo veku 9 týždňov) a výsledky sme hodnotili z hľadiska odchýliek od referenčných hodnôt. Priemerné hladiny vápnika a anorganického fosforu nevykazovali signifikantné zmeny a pohybovali sa v rozpätí referenčných hodnôt. Koncentrácia horčíka v sére teliat na rastlinnej výžive (vek 11 týždňov) bola oproti východzej hodnote (vek 2 týždne) signifikantne vyššia ($p < 0,01$) a dolnú hranicu referenčného rozpätia dosiahla až pri odstave (vek 9 týždňov). Individuálne sme najvyššie percento hypokalcémie (u 33,3 % teliat) a hypofosfatémie (u 47,3 % teliat) zistili pri odstave. Hypomagneziémia sa najvýraznejšie prejavila vo veku 2 a 5 týždňov (u 57,1 %). K výraznej úprave subnormálnych hodnôt uvedených parametrov došlo na rastlinnej výžive. Hladiny sérového sodíka a draslíka mali na mliečnej výžive zostupný charakter, ale po odstave sa stabilizovali približne na hodnotách, ktoré sme zistili vo veku 5 týždňov (sodík 146,3 mmol/l a draslík 5,19 mmol/l). Priemerná koncentrácia sodíka v sére teliat sa okrem odstavu pohybovala mierne nad hornou hranicou referenčného rozpätia, len pri odstave sme zistili jej signifikantný pokles ($p < 0,05$). Koncentrácia sérového draslíka sa okrem veku 2 týždne pohybovala v rozpätí referenčných hodnôt a hodnoty draslíka v sére boli vo veku 5, 9 a 11 týždňov oproti východzej hodnote signifikantne nižšie ($p < 0,01$). Individuálne sme najvyššie percento hypernatriémie (u 81 % teliat) a hyperkaliémie (u 85,7 % teliat) zistili vo veku 2 týždne.

teľatá; minerálny metabolizmus; mliečna výživa; odstav

Minerálne sú nepostrádateľnou súčasťou výživy, pretože majú v organizme mnohostrannú funkciu. Vápnik a fosfor sa vyskytujú vo všetkých bunkách, tkanivách a biologických tekutinách. Vápnik sa priamo alebo nepriamo zúčastňuje takmer všetkých fermentačných, asimilačných, disimilačných a resorpčných pochodov v organizme (V r z g u l a , 1961). Je nevyhnutný pre tvorbu kostí a mlieka, koaguláciu krvi, normálnu neuromuskulárnu dráždivosť, permeabilitu membrán, činnosť srdca a obličiek. Fosfor má v organizme stavebnú funkciu, zúčastňuje sa fosforylačných procesov, prenosu energie, detoxikačných a acidobázických pochodov.

Horčík je významným aktivátorom mnohých enzýmov. Sodík ako extracelulárny a draslík ako intracelulárny kation sú dôležité pre udržanie osmotického tlaku a pH telových tekutín (V r z g u l a a kol., 1982).

Pri riešení problémov minerálnej výživy teliat na mliečnej výžive sa ukazuje potreba hodnotiť používané mliečne krmné zmesi. Kolostran nedostatočne dotuje požiadavky organizmu v košťotvorných prvkoch (vápnik na 75 % a fosfor na 87 %). Krytie potreby z Laktavitu pri prírastkoch 500 g je u vápnika len 68 % a fosforu 79 %. Pri prírastkoch 750 g je vápnik dotovaný na 47 %, fosfor na 55 % a horčík na 84 % (L e h o c k ý, 1981a). Na závažné nedostatky v minerálnej výžive poukazujú časté nálezy subnormálnych hladín makro- a mikroelementov (S l a n i n a a i., 1978; B r e š ť a n s k ý, 1982).

Na posúdenie úrovne minerálneho metabolizmu je možné využiť metabolický profilový test, pretože odhaľuje aj také poruchy metabolizmu, ktoré sa ešte klinicky neprejavujú (B r u g é r e - P i c o u x a B r u g é r e, 1987). I n g r a h a m a K a p p e l (1988) doporučujú sledovať vápnik, anorganický fosfor, horčík, draslík, sodík, meď a železo. Aj napriek tomu, že úroveň minerálneho metabolizmu možno objektívne posúdiť len komplexným vyšetrením biologických tekutín a tkanív, sú krvné parametre indikátormi metabolických porúch (L o t t h a m m e r a i., 1988), pričom interpretácia laboratórnych testov sa musí opierať o znalosť referenčných hodnôt každej analyzovanej krvnej zložky (R i c o a B r a u n, 1987).

Cieľom našej práce bolo sledovať hladiny vápnika, anorganického fosforu, horčíka, sodíka a draslíka v sére teliat v období mliečnej výživy a odstavu v bežných podmienkach chovu z hľadiska ich stability, výskytu odchýliek od rozpätia referenčných hodnôt vo vekovej dynamike a zmeny charakteru výživy.

MATERIÁL A METÓDA

Sledovania sme vykonali u 21 teliat, krížencov slovenského strakatého (SS) a čiernostrakatého (ČS) dobytky, v jarných mesiacoch. Tefatá boli napájané mliečnou krmnou zmesou Laktavit, 2x denne. Priemerná denná dávka Laktavitu bola 9 l na teľa a deň. Tefatá prijímali krmnu zmes TKŠ *ad libitum*. TKŠ mala nasledovný obsah živín: sušina 84,0 %; vláknina 5,9 %; NL 16,7 %; SNL 14,3 %; ŠJ 0,674; KE 0,770; NEK 212. Tefatá mali voľný prístup k senu a vode. Vo veku 9 týždňov boli tefatá odstavené a presunuté na rastlinnú výživu, kde dostávali seno, siláž, tvarované krmivo a krmnu zmes TKŠ. Priemerné denné prírastky sledovaných teliat za obdobie mliečnej výživy boli 0,741 kg. Vzorky krvi sme odoberali z v. *jugularis* od tých istých teliat vo veku 2, 5, 9 a 11 týždňov. Sérový vápnik, horčík, sodík a draslík sme sledovali atómovou absorpčnou spektrálnou fotometriou pomocou prístroja Perkin - Elmer, typ 306. Anorganický fosfor v sére bol stanovený metódou podľa autorov H o ř e j š í a S l a v í k (1953). Výsledky sú aritmetickým priemerom, $\pm$ smerodajná odchýlka a pre štatistické spracovanie sme použili S t u d e n t o v t - test. Výsledky z hľadiska referenčných hodnôt sa vyhodnocovali podľa autorov S l a n i n a a i. (1979).

VÝSLEDKY

HLADINY VÁPNIKA, ANORGANICKÉHO FOSFORU A HORČÍKA V SÉRE

Hladiny vápnika, anorganického fosforu a horčíka v sére teliat nevykazovali v priemere signifikantné zmeny (tab. I), okrem koncentrácie horčíka vo veku 11 týždňov.

Hladina sérového vápnika mala takmer lineárny priebeh s minimálnymi zmenami. Najväčší rozdiel v priemerných hodnotách hladiny vápnika bol 0,11 mmol/l, pričom sa tieto za celé sledované obdobie pohybovali v rozpätí referenčných hodnôt (obr. 1).

Priemerné hodnoty anorganického fosforu v sére teliat od veku 5 týždňov nevýznamne klesali. Vo veku 5 týždňov vystúpili veľmi mierne nad hornú hranicu referenčného rozpätia, v ostatných prípadoch sa pohybovali v referenčnom rozpätí.

Hladina sérového horčíka mala vzostupnú tendenciu s vysoko signifikantným rozdielom koncentrácie horčíka u teliat na rastlinnej výžive oproti východným hodnotám ($p < 0,01$). Do referenčného rozpätia vystúpila hladina horčíka v sére pri odstave (vek 9 týždňov), vo veku 2 a 5 týždňov bola mierne pod dolnou hranicou referenčného rozpätia.

Individuálne sme zistili hypokalcémiu vo veku 2 týždne u 14,3 % teliat, vo veku 5 týždňov u 28,6 %, pri odstave u 33,3 % a vo veku 11 týždňov u 9,5 % teliat. Hyperkalcémia sa vyskytla u päťtýždňových teliat u 14,3 % a na rastlinnej výžive (11 týždňov) u 5,3 % teliat (obr. 2).

Hypofosfatémiu sme individuálne zaznamenali vo veku 2 týždne u 23,8 %, vo veku 5 týždňov u 19,1 %, pri odstave u 47,3 % a vo veku 11 týždňov u 22,2 % teliat. Hyperfosfatémia sa vyskytla vo veku 2 týždne u 52,4 %, vo veku 5 týždňov u 47,6 %, pri odstave u 42,1 % a na rastlinnej výžive u 38,9 % teliat.

Hypomagneziémiu sme individuálne zistili vo veku 2 týždne a vo veku 5 týždňov u 57,1 % teliat, pri odstave u 42,9 % a vo veku 11 týždňov u 10,5 % teliat.

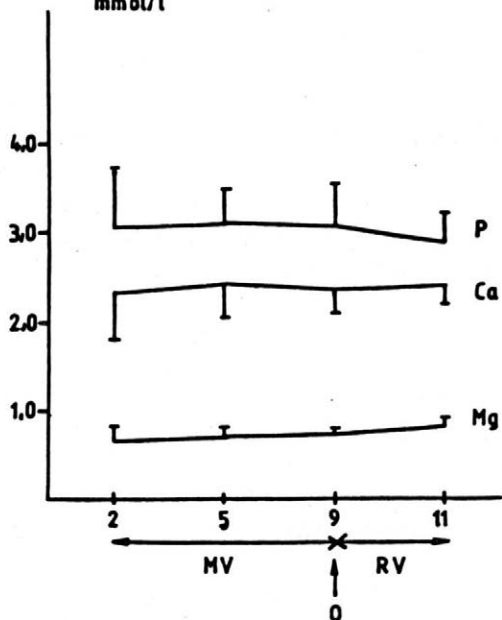
I. Hladiny vápnika, anorganického fosforu, horčíka, sodíka a draslíka (mmol/l) v sére teliat v období mliečnej výživy a odstavy - The concentrations of calcium, inorganic phosphorus, magnesium, sodium and potassium (mmol/l) in the blood serum of the calves on milk diet and at weaning

Vek teliat (týždne)	Ca	P	Mg	Na	K'
2	2,32 ± 0,491	3,07 ± 0,601	0,67 ± 0,151	145,20 ± 4,194	6,55 ± 1,532
5	2,43 ± 0,372	3,11 ± 0,432	0,71 ± 0,094	145,95 ± 6,580	5,03 ± 0,609 ^b
9	2,37 ± 0,242	3,05 ± 0,526	0,74 ± 0,059	140,89 ± 7,420 ^a	4,83 ± 0,419 ^b
11	2,42 ± 0,201	2,90 ± 0,323	0,84 ± 0,091 ^b	146,32 ± 7,680	5,19 ± 0,557 ^b

Výsledky sú aritmetickým priemerom, ± smerodajná odchýlka. Štatistická významnosť oproti východnej hodnote: a = $p < 0,05$; b = $p < 0,01$ - The results are arithmetical means ± standard deviations. Statistical significance in comparison with the starting value: a = $p < 0.05$; b = $p < 0.01$

¹calves' age (weeks)

mmol/l



1. Hladiny vápníka, anorganického fosforu a horčíka v sére teliat - The concentrations of calcium, inorganic phosphorus and magnesium in the blood serum of calves

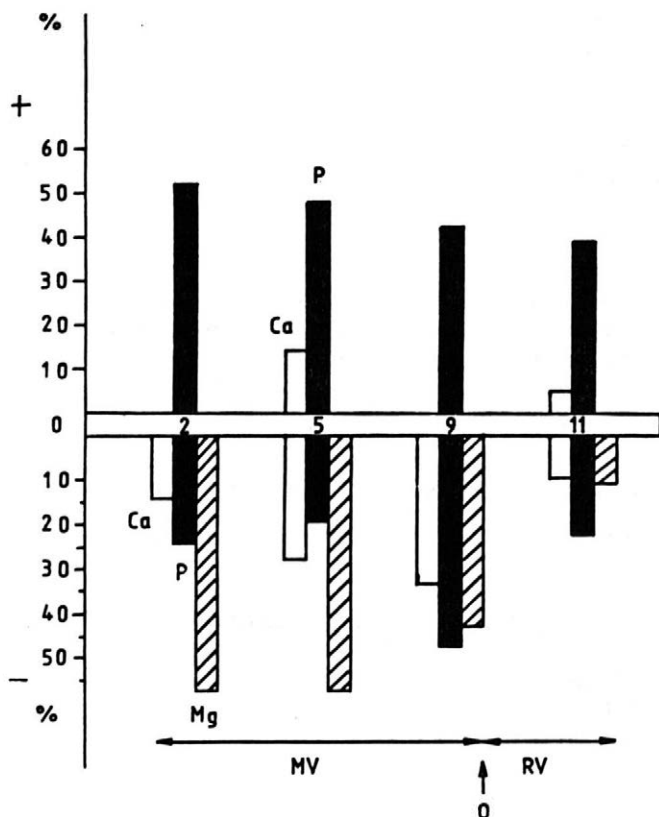
Vysvetlivky pre obr. 1 - 4 - Explanatory notes to Figs. 1 - 4:

MV = mliečna výživa - milk diet

O = odstav - weaning

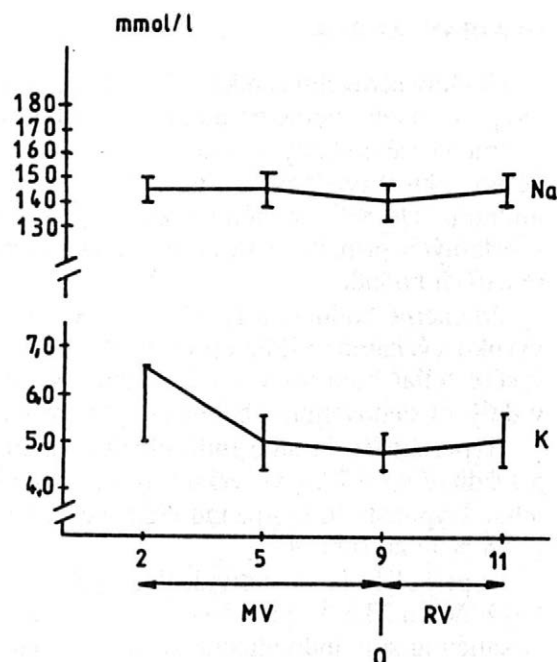
RV = rastlinná výživa - all-vegetable diet

Os x = vek (týždne) - x-axis = age (weeks)

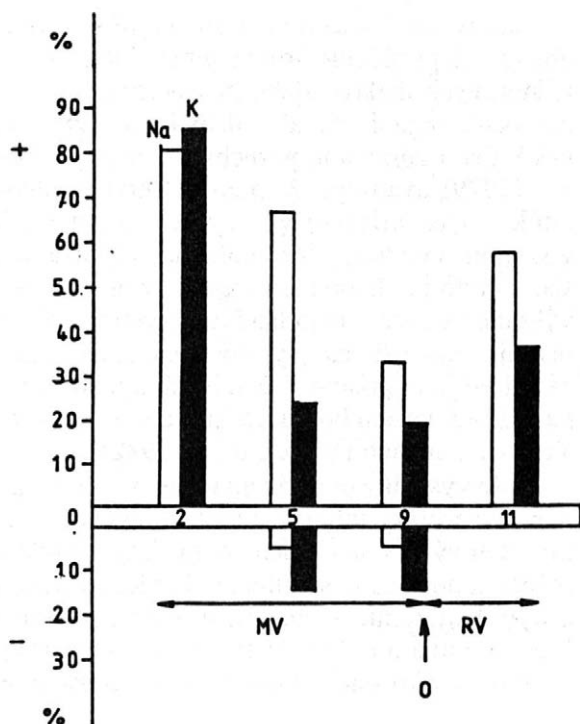


2. Odchýlky hladín vápníka, anorganického fosforu a horčíka v sére teliat od rozpätia referenčných hodnôt pri individuálnom hodnotení; + nad referenčným rozpätím, - pod referenčným rozpätím - The deviations of the concentrations of calcium, inorganic phosphorus and magnesium in the blood serum of individually evaluated calves from the range of reference values; + above the reference range, - below the reference range

3. Hladiny sodíka a draslíka v sére teliat - The concentrations of sodium and potassium in the blood serum of calves



4. Odchýlky hladín sodíka a draslíka v sére teliat od rozpätia referenčných hodnôt pri individuálnom hodnotení; + nad referenčným rozpätím, - pod referenčným rozpätím - The deviations of the sodium and potassium concentrations in the blood serum of individually evaluated calves from the range of reference values; + above the reference range, - below the reference range



Hladiny sérového sodíka a draslíka mali na mliečnej výžive klesajúcu tendenciu, ale po odstave priemerné hodnoty oboch elektrolytov opäť vystúpili (obr. 3).

Priemerné hodnoty sodíka v sére teliat signifikantne poklesli ($p < 0,05$) pri odstave vo veku 9 týždňov. Vo veku 11 týždňov opäť vystúpili mierne nad východziu hodnotu. Do referenčného rozpätia poklesla hladina sodíka v sére pri odstave, v ostatných prípadoch sa pohybovala mierne nad hornou hranicou rozpätia referenčných hodnôt.

Priemerné hodnoty sérového draslíka boli vo veku 5, 9 a 11 týždňov štatisticky vysoko významne nižšie oproti východším hodnotám ($p < 0,01$). Hladina draslíka v sére teliat bola vo veku 2 týždne výrazne nad hornou referenčnou hranicou, v ďalšom sledovanom období sa pohybovala v rozpätí referenčných hodnôt.

Hypernatriémiu sme individuálne zistili vo veku 2 týždne u 81 %, vo veku 5 týždňov u 66,7 %, vo veku 9 týždňov u 33,3 % a vo veku 11 týždňov u 57,9 % teliat. Hyponatriémiu sme individuálne zaznamenali vo veku 5 týždňov a pri odstave u 4,8 % teliat (obr. 4).

Hyperkaliémiu sa individuálne vyskytla vo veku 2 týždne u 85,7 %, vo veku 5 týždňov u 23,8 %, pri odstave u 19,1 % a na rastlinnej výžive u 36,8 % teliat. Hypokaliémiu sme individuálne zistili vo veku 5 a 9 týždňov u 14,3 % teliat.

DISKUSIA

Stanovenie koncentrácie mineráliev v krvi je súčasťou komplexu vyšetrení pre objektívne posúdenie úrovne minerálneho metabolizmu. Samotné stanovenie hladín jednotlivých makro- alebo mikroelementov v krvi neposkytuje obraz o úrovni ich zásobenia organizmu, ale odchýlky od fyziologického rozpätia signalizujú metabolické alebo zdravotné poruchy, či zmeny v prívode do organizmu. Le h o c k ý a i. (1979) uvádzajú, že prepočet krytia jednotlivých makro- a mikrominerálnych látok počas mliečnej výživy je v priamej závislosti so zisťovanými hladinami v krvnom sére teliat. Metabolizmus vápnika, fosforu a horčíka vzájomne úzko súvisia, a preto je vhodné ich metabolizmus hodnotiť spolu. Vápnik sa v krvi nachádza výhradne v sére a jeho hladina je veľmi stála. Koncentrácia anorganického fosforu reaguje citlivejšie na zvýšený alebo znížený príjem krmivom. Obsah horčíka v krvi závisí od jeho prísunu v krmivách a jeho nedostatok v diéte sa rýchlo odzrkadľuje na znížení obsahu horčíka v krvi a v moči. V krvi sa horčík nachádza tak v plazme, ako aj v bunkách (V r z g u l a , 1982).

Naše výsledky potvrdzujú údaje L e h o c k é h o (1981b) o nevyrovnanosti minerálnej výživy teliat v období mliečnej výživy. Aj napriek tomu, že v období mliečnej výživy sa v priemere hladiny vápnika a fosforu pohybovali v referenčnom rozpätí a boli veľmi stabilné, individuálne sme zistili stúpajúci výskyt hypokalcémie a hypofosfatémie s vekom, pričom percento hypomagneziémie naopak klesalo. L e n g e m a n n (1959) uvádza, že čím väčší je obsah vápnika v prijímanom krmive, tým sa v kostiach ukladá menej horčíka, pravdepodobne v dôsledku vzájomného

antagonizmu alebo vplyvom prednostného ukladania redukovaného množstva horčíka v mäkkých tkanivách. Pri resorpcii horčíka z tráviacej sústavy sa vápnik všeobecne označuje ako antagonistu horčíka (Wiesner, 1967). Slanina a kol. (1977) pripisujú hypomagneziémiu teliat nedostatočnej mliečnej výžive, nízkym rezervám Mg v organizme, jeho nízkemu obsahu v mlieku a nízkkej utilizácii. Roy (1980) poukazuje na postupný pokles resorpcie Mg s vekom, pričom u hnačkujúcich teliat sa redukuje jeho absorpcia a straty fekáliami sa proti zdravým teľatám zdvojnásobujú. Dosiahnuté výsledky je potrebné zhodnotiť aj z hľadiska krytia potreby vápnika, fosforu a horčíka mliečnou krmnou zmesou Laktavit, pri zohľadnení prírastkov hmotnosti, vo vzťahu k hladinám uvedených mineráliev v krvnom sére. Naše zistenia nie sú v súlade s údajmi Lehocěk (1981a), ktorý uvádza, že pri prírastkoch 750 g (porovnateľné s našim experimentom) je Laktavitom najviac dotovaná potreba horčíka, menej fosforu a najmenej vápnika. Napriek týmto údajom sme pri individuálnom hodnotení hladín makroelementov v sére teliat v období mliečnej výživy zaznamenali najvyššie percento teliat so zníženými hodnotami u horčíka a najnižšie u vápnika. Stúpajúce percento subnormálnych hodnôt vápnika a fosforu v sére teliat v období mliečnej výživy a vysoké percento znížených hladín sledovaných makroelementov pri odstave poukazuje na to, že v tejto rastovej fáze teliat je krytie ich potreby mineráliev nedostatočné.

Súčasný výskyt vysokého percenta hypo- a hyperfosfatémie pripisujeme nevyrovnanosti príjmu fosforu krmnou dávkou, predovšetkým mliečnou krmnou zmesou v dôsledku technológie kŕmenia. Cabello a Michel (1977) sledovali u 68 teliat hladiny vápnika, fosforu a horčíka od narodenia do veku 3 týždne. Zistili, že teľatá, ktoré od 5. do 11. dňa veku prekonal hnačky, mali subnormálne hodnoty vápnika, fosforu a horčíka už od prvého dňa života, zatiaľ čo u zdravých teliat boli hladiny uvedených makroelementov vo fyziologickom rozpätí. Poukazuje to na možnosť prognózovania vývoja zdravia teliat na základe úrovne niektorých parametrov metabolického profilu už v prvých dňoch života, ale podobne možno prognózovať aj vývoj rastu teliat (Couvras, 1981).

Obsah sodíka a draslíka v krvnej plazme je veľmi stabilný a mení sa len pri vážnejšom porušení vnútorného prostredia. Čupka (1992) uvádza, že k najväčším zmenám v obsahu sodíka, draslíka a vápnika dochádza spravidla v priebehu prvých 28 dní života teliat. Podľa Surynka (1978) môže byť hyperkaliémia v ranom veku spôsobená zvýšenou fragilitou erytrocytov, čo má za následok prestup draslíkových katiónov do extracelulárnej tekutiny a vzostup hladiny draslíka v sére, pričom zvýšená hladina draslíka v sére novorodených teliat môže byť aj prejavom prevládajúceho katabolizmu v bunkách. Slanina a i. (1985) pozorovali hyperkaliémiu a miernu hypermagneziémiu pri extrémnej hemokoncentracii. V našom experimente mohla byť mierna hemokoncentrácia vo veku 2 týždne spôsobená nižším príjmom tekutín pri zvoze a miernymi hnačkami dietetickej etiológie v dôsledku prechodu z kŕmenia natívnym mliekom na mliečnu krmnú zmes. Silné hnačky spojené s výraznou dehydratáciou sa nevyskytli. Jagoš a i. (1986) uvádzajú, že koncentrácia draslíka vo veku dvoch týždňov bola signifikantne vyššia u teliat kŕmených plnotučným mliekom v porovnaní s teľatami napájanými mliečnou krmnou zmesou.

Pri konfrontácii našich výsledkov s referenčnými hodnotami, ktoré udávajú Bouda a Jagoš (1984) v závislosti na veku, boli priemerné hladiny fosforu a sodíka veľmi podobné. Hodnoty vápnika a horčíka v sére nami sledovaných teliat boli v priemere nižšie, podobne u draslíka, okrem veku 2 týždne.

Na základe našich výsledkov možno konštatovať, že v období mliečnej výživy sa v bežných chovateľských podmienkach vyskytuje pomerne vysoké percento teliat so subnormálnymi hladinami makroelementov, čo poukazuje na nedostatočné krytie potreby vyvíjajúceho sa organizmu. K výraznej úprave sledovaných parametrov minerálneho metabolizmu došlo po prechode na rastlinnú výživu.

Literatúra

- BOUDA, J. - JAGOŠ, P.: Biochemical and hematological reference values in calves and their significance for health control. *Acta Veter. (Brno)*, 53, 1984, s. 137-142.
- BREŠŤANSKÝ, I.: Metabolický profil dojnic a teliat vo vzťahu matka-mláďa. *Veterinárství*, 32, 1982, s. 156-157.
- BRUGÈRE - PICOUX, J. - BRUGÈRE, H.: Particularités de la biochimie clinique des ruminants. Détermination de valeurs normales usuelles des enzymes sériques. *Recu. Méd. vétér.*, 163, 1987, s. 1043-1053.
- CABELLO, G. - MICHEL, M. C.: Composition of blood plasma (calcium, phosphorus, magnesium, proteins) during the neonatal period in the calf. Influence of the state of health. *Ann. Rech. vétér.*, 8, 1977, s. 203-211.
- COUVARAS, S.: Pre-weaning and post-weaning performance of artificially reared calves. 2. The effects of milk substitute whey diets on the performance of calves with particular reference to the selection of calves with improved growth potential from their blood composition a week after birth. *J. S. Afr. Veter. Assoc.*, 52, 1981, s. 15-19.
- ČUPKA, P.: Vplyv veku na zmeny hladín sodíka, draslíka a vápnika v krvnom sére teliat. *Živoč. Vyr.*, 37, 1992, s. 125-134.
- HOŘEJŠÍ, J. - SLAVÍK, K.: Základy chemického vyšetřování v lékařství. Praha, SZN 1953.
- INGRAHAM, R. H. - KAPPEL, L. C.: Metabolic profile testing. *Veter. Clin. Amer.: Food Anim. Pract.*, 4, 1988, s. 391-411.
- JAGOŠ, P. - BOUDA, J. - SKŘIVÁNEK, M.: Vliv příjmu mléčné krmné směsi a plnotučného mléka na vývoj vybraných ukazatelů v krevní plazmě telat. *Veter. Med. (Praha)*, 31, 1986, s. 65-73.
- LEHOCKÝ, J.: Minerální a vitamínová výživa teliat. In: Ref. z V. celoštátní konference Produkce a zdraví teliat v průmyslných podmínkách chovu, Košice, ČSVTS 1981a, s. 79-84.
- LEHOCKÝ, J.: Minerální výživa mléčných teliat v průmyslných podmínkách chovu. *Veterinárství*, 31, 1981b, s. 250-253.
- LEHOCKÝ, J. - SLANINA, E. - VAJDA, V. - SOKOL, J.: Minerální profil v průmyselné produkci teliat počas mliečnej výživy. In: Zbor. ŠV MPVŽ SSR, 1979, s. 39-51.
- LENGEMANN, F. W.: The metabolism of magnesium and calcium by the rat. *Arch. Biochem. Biophys.*, 84, 1959, s. 278-285.
- LOTTHAMMER, K. H. - BOEHNEKE, H. J. - MORAWIETZ, M.: Beziehungen zwischen verschiedenen Blutparametern als Kriterien für Stoffwechselstörungen und dem Milchzellgehalt bei Milchrindern. *Dtsch. tierärztl. Wschr.*, 95, 1988, s. 379-384.
- RICO, A. G. - BRAUN, J. P.: Interprétation des examens de laboratoire. *Rec. Méd. vétér.*, 163, 1987, s. 696-971.

ROY, J. H. B.: The calf. London, Butterworths 1980.

SLANINA a kol.: Zdravie a chorobnosť teliat v priemyselnej produkcii. Bratislava, Príroda 1977.

SLANINA, L. - VAJDA, V. - LEHOCKÝ, J. - SOKOL, J.: Metabolický profil u dojnic a teliat - systém hodnotenia a vzájomné vzťahy. Veterinářství, 28, 1978, s. 163-166.

SLANINA, L. - BESEDA, I. - LEHOCKÝ, J. - SOKOL, J. - VAJDA, V. - VÁEKA, J. - VAŠKO, L.: Metabolický profil hovädzieho dobytku vo vzťahu k zdraviu a úžitkovosti. Bratislava, ÚVO 1979.

SLANINA, L. - BOMBA, A. - PAULÍK, Š. - BATTA, G. - LEHOCKÝ, J.: Korrektur der aktuellen Werte des metabolischen Profils bei Kälbern mit Hämokonzentration. Dtsch. tierärztl. Wschr., 92, 1985, s. 367-369.

SURYNEK, J.: Biomedicínský profil telete. [Doktorská dizertace.] Brno 1978. - Vysoká škola veterinární.

VRZGULA, L.: Hodnoty minerálií v krvnom sére hovädzieho dobytku postihnutého tuberkulózou. Veter. Čas., 10, 1961, s. 149-159.

VRZGULA a kol.: Poruchy látkového metabolismu hospodárskych zvierat a ich prevencia. Bratislava, Príroda 1982.

Došlo 22. 6. 1992

BOMBA, A. - KRÁLÍČEK, L. - ŽITŇAN, R. - KRÁLÍČEKOVÁ, E. - POLÁČEK, M. (Research Institute of Experimental Veterinary Medicine, Košice; Institute of Animal Production, Nitra; University of Veterinary Medicine, Košice):

Evaluation of mineral metabolism of calves in the period of milk diet and weaning on the basis of some parameters of the blood.

Vet. Med. - Czech, 38, (3): 141-150.

Concentrations of calcium, inorganic phosphorus, magnesium, sodium and potassium (Tab. I) were followed in the blood serum of calves in the period of milk diet and weaning (at the age of nine weeks), and the results were evaluated with respect to their deviations from the reference values. The average concentrations of calcium and inorganic phosphorus did not show any significant variations and they were within the range of reference values. Magnesium concentrations in the blood serum of calves on all-vegetable diet (11 weeks of age) were significantly higher ($p < 0.01$) in comparison with the starting value (at the age of two weeks) while they approached the lower boundary of reference range as late as at the age of nine weeks (Fig. 1). The highest percentage of hypocalcaemia (33.3 %) and hypophosphataemia (47.3 %) in individual animals was determined at weaning. The highest level of hypomagnesaemia was observed at the age of two and five weeks (57.1 % of the calves). The subnormal values of the mentioned parameters were markedly adjusted in the calves on all-vegetable diet (Fig. 2). The concentrations of serum sodium and potassium (Fig. 3) were decreasing in the calves on milk diet, but after weaning they were stabilized at the values which were recorded at the age of five weeks (Na 146.3 mmol/l and K 5.19 mmol/l). With the exception of weaning, the average sodium concentrations in the blood serum of calves were slightly above the upper boundary of the reference range, their significant drop was observed

only at weaning ($p < 0.05$). The concentrations of serum potassium were within the range of reference values except the values at the age of two weeks and the potassium concentrations in the serum were significantly lower at the age of 5, 9 and 11 weeks in comparison with the starting value ($p < 0.01$). The highest percentage of hypernatraemia (81 %) and hyperkalaemia (85.7 %) was determined in individual animals at the age of two weeks (Fig. 4).

calves; mineral metabolism; milk diet; weaning

Kontaktná adresa:

MVDr. Alojz B o m b a , CSc., Ústav experimentálnej veterinárnej medicíny, Hlinkova 1/A,
040 81 Košice
Tel. 095/374 29, fax 095/318 53

VYUŽITIE VYBRANÝCH PARAMETROV V SÉRE A KRVÍ TELIAT PRI POSUDZOVANÍ ÚROVNE DUSÍKOVÉHO A ENERGETICKÉHO METABOLIZMU

A. Bomba¹, Š. Paulík², E. Králíček¹, R. Žitňan³, M. Poláček²

¹Ústav experimentálnej veterinárnej medicíny, Košice

²Univerzita veterinárskeho lekárstva, Košice

³Výskumný ústav živočíšnej výroby, Nitra

Sledovali sme hladiny celkových bielkovín, albumínu, celkových sérových imunoglobulínov, močoviny a celkových lipidov v sére a glukózy v krvi teliat v období mliečnej výživy a odstavy a výsledky sme posudzovali z hľadiska odchýliek od rozpätia referenčných hodnôt. Priemerná hladina celkových bielkovín z východzej hodnoty vo veku 2 týždne (65,45 g/l) signifikantne poklesla ($p < 0,05$) k veku 5 týždňov. Vo veku 9 týždňov bola nesignifikantne a vo veku 11 týždňov signifikantne vyššia ($p < 0,01$) oproti východzej hodnote. Najvyššie percento teliat s hodnotami celkových bielkovín v sére pod dolnou hranicou referenčného rozpätia sme zaznamenali vo veku 5 týždňov (19,1 %). Hladina albumínu v sére teliat sa v priemere pohybovala v rozpätí referenčných hodnôt a od 5. týždňa veku mala klesajúcu tendenciu. Individuálne sme najvyššie percento subnormálnych hodnôt albumínu v sére teliat zistili pri odstave, vo veku 9 týždňov (42,9 %). Hladiny celkových sérových imunoglobulínov boli oproti východším hodnotám v ďalšom sledovanom období štatisticky významne vyššie ($p < 0,05$; $p < 0,01$), pričom stúpali s vekom. Najvyššie percento teliat so zníženými hodnotami celkových sérových imunoglobulínov sme zaznamenali vo veku 2 týždne (71,4 %). Priemerné hodnoty močoviny sa pohybovali v referenčnom rozpätí a individuálne bol zistený najvyšší výskyt teliat so subnormálnymi hodnotami vo veku 5 týždňov (42,9 %). Glykémia od veku 5 týždňov mala u teliat klesajúci charakter a po odstave, vo veku 11 týždňov, bola oproti východším hodnotám signifikantne nižšia ($p < 0,01$) s individuálne najvyšším percentom teliat so subnormálnymi hodnotami (57,1 %). Priemerné hladiny celkových lipidov nedosiahli za celé sledované obdobie referenčného rozpätia a oproti východším hodnotám boli po odstave signifikantne nižšie ($p < 0,05$) s individuálne najvyšším percentom teliat (95,2 %), ktoré nedosahovali dolnú hranicu rozpätia referenčných hodnôt.

teľatá; dusíkový a energetický metabolizmus; mliečna výživa; odstav

Mliečna výživa teliat a obdobie prechodu na rastlinnú výživu predstavujú zo zdravotného hľadiska kritický úsek ich života. V uvedenej perióde sa prekrývajú najkritickejšie obdobia z hľadiska imunitnej vybavenosti teliat (3. - 4. týždeň života) s najvyšším výskytom hypogamaglobulinémie (Paulík a i., 1983), nástupu diarhoického a respiračného syndrómu (Slaniňa a i., 1984) a vysokého výskytu anémie (Vajda a i., 1981). Z uvedeného hľadiska je nevyhnutné, aby výživa teliat

v tomto období zabezpečovala po kvantitatívnej a kvalitatívnej stránke dostatočný prísun základných živín, minerálie a vitamínov.

Správny prívod bielkovín je veľmi dôležitý predovšetkým pre mláďatá. Kvalita bielkovín závisí od ich aminokyselinového zloženia. Na syntézu bielkovín v bunkách sú súčasne potrebné všetky aminokyseliny, ale krmivá musia obsahovať hlavne esenciálne aminokyseliny. Pre optimálnu úroveň dusíkového metabolizmu je potrebné, aby boli odbúravanie a náhrada bielkovín v rovnováhe. Ak je strata dusíka v organizme vyššia než jeho príjem, dochádza k negatívnej dusíkovej bilancii (V r z g u l a a i., 1982).

Energiu potrebnú na životné procesy a produkciu získavajú zvieratá spaľovaním energetických zložiek krmív v bunkách. Nedostatok energie vyvoláva negatívnu energetickú bilanciu, ktorá má za následok zníženú úžitkovosť zvierat a poruchy základného metabolizmu.

Na posúdenie úrovne dusíkového a energetického metabolizmu sú vhodné niektoré parametre metabolického profilového testu, ktorý odкрýva už aj klinicky nemanifestné poruchy metabolizmu (B r u g é r e - P i c o u x a B r u g é r e, 1987; L o t t h a m e r a i., 1988). Najvhodnejšími ukazovateľmi sú celkové bielkoviny, albumín a močovínový dusík v sére a glukóza v krvi (I n g r a h a m a K a p p e l, 1988). V chovateľskej praxi sa u teliat vyskytujú nedostatky predovšetkým v nedostatočnom energetickom krytí potreby organizmu mláďat.

Cieľom našej práce bolo sledovať hladinu celkových bielkovín, albumínu, celkových imunoglobulínov, močoviny, celkových lipidov v sére a glukózy v krvi v období mliečnej výživy a odstavu v bežných podmienkach chovu z hľadiska ich dynamiky, výskytu odchýliek od rozpätia referenčných hodnôt a zmeny charakteru výživy.

MATERIÁL A METÓDA

Sledovania sme vykonali u 21 teliat, krížencov slovenského strakatého a nížinného čiernostrakatého dobytká, v jarných mesiacoch. Teľatá boli napájané mliečnou krmnou zmesou Laktavit 2x denne v dávke 9 l na teľa a deň. Mliečna krmná zmes Laktavit obsahovala: sušené odstredenú mlieko 70,5 %; tukovú násadu 18 %; Lakta-myl 8,5 %; glukózu 1 %; škrob 1 %; Vitalakt L 1 %. Krmnu zmes TKŠ prijímali teľatá *ad libitum*. TKŠ mala nasledovný obsah živín: sušina 84 %; vláknina 5,9 %; NL 16,7 %; SNL 14,3 %; ŠJ 0,674; KE 0,770; NEK 212,0. Teľatá mali voľný prístup k senu a vode. Odstav sme vykonali vo veku 9 týždňov. Na rastlinnej výžive dostávali teľatá seno, siláž, tvarované krmivo a krmnu zmes TKŠ. Vzorky krvi boli odobrané z v. *jugularis* od tých istých teliat vo veku 2, 5, 9 a 11 týždňov. Celkové bielkoviny, močovina, celkové lipidy v sére a glukóza v krvi boli stanovené Bio-La-testami (Lachema, Brno), celkové sérové imunoglobulíny metódou turbidimetrie podľa M c E w a n a a i., (1970) a albumín v sére metódou jednoduchej radiálnej imunodifúzie v agare (M a n c i n i a i., 1965). Použité bolo monošpecifické anti-sérum (10 %) a štandardy získané z Biovety Nitra. Výsledky sú aritmetickým priemerom, $\pm$ smerodajná odchýlka a pre štatistické spracovanie sme použili Studentov *t*-test. Výsledky z hľadiska referenčných hodnôt sme vyhodnocovali podľa autorov

Slaniņa a. i. (1979). Referenčné rozpätia: celkové bielkoviny 53 - 67 g/l; albumín 25 - 37 g/l; celkové sérové imunoglobulíny 18 - 26U ZST; močovina 2,49 - 6,66 mmol/l; glukóza 3,85 - 4,77 mmol/l; celkové lipidy 3,05 - 3,25 g/l.

VÝSLEDKY

Hladina celkových bielkovín (CB) v sére teliat z východných hodnôt vo veku 2 týždne (65,45 g/l) signifikantne poklesla ($p < 0,05$) k veku 5 týždňov a do veku 11 týždňov mala vzostupný trend. Priemerné hodnoty CB vo veku 11 týždňov boli oproti východným hodnotám signifikantne vyššie ($p < 0,01$) - obr. 1, tab. I. Nad hornou hranicou referenčného rozpätia hladina CB sa pohybovala od odstavu (vek 9 týždňov). Pri individuálnom hodnotení sme subnormálne hodnoty CB v sére teliat zaznamenali vo veku 2 týždne u 4,8 %, vo veku 5 týždňov u 19,1 %, pri odstave u 4,8 % a vo veku 11 týždňov na rastlinnej výžive u 9,5 % teliat (obr. 2).

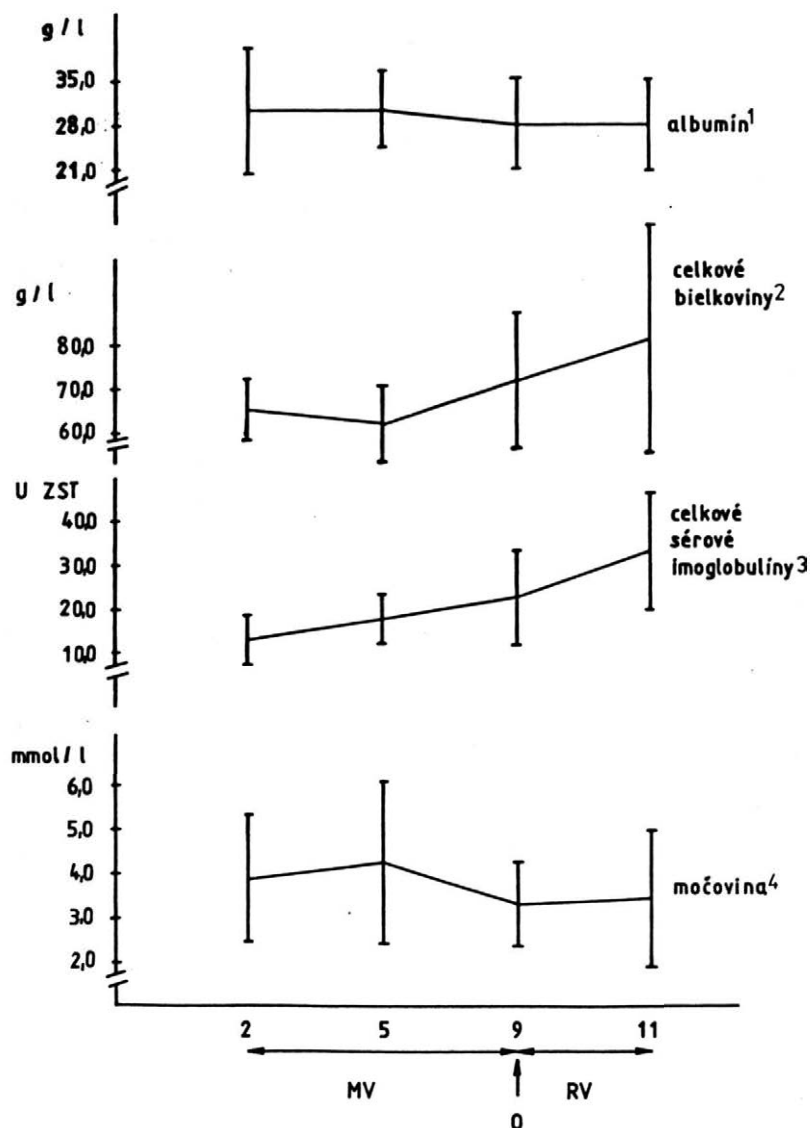
Hladina albumínu mala od veku 5 týždňov života s pribúdajúcim vekom vzostupný charakter so štatisticky nevýznamnými zmenami a v priemere s hodnotami v referenčnom rozpätí (obr. 1). Individuálne sme zaznamenali znížené hodnoty albumínu vo veku 2 týždne u 28,6 %, vo veku 5 týždňov u 19,1 %, pri odstave u 42,9 %, vo veku 11 týždňov u 38,1 % teliat.

Hladina celkových sérových imunoglobulínov (CS - Ig) mala od zvozu s pribúdajúcim vekom vzostupný charakter (obr. 1) so signifikantným rozdielom oproti východnej hodnote vo veku 5 týždňov ($p < 0,05$), 9 a 11 týždňov ($p < 0,01$).

I. Hladiny sledovaných parametrov dusikového a energetického metabolizmu u teliat v období mliečnej výživy a odstavu. Výsledky sú aritmetickým priemerom $\pm$ smerodajná odchýlka. Štatistická významnosť oproti východnej hodnote: a = $p < 0,05$; b = $p < 0,01$ - The concentrations of the investigated parameters of nitrogen and energy metabolism in calves in the periods of milk nutrition and weaning. The results are arithmetical mean $\pm$ standard deviation. Statistical significance against the starting value: a = $p < 0,05$; b = $p < 0,01$

¹ Vek teliat (týždne)	Celkové bielkoviny ² (g/l)	Albumín ³ (g/l)	Celkové sérové imunoglobulíny ⁴ (U ZST)	Močovina ⁵ (mmol/l)	Celkové lipidy ⁶ (g/l)	Glukóza ⁷ (mmol/l)
2	65,45 $\pm$ 6,69	30,0 $\pm$ 9,69	13,79 $\pm$ 5,28	3,91 $\pm$ 1,44	2,71 $\pm$ 1,06	4,53 $\pm$ 1,46
5	60,23 $\pm$ 8,17 ^a	30,12 $\pm$ 5,97	18,31 $\pm$ 5,95 ^a	4,28 $\pm$ 1,83	2,19 $\pm$ 0,97	5,32 $\pm$ 1,11
9	72,2 $\pm$ 15,56	28,15 $\pm$ 7,17	23,15 $\pm$ 10,95 ^b	3,32 $\pm$ 0,94	2,61 $\pm$ 0,88	4,42 $\pm$ 1,02
11	81,89 $\pm$ 25,74 ^b	27,64 $\pm$ 7,00	33,72 $\pm$ 13,14 ^b	3,45 $\pm$ 1,55	2,08 $\pm$ 0,48 ^a	3,21 $\pm$ 0,77 ^b

¹ calf's age (weeks), ² total proteins, ³ albumin, ⁴ total serum immunoglobulins, ⁵ urea, ⁶ total lipids, ⁷ glucose



1. Hladiny celkových bielkovín, albumínu, celkových sérových imunoglobulínov a močoviny v sére teliat - The concentrations of total proteins, albumin, total serum immunoglobulins and urea in the blood serum of calves

¹albumin, ²total proteins, ³total serum immunoglobulins, ⁴urea

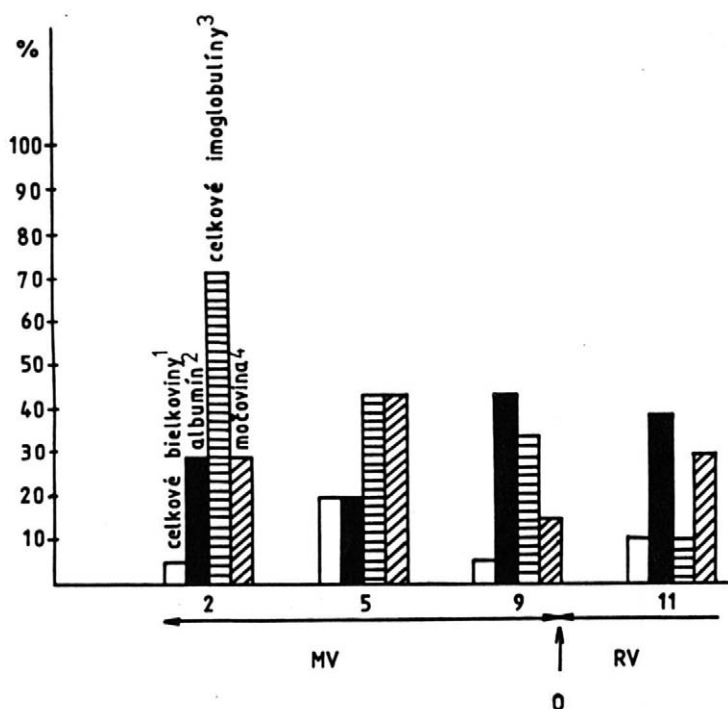
Vysvetlivky pre obr. 1 - 4 - Explanatory notes to Figs. 1 - 4

MV = mliečna výživa, O = odstav, RV = rastlinná výživa; os x = vek (týždne) - MV = milk nutrition, O = weaning, RV = all-vegetable diet; x-axis = age (weeks)

Priemerné hodnoty CS - Ig vystúpili do referenčného rozpätia vo veku 5 týždňov. Individuálne sme znížené hodnoty CS - Ig v sére teliat zistili vo veku 2 týždne u 71,4 %, vo veku 5 týždňov 42,9 %, pri odstave u 33,3 % a vo veku 11 týždňov už len u 9,5 % teliat (obr. 2).

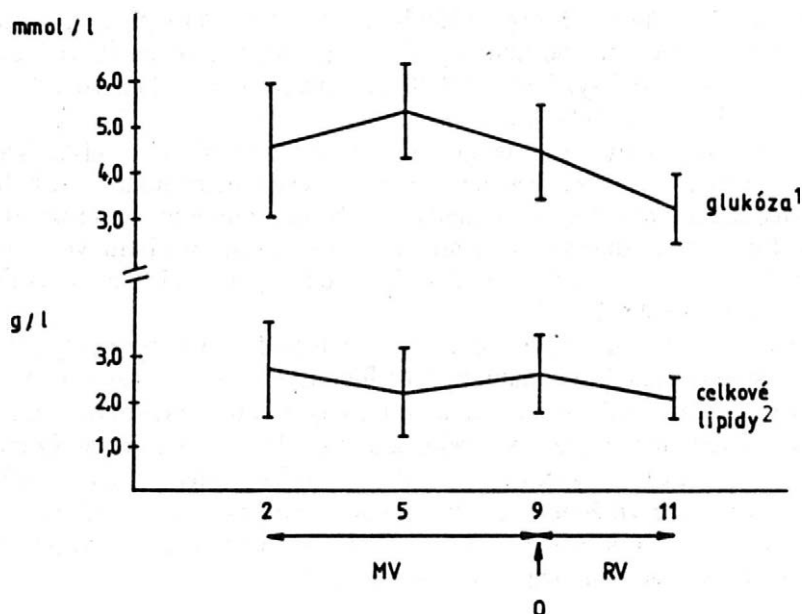
Hladina močoviny v sére teliat mala od veku 5 týždňov po odstav klesajúci charakter. Rozdiely priemerných hodnôt oproti východným hodnotám boli štatisticky nevýznamné a v priemere sa hodnoty pohybovali v referenčnom rozpätí (obr. 1). Pri individuálnom hodnotení sme subnormálne hodnoty zistili vo veku 2 týždne u 28,6 %, vo veku 5 týždňov u 42,9 %, pri odstave u 14,3 % a na rastlinnej výžive u 28,6 % teliat (obr. 2).

Glykémia dosiahla v priemere najvyšších hodnôt vo veku 5 týždňov a potom mala zostupný charakter s najnižšou hodnotou vo veku 11 týždňov, pričom rozdiel oproti východnej hodnote bol významný ($p < 0,01$). Priemerné hladiny glukózy boli v referenčnom rozpätí vo veku 2 a 9 týždňov. Vo veku 5 týždňov boli nad hornou a vo veku 11 týždňov pod dolnou hranicou referenčného rozpätia (obr. 3). Individuálne sme znížené hodnoty glukózy zistili vo veku 2 týždne u 19,1 %, vo veku 5 týždňov u 4,8 % a vo veku 11 týždňov u 57,1 % teliat. Pri odstave sme znížené hodnoty glykémie nezaznamenali (obr. 4).

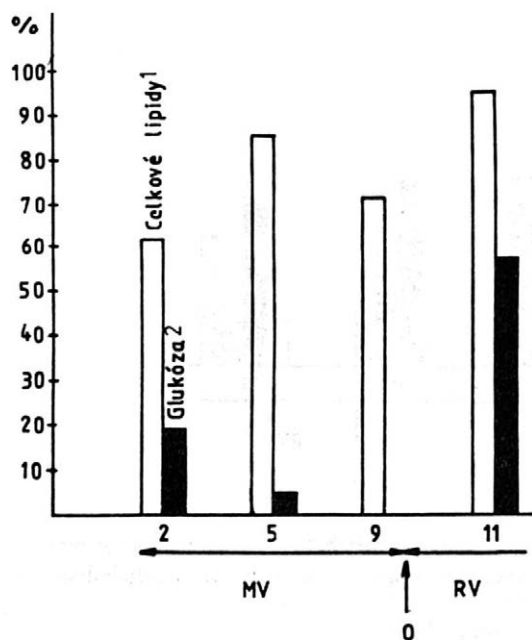


2. Subnormálne hodnoty sledovaných parametrov dusikového metabolizmu v sére teliat pri individuálnom hodnotení - Subnormal values of the investigated parameters of nitrogen metabolism in the serum of individually evaluated calves

¹total proteins, ²albumin, ³total serum immunoglobulins, ⁴urea



3. Hladiny celkových lipidov v sére a glukózy v krvi teliat - The concentration of total lipids in the blood serum and glucose concentrations in the blood of calves
¹glucose, ²total lipids



4. Subnormálne hodnoty celkových lipidov v sére a glukózy v krvi teliat pri individuálnom hodnotení - Subnormal values of total lipids in the blood serum and glucose concentrations in the blood of individually evaluated calves
¹total lipids, ²glucose

Hladina celkových lipidov v sére teliat mala kolísavý charakter so signifikantným rozdielom oproti východzej hodnote u teliat na rastlinnej výžive ($p < 0,05$). Za celé sledované obdobie bola v priemere hladina celkových lipidov pod dolnou hranicou referenčného rozpätia (obr. 3). Individuálne sme subnormálne hodnoty celkových lipidov zistili vo veku 2 týždne u 61,9 %, vo veku 5 týždňov u 85,7 % pri odstave u 71,4 % a na rastlinnej výžive až u 95,2 % teliat (obr. 4).

DISKUSIA

Najcennejšie údaje pre posúdenie dusíkového metabolizmu sa získavajú posúdením obsahu celkovej bielkoviny, albumínov a močoviny v krvi. Pri hodnotení úrovne bielkovinovej výživy teliat na základe našich výsledkov vidieť, že najnižšia priemerná hladina celkových bielkovín v sére bola vo veku 5 týždňov, kedy sme zaznamenali i individuálne najvyššie percento znížených hodnôt CB (19,1 %) a močoviny (42,9 %). Z toho možno usúdiť, že kritické obdobie mliečnej výživy teliat z hľadiska krytia potreby bielkovín je v období od zvozu do piateho týždňa veku teliat, čo koreluje s kritickým obdobím imunodeficiencie, anémie, diarhoického a respiračného syndrómu. V uvedenom období sme zistili individuálne i najvyššie percento subnormálnych hodnôt celkových sérových imunoglobulínov (71,4 % a 42,9 %). Paulík a i. (1983) zistili výskyt subnormálnych hodnôt celkových imunoglobulínov u 74 % a hypoproteinémiu u 24 % teliat a Brešťanský (1982) hypogamaglobulinémiu u 72 % a hypoproteinémiu u 75 % teliat v prvom týždni po narodení. Podobne ako Paulík a i. (1983) a Vajda a Slanina (1980) sme zistili pokles hladiny celkových bielkovín vo veku od 2 do 5 týždňov a potom vzostup počas ďalšieho sledovaného obdobia.

Hladina albumínu v sére teliat vykazovala od veku 5 týždňov štatisticky nevýznamne klesajúcu tendenciu a naopak, hladina celkových sérových imunoglobulínov mala vzostupný charakter. Podporuje to závery viacerých autorov o poklese podielu albumínov v prospech globulínov s pribúdajúcim vekom, čo Kursa a Kroupová (1979) nepotvrdili. Pri individuálnom hodnotení klesalo s vekom percento výskytu subnormálnych hodnôt CS - Ig a percento výskytu znížených hodnôt albumínu v sére teliat bolo najvyššie vo vyššom veku (9 a 11 týždňov). Jagoš a i. (1981) u teliat s narušeným zdravotným stavom v porovnaní so zdravými zvieratami zistili štatisticky nižšie hladiny sérových albumínov, beta - globulínov a plazmatickej glukózy.

Surýnek (1978) zistil najnižšie hodnoty močoviny u teliat vo veku 1 a 2 týždne s postupne vzostupnou tendenciou. V našej práci sme vzostup hladiny močoviny zaznamenali do veku 5 týždňov s poklesom k odstavu a štatisticky nevýznamným vzostupom k veku 11 týždňov.

Subnormálne hodnoty glukózy v krvi teliat v priemere sme zistili len u teliat na rastlinnej výžive, zatiaľ čo hladina celkových lipidov sa pohybovala pod referenčným rozpätím v priebehu celého sledovaného obdobia. Najvyššie percento subnormálnych hodnôt oboch parametrov sme zistili u odstavených teliat. Na rozdiel od Dobšínskej a i. (1981) sme najvyššiu priemernú hladinu glukózy zaznamenali nie vo veku 2 týždne, ale vo veku 5 týždňov. Lebeda (1983) poukazuje

na obmedzené využitie hodnôt glykémie ako ukazovateľa energetickej bilancie organizmu v dôsledku veľkého počtu nezávisle pôsobiacich faktorov. Z našich výsledkov vyplýva, že obsah tuku v našich mliečnych krmných zmesiaci nepostačuje na dosiahnutie referenčnej hladiny celkových lipidov v sére. Na nedostatočné energetické krytie potreby teliat v období mliečnej výživy poukazuje aj V a j d a (1991). Signifikantne vyššie hladiny celkových lipidov v sére teliat napájaných plnotučným mliekom oproti tetatám prijímajúcim mliečnu krmnu zmes zistili D v o ř á k a i. (1986). Viacero autorov sa pokúšalo zvýšiť energetický obsah mliečnych krmných zmesí netradičnými formami. R e p e t t o (1975) použil u teliat pre tieto účely maltodextríny, ale nezistil žiadne významné rozdiely medzi tetatami, ktoré prijímali mliečnu krmnu zmes s maltodextrínmi a tetatami, ktoré dostávali len mliečnu krmnu zmes. C l e e k a i. (1979) preverili vhodnosť perorálnej aplikácie glycidov tetatám vo veku 1 - 3 týždne. Glukóza a pektín vyvolali zhodne výraznú krivku. Po podaní kukuričného sirupu bola krivka plochejšia a podanie sacharózy bolo celkom bez reakcie, čo je v súlade s údajmi R o y a (1980) o veľmi slabej využiteľnosti sacharózy u mladých teliat v dôsledku chýbania sacharázy.

Výsledky našej práce poukazujú na potrebu saturácie energetickej zložky výživy teliat v období mliečnej výživy a odstavu a na zabezpečenie dostatočného príjmu kolostra a mlieka v prvých týždňoch života.

Literatúra

- BREŠŤANSKÝ, I.: Metabolický profil dojnic a teliat vo vzťahu matka - mláďa. *Veterinářství*, 32, 1982, č. 4, s. 156-157.
- BRUGÈRE-PICOUX, J. - BRUGÈRE, H.: Particularités de la biochimie clinique des ruminants. Détermination de valeurs normales usuelles des enzymes sériques. *Recu. Méd. vétér.*, 163, 1987, č. 11, s. 1043-1053.
- CLEEK, J. L. - PHILLIPS, R. W. - JOHNSON, B. D.: Availability of oral carbohydrates to neonatal calves. *J. Amer. veter. Med. Assoc.*, 174, 1979, č. 4, s. 373-377.
- DOBŠINSKÁ, E. - SOVA, Z. - KOPÁČ, V. - TRHOŇ, M.: Závislosť medzi glykémií, askorbémií a hmotnostnými prírústkami u teliat ve veľkokapacitním teletníku. *Veter. Med. (Praha)*, 26, 1981, č. 4, s. 203-212.
- DVOŘÁK, R. - JAGOŠ, P. - SKŘIVÁNEK, M.: Dynamika vybraných biochemických ukazatelů energetického metabolismu u teliat při dvou odlišných způsobech mléčné výživy. *Veter. Med. (Praha)*, 31, 1986, č. 4, s. 193-200.
- INGRAHAM, R. H. - KAPPEL, L. C.: Metabolic profile testing. *Veter. clin. Amer.: Food Anim. Pract.*, 4, 1988, č. 2, s. 391-411.
- JAGOŠ, P. - BOUDA, J. - DVOŘÁK, V. - ONDROVÁ, J.: Srovnání biochemických ukazatelů v krevní plazmě zdravých a nemocných teliat ve veľkokapacitním teletníku. *Veter. Med. (Praha)*, 26, 1981, č. 10, s. 573-580.
- KURSA, J. - KROUPOVÁ, V.: Metabolický profil u teliat. In: Zbor. Ref. Produkcia a zdravie teliat v priemyselných podmienkach chovu. Štrbské Pleso, ČSVTS 1979, s. 134-153.
- LEBEDA, M.: Glykémia dojnic. *Veter. Med. (Praha)*, 28, 1983, č. 1, s. 1-12.
- LOTTHAMMER, K. H. - BOEHNKE, H. J. - MORAWIETZ, M.: Beziehungen zwischen verschiedenen Blutparametern als Kriterien für Stoffwechselstörungen und dem Milchzellgehalt bei Milchrindern. *Dtsch. tierärztl. Wschr.*, 95, 1988, s. 379-384.

- MANCINI, G. - CARBONARY, A. O. - HEREMANS, J. F.: Immunochemical quantitation of antigens by single radial immunodiffusion. *Immunochemistry*, 2, 1965, s. 235-254.
- Mc EWAN, A. D. - FISHER, E. W. - SELMAN, J. E.: Observations on the immunoglobulin levels of neonatal calves and their relationship to disease. *J. comp. Path.*, 80, 1970, č. 2, s. 259-265.
- PAULÍK, Š. - SLANINA, E. - BOMBA, A. - POLÁČEK, M.: Imunobiokovínový profil teliat v zdravotne extrémnych podmienkach. *Veter. Med. (Praha)*, 28, 1983, č. 11, s. 669-678.
- REPETTO, L.: Use of maltodextrins in milk replacers for production of white-veal calves. *Tecnica Molitoria*, 26, 1975, č. 12, s. 81-95.
- ROY, J. H. B.: *The Calf*. London, Butterworths 1980.
- SLANINA, E. - BESEDA, I. - LEHOCKÝ, J. - SOKOL, J. - VAJDA, V. - VÁEKA, J. - VAŠKO, L.: Metabolický profil hovädzieho dobytku vo vzťahu k zdraviu a úžitkovosti. Košice. ŠVS MPVŽ SSR, 1979, s. 21-23.
- SLANINA, E. - BOMBA, A. - BATTA, G. - PAULÍK, Š. - LEHOCKÝ, J. - SOKOL, J.: Mliečna výživa teliat a možnosti jej medikácie preventívnymi a terapeutickými prostriedkami s ohľadom na základné technologické systémy kŕmenia. Učebný test pre účastníkov postgraduálneho štúdia - špecializácia: Chov a choroby hovädzieho dobytku. Bratislava, ÚVIO 1984.
- SURYNEK, J.: Biomedicínsky profil telete. [Doktorská disertace.] Brno, 1978.
- VAJDA, V. - SLANINA, E.: Dynamika imunoglobulínov u teliat v priemyselnom systéme chovu. *Veter. Med. (Praha)*, 25, 1980, č. 9, s. 527-536.
- VAJDA, V. - SLANINA, E. - LEHOCKÝ, J.: Patogenéza anémie teliat v období mliečnej výživy. *Biol. chem. Veter. (Praha)*, 26, 1981, č. 3, s. 263-270.
- VAJDA, V.: Mliečna výživa a využiteľnosť živín u klinicky zdravých a hnačkujúcich teliat. *Veter. Med. (Praha)*, 36, 1991, č. 8, s. 449-458.
- VRZGULA a kol.: Poruchy látkového metabolizmu hospodárskych zvierat a ich prevencia. Bratislava, Príroda 1982.

Došlo 22. 7. 1992

BOMBA, A. - PAULÍK, Š. - KRÁLIČEK, E. - ŽITŇAN, R. - POLÁČEK, M. (Research Institute of Veterinary Medicine, Košice; University of Veterinary Medicine, Košice; Research Institute of Animal Production, Nitra):

The use of some serum and blood parameters for evaluation of the level of nitrogen and energy metabolism in calves.

Vet. Med. - Czech, 38 1993 (3): 151-160.

Concentrations of total proteins, albumin, total serum immunoglobulins, urea and total lipids in the blood serum and glucose concentrations in the blood were investigated in the periods of milk nutrition and weaning, and the results were evaluated with respect to their differences from the range of reference values.

Concentrations of total proteins (TP) in the blood serum significantly decreased if the starting values at the age of two weeks (65,45 g/l) were compared with the values at the age of five weeks, and they began to increase to the age of 11 weeks. The average TP values at the age of 11 weeks were significantly higher ($p < 0.01$) than the starting values (Fig. 1, Tab. I). TP concentrations were above the upper limit of the reference range since weaning (nine weeks of age). Subnormal TP values were recorded in individual animals at the age of two, five weeks, at weaning, at 11 weeks in the animals on all-vegetable diet in 4.8 %, 19.1 %, 4.8 % and 9.5 % of the calves, respectively (Fig. 2).

The albumin concentrations were increasing from the age of five weeks but the changes in the values were statistically insignificant and the average values remained in the reference range (Fig. 1). The reduced albumin concentrations were recorded in individual animals in 28.6 % of the calves at the age of two weeks, in 19.1 % of the calves at the age of five weeks, in 42.9 % of the calves at weaning, and in 38.1 % at the age of 11 weeks.

The concentrations of total serum immunoglobulins (TS-Ig) were increasing since the animal collection with their growing age (Fig. 1) while in comparison with the starting values the increases were significant at the age of five weeks ($p < 0.05$), nine and eleven weeks ($p < 0.01$).

The average TS-Ig values rose to the reference range at the age of five weeks. In individual animals, the reduced TS-Ig values were recorded in the serum at the age of two weeks in 71.4 % of calves, at the age of five weeks in 42.9 %, at weaning in 33.3 % and at the age of 11 weeks it was only in 9.5 % of the calves (Fig. 2).

The urea concentration in the serum was decreasing from the age of five weeks to weaning. In comparison with the starting values, the differences in the average values were statistically insignificant and the average values remained within the reference range (Fig. 1). Subnormal values were determined in 28.6 % of the calves at the age of two weeks when they were evaluated individually, in 42.9 % at the age of 5 weeks, in 14.3 % at weaning and in 28.6 % of the calves on all-vegetable diet (Fig. 2).

Glycaemia had the highest average values at the age of five weeks, then it began to decrease to reach the lowest value at the age of 11 weeks, and the difference from the starting value was significant ($p < 0.01$). The average glucose concentrations remained within the reference range at the age of two and nine weeks. They were above the upper boundary of the reference range at the age of five weeks while at the age of 11 weeks they remained below the lower boundary of the reference range (Fig. 3). In individual animals, the reduced glucose values were recorded in 19.1 % of the calves at the age of two weeks, in 4.8 % at the age of five weeks and in 57.1 % of the calves at the age of 11 weeks. No reduced values of glycaemia were recorded at weaning (Fig. 4).

The concentrations of total lipids in the blood serum fluctuated and the difference from the starting value of the calves on all-vegetable diet was significant ($p < 0.05$). The average concentration of total lipids over the whole period of investigation remained below the lower boundary of the reference range (Fig. 3). Subnormal values of total lipids in individual animals were recorded in 61.9 % of the calves at the age of two weeks, in 85.7 % at the age of five weeks, in 71.4 % at weaning and even in 95.2 % of the calves on all-vegetable diet (Fig. 4).

calves; nitrogen and energy metabolism; milk diet; weaning

Kontaktná adresa:

MVDr. Alojz B o m b a , CSc., Ústav experimentálnej veterinárnej medicíny, Hlinkova 1/A,
040 81 Košice
Tel. 095/37429, fax 095/31853

PŘEHLEDNÝ REFERÁT

SOUČASNÉ POZNATKY O ROTAVIRECH SE ZAMĚŘENÍM NA ROTAVIRY PRASAT

K. Šesták, P. Iša

Výzkumný ústav veterinárního lékařství

Rotaviry, které tvoří jeden z rodů čeledi *Reoviridae*, patří spolu s *Escherichia coli*, transmisivní gastroenteritidou, *Isospora suis* a *Clostridium perfringens* k nejrozšířenějším původcům průjemových onemocnění prasat (Fitzgerald, 1983).

Čeleď *Reoviridae* zahrnuje celkově šest rodů: *Orthoreovirus*, *Orbivirus*, *Rotavirus*, *Phytoreovirus*, *Fijivirus* a *Cypovirus* (tab. I). Rod *Rotavirus* byl pro svoji morfologickou podobnost začleňován až do roku 1976 do rodu *Orthoreovirus*. Jako první rotavirový kmen byl popsán virus epizootické diarrhey sajících myšek (The Epizootic Diarrhea of Infant Mice, EDIM). Prokázalo se, že tento virus je vysoce infekční, rezistentní k tepelným změnám, éteru a má průměr 65-75 nm. V roce 1972 bylo zjištěno, že tento kmen je acidorezistentní a obsahuje vRNA. V následujících letech se prokázala infekčnost bezbakteriálního filtrátu od průjemujících telat po jeho podání zdravým jedincům. Dalším studiem se také ve výkalech telat s gastroenteritidou zjistila přítomnost částic o průměru 65 nm (Kurstak aj., 1978).

Z počátku byl v řazení a taxonomii rotavirů chaos pro jejich podobnost s orthoreoviry a orbiviry. Později, po upřesnění jejich morfologických, biochemických a biofyzikálních vlastností, bylo možné zařadit je samostatně. Stalo se tak Mezinárodním výborem pro taxonomii virů v roce 1976, kdy byl *Rotavirus* začleněn do čeledi *Reoviridae* jako samostatný rod. Rodový název je odvozen z latinského slova *rota* tj. kruhovitý útvar.

Rotaviry obsahují dvouvláknovou RNA, která je uspořádána do 11 segmentů o různé velikosti. Velikost jednotlivých RNA segmentů se liší podle druhu hostitele. Také velikosti některých segmentů různých izolátů stejného druhu jsou různé. Sedimentační koeficient rotavirů se podle druhu hostitele pohybuje v rozmezí od 500 do 530 S. Rotaviry jsou éter- a chloroformrezistentní, dobře přežívají i při pH 3,0. Termolabilní jsou při teplotě 50 °C v přítomnosti MgCl₂.

Morfologicky a biochemicky je rod *Rotavirus* charakterizován v práci autorů Estes a Cohen (1989):

1. Zralé virové částice jsou neobalené a mají několikvrstevný ikosaedrální kapsid, o průměru přibližně 75 nm, složený z vnější vrstvy, vnitřní vrstvy a dřeně.
2. Virový genom je složen z 11 segmentů dvouvláknové RNA (dsRNA).
3. Virové částice obsahují RNA-závislou RNA polymerázu a další enzymy, které jsou schopné produkovat kopie RNA.
4. K replikaci viru dochází v cytoplazmě buněk.
5. Viry jsou schopné genetického přestavění (genetic reassortment).

Rod	Počet segmentů	Hostitel
<i>Orthoreovirus</i>	10	obratlovci
<i>Rotavirus</i>	11	savci
<i>Orbivirus</i>	10	obratlovci, hmyz
<i>Cypovirus</i>	10	hmyz
<i>Phytoreovirus</i>	12	rostliny, hmyz
<i>Fijivirus</i>	10	rostliny, hmyz

6. Kultivace viru je usnadněna působením proteolytických enzymů, které zvyšují infekčnost aktivací vnějšího kapsidového proteinu VP4.

7. Virové částice dozrávají na endoplazmatickém retikulu a obalené jsou v tomto stadiu jen dočasně.

8. Zralé částice jsou uvolňovány z infikovaných buněk lyzí.

Jenom u některých izolátů rodu *Rotavirus* byly popsány všechny tyto charakteristické vlastnosti. Tato skutečnost je pravděpodobně důsledkem nesnadné adaptace rotavirových kmenů na buněčné linie. Mnoho izolátů je zařazeno do tohoto rodu na základě morfologie, přítomnosti 11 segmentů dsRNA nebo křížově reagujících antigenů.

Po tom, co byly v roce 1976 rotaviry poprvé popsány u prasat, se zjistilo, že se pravděpodobně nenachází žádný chov prasat, ve kterém by nebyla zjištěna infekce nebo výskyt rotavirů. Faktory predisponující prasata k onemocnění nejsou úplně známy, ale onemocnění postihuje především sající a odstavená zvířata. Onemocnění většinou selata do věku 4 týdnů, ale infekce a úhyn byly popsány i u selat odstavených v 8 týdnech (B o h l a j., 1978).

U savců je popsán rozvoj rezistence proti onemocnění rotaviry, závislé na věku a nezávislé na rozvoji imunitní odpovědi (W o o d e a j., 1976). Například tenké střevo sajících myšek je citlivé k infekci rotaviry a coxsackieviry, ale odstavené myšky jsou k infekci rezistentní. Je pravděpodobné, že rezistenci závislou na věku umožňují specifické rotavirové receptory na plazmalemě alterovaných pinocytických enterocytů, přičemž dochází k postupnému snižování jejich počtu.

Vysoce rezistentní enterocyty na jedné straně a rotavirové průjmy prasat po odstavu jsou ve vzájemném rozporu. Musíme ale brát v úvahu množství faktorů, které oslabují organismus a umožňují vyvolání onemocnění. Na vzniku onemocnění se může podílet i odstav, tj. zastavení přísunu protilátek z mléka, přechod na pevné krmivo a smíšení různých vrhů ve společné odchovně.

Struktura rotavirů

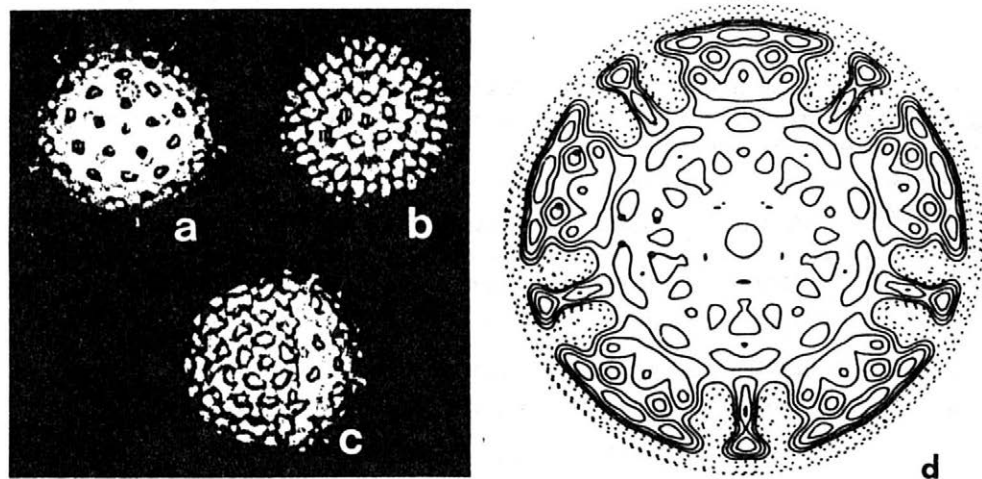
Neporušená rotavirová částice připomíná v elektronovém mikroskopu kolo s krátkými paprsky (loukotěmi) a dobře viditelnou obrubou. Elektronovým mikroskopem pozorujeme tři typy částic: částice se dvěma obaly (double-shelled), částice s jedním obalem (single-shelled) a částice obsahující jenom dřeň. Obaly virionu tvoří vnější a vnitřní

kapsida. Průměrná velikost částic se dvěma obaly je 76,5 nm, jednoobalových 70,5 nm a částic obsahujících dřev 50,0 nm (E s t e s a C o h e n , 1989). Částice obsahující pouze jeden obal mohou vzniknout chemickým narušením vnější kapsidy částice se dvěma obaly. Podobně může vzniknout částice obsahující jenom dřev z jednoobalové částice narušením vnitřní kapsidy. Není známo, zda jsou jednoobalové částice a částice obsahující jenom dřev identické se subvirovými částicemi produkovanými v době virové replikace (E s t e s a C o h e n , 1989).

K ikosahedrální symetrii rotavirové částice je nutné přidat několik charakteristik (obr. 1):

1. Viriony obsahují na svém povrchu výběžky o délce minimálně 10 nm nad povrchem.
2. Na virionech se dají pozorovat dva koncentrické obaly, které jsou perforovány otvory stejné velikosti.
3. Jednotlivé obaly jsou spojeny tzv. sloupky.
4. Centrální dřev je pokryta třetím obalem.
5. Vnitřní kapsidový obal obsahuje 132 kapsomer, vnější obal obsahuje jamky, které odpovídají jamkám na vnitřní kapsidě.

Důležitou složkou struktury rotavirů je přítomnost hrotů o délce 4,5-6,0 nm, přičemž každý je na distálním konci opatřen knoflíčkovitou tlustěninou. Tyto výběžky pokrývají hladký povrch vnější kapsidy. Předpokládá se, že se skládají převážně z dimérů hemaglutininu VP4, o kterém je známo, že se nachází na vnější kapsidě. Výběžky se morfologicky liší u různých kmenů.



1. Tříměrná struktura rotavirových partikulí; a - dvouplášťová částice, b - jednoplášťová částice, c - řez vnější kapsidou odhalující vnitřní obal. Tato struktura byla zjištěna pomocí počítačového zobrazení elektronoptických snímků neobarvených, nefixovaných virových partikulí, zmrazovací technikou. Jsou zde znázorněny i tři typy kanálků (I, II, III) spájících jednotlivé vrstvy a proteinové výběžky vnější vrstvy (v kroužku). d - řez dvouplášťovou částicí, který je kolmý na osu symetrickou podle trojúhelníku: souvislá čára = hmota o vyšší měrné hmotnosti, čára přerušovaná = hmota o nižší měrné hmotnosti (E s t e s a C o h e n , 1989)

Charakteristická struktura rotavirů je dobře viditelná v elektronovém mikroskopu a proto je elektronová mikroskopie jednou ze základních vyšetřovacích metod. Elektronová mikroskopie a průkaz virové RNA jsou vhodné i pro průkaz rotavirů z jiných séro skupin, jako je séro skupina A. Detekce může být ovlivněna způsobem přípravy preparátu. Zatímco negativní barvení pomocí uranylacetátu nebo kyseliny fosfowolframové při nízkém pH (4,5) umožňuje znázornění všech kmenů, zobrazení pomocí kyseliny fosfowolframové při neutrálním pH může mít za následek odstranění vnější kapsidy a její úplné rozložení, zvláště u rotavirů jiných než z A séro skupiny (N a k a t a aj., 1987, S u z u k i aj., 1987).

Podle nejnovějších poznatků se rotaviry skládají z 11 proteinů, z nichž je šest strukturálních a pět nestrukturálních. Čtyři strukturální proteiny VP1,2,3 a 6 se nacházejí v dřeně a vnitřní kapsidě. Zbývající dva strukturální proteiny VP4 a VP7 jsou zjišťovány ve vnější kapsidě (E s t e s a C o h e n , 1989) - tab. II.

Proteiny dřeně a vnitřní kapsidy

VP1 protein je kódován 1. genomovým segmentem a je jedním ze tří proteinů (VP1,2,3) tvořících dřeň. Je to hydrofóbní a slabě zásaditý protein (C o h e n aj., 1989). Malá část tohoto proteinu (přibližně 2 % hmotnosti virionu) se nachází přímo ve virionu, což může naznačovat, že VP1 nemá důležitou strukturální úlohu, spíše je součástí enzymatického komplexu. V souvislosti s tímto tvrzením je zajímavá vzájemná homologie s RNA polymerázami jiných RNA virů, např. s reovirus lambda 3 proteinem a blue-tongue viru P1 proteinem. Zvláštní vlastností VP1 je schopnost reagovat v imunoprecipitacích a imunoblotech s mnohými hyperimunními séry, vyrobenými proti purifikova-

II. Schematický model molekuly rotavirové RNA kmene SA11(E s t e s aj., 1989). Velikost segmentů je 667 - segment č. 11 až 3302 - segment č. 1, párů dusíkatých bází. Dohromady tento genom obsahuje 18 680 párů bází

Segment RNA	Počet bází	Protein	Lokalizace ve virionu	Faktor virulence
1	3302	VP1	vnitřní kůra	hemagglutinin
2	2687	VP2	vnitřní kůra	
3	2591	VP3	vnitřní kůra	
4	2392	VP4	vnější kapsida	
5	1581	NS53	nestrukturální protein	imunogen
6	1356	VP6	vnitřní kapsida	
7	1104	NS34	nestrukturální protein	
8	1059	NS35	nestrukturální protein	
9	1012	VP7	vnější kapsida	hlavní neutral. antigen
10	751	NS28	nestrukturální protein	
11	667	NS26	nestrukturální protein	

ným virovým částicím (E r i c s o n aj., 1982). Imunizace zvířat proteinem VP1 syntetizovaným v bakulovirovém expresním systému ukázala, že tento protein je imunogenní (C o h e n aj., 1989).

Protein VP2 je kódován 2. genomovým segmentem. Ve velké míře je nacházen ve dření částic (B i c a n aj., 1982; L i u aj., 1988) a je třetím proteinem co do množství v částicích se dvěma obaly. VP2 je částečně obnažen na jednoobalových částicích (N o v o a E s p a r z a, 1981). Tuto teorii potvrzuje skutečnost, že protilátky proti VP2 jsou schopny reagovat v ELISA testu s navázanými jednoobalovými částicemi (T a n i g u c h i aj., 1986). VP2 je vysoce imunogenní a sérové protilátky proti tomuto proteinu jsou dobrým ukazatelem infekce (C o n n e r aj., 1988; S v e n s s o n aj., 1987). VP2 je strukturální protein, který má schopnost vázat se na nukleové kyseliny dsRNA, ssRNA a dsDNA (B o y l e a H o l m e s, 1986). VP2 je pavdopodobně nukleokapsidovým proteinem, který se těsně váže na segmenty RNA. Jsou známy epitopy VP2, které jsou ve shodě s podskupinovou specifiitou VP6 (T a n i g u c h i aj., 1986), ale jejich jiné biologické vlastnosti nejsou známy.

VP3 je kódován 3. genomovým segmentem. Je to minoritní strukturální protein, který může v některých případech migrovat s proteinem vnější kapsidy VP4. První práce, které se zabývaly tímto proteinem byly protichůdné. Nejdříve byl pokládán za strukturální protein (S m i t h aj., 1980), později za nestrukturální (A r i a s aj., 1982), nebo za strukturální protein, který se *in vitro* syntetizuje v malém množství, ale rychle (M c C r a e a M c C o r q u o d a l e, 1982). Tyto první práce vycházely z porovnání analýz proteinu 3. genomového segmentu syntetizovaného v infikovaných buňkách s proteinem syntetizovaným v bezbuněčném systému. Sekvence genomového segmentu č. 3 ukazuje, že tento segment kóduje protein o 835 aminokyselinách s předpokládanou molekulovou hmotností 98120. Analýza předpokládané aminokyselinové sekvence ukazuje, že VP3 je základní protein, který obsahuje mnohočetné repetice aminokyselin. Homologie s ostatními RNA polymerázami jiných virů dává tušit, že se podílí na replikaci viru RNA.

VP6 je kódován 6. genomovým segmentem a je hlavním strukturálním proteinem virionu. Je lokalizován na vnějším povrchu částice s jedním obalem. Na povrchu se nachází ve formě triméru. Trimerizace a tvorba tubulů jsou vnitřními vlastnostmi tohoto proteinu, protože VP6 tvoří tyto struktury, i když je syntetizován bez dalších virových proteinů (E s t e s aj., 1987). VP6 získaný z částic také tvoří tubuly a částice podobné virionům při nízkém pH, ale není známo, zda se na těchto reakcích nepodílejí i jiné proteiny (R e a d y a S a b a r a, 1987). Tyto výsledky a biochemické vlastnosti ukazují, že VP6 je ve větším vnitřním spojení s částicí než VP2 (N o v o a E s p a r z a, 1981). Biochemické a imunologické metody byly použity ke zkoumání biologických funkcí VP6 v průběhu virové replikace. Odstranění VP6 z jednoobalových částic mělo za následek ztrátu transkriptázové aktivity. Znovunavrácení odstraněného VP6 obnovilo transkripční aktivitu a přidání nadbytečného VP6 inhibovalo transkripci (B i c a n aj., 1982; S a n d i n o aj., 1986). Tyto experimenty ukázali, že VP6 je potřebný pro polymerázovou aktivitu, ale neukazují přímo, že se podílí na transkripci. VP6 může být důležitou strukturální složkou částice, která se podílí na konformaci a organizaci struktury virové dřeně nebo transkripčního komplexu, který se skládá z jednoho nebo více proteinů. VP6 je vysoce imunogenní a antigenní. Je častým cílovým proteinem při diagnostice.

VP6 obsahuje společné epitopy nesené rotavirovými kmeny skupiny A a může být bez antigenu nebo obsahovat 1., 11. nebo oba antigeny, které nazýváme podskupinovými antigeny (Greenberg aj., 1983a; Kalica aj., 1981; Kapikian aj., 1981; Lambert aj., 1983; Svensson aj., 1988). Není úplně jasné, jestli VP6 hraje úlohu při navození ochranné imunity. Je možné, že pozorovaná neutralizační aktivita VP6 antiséra není specifická, ale je způsobena nespecifickým vyvázáním infekčních částic se dvěma obaly do shluků s jednoobalovými, které se vyskytují ve většině preparátů. Podskupinové epitopy na VP6 zjištěné monoklonálními protilátkami jsou využívány k epidemiologickému monitorování antigenních vlastností různých virových kmenů.

Proteiny vnější kapsidy

Virový protein 4 (VP4) je produktem 4. genomového segmentu. Je to neglykosilovaný vnější kapsidový protein a u mnohých virových kmenů má hemaglutinační aktivitu. Je zodpovědný za mnoho biologicky významných vlastností. VP4 je v přítomnosti trypsinu štěpen na VP5 (mol. hmotnost 60 000) a VP8 (mol. hmotnost 28 000). Toto rozštěpení má za následek zvýšení virové infekčnosti (Espejo aj., 1981; Estes aj., 1981). Zvýšení infekčnosti je provázáno zvýšenou schopností penetrovat do buňky (Kallot aj., 1988). VP4 způsobuje omezení růstu některých rotavirových kmenů na tkáňových kulturách (Greenberg aj., 1983a). Protilátky proti VP4 neutralizují virus *in vitro* a navozují pasivní imunitu (Matsui aj., 1989; Offit aj., 1986a). Předchozí studie ukázaly, že VP4 navozuje ochrannou imunitu zvířat (Offit aj., 1986b) a je imunogenní u dětí a zvířat (Conner aj., 1988; Shaw aj., 1987; Svensson aj., 1987). Mezi lidskými a zvířecími kmeny rotavirů je rozdíl v tom, že VP4 lidský obsahuje 775 aminokyselin, kdežto zvířecí 776 (Gorziglia aj., 1988; Kantharidis aj., 1987). Proto je VP8 lidských kmenů, který vzniká jako štěpný produkt VP4, o jednu aminokyselinu kratší.

Pokusy o lokalizaci dalších funkčních domén VP4 nebyly do této doby úspěšné. Genetická analýza ukázala, že VP4 je hemaglutinin a jeho hemaglutinační aktivita byla potvrzena molekulami VP4 exprimovanými v bakulovirových rekombinantech (Mackow aj., 1989). Místo, kde se VP4 váže na erytrocyty je neznámé, ale těchto míst může být několik, protože monoklonální protilátky proti VP5 a VP8 mohou inhibovat hemaglutinaci (Burns aj., 1988; Greenberg aj., 1983b; Kitaoaka aj., 1986).

VP7 je druhý nejdůležitější kapsidový protein a je kódován 7., 8. nebo 9. genomovým segmentem podle typu rotaviru. Tento vnější kapsidový glykoprotein je vysoce imunogenní a indukuje tvorbu neutralizačních protilátek. Velmi důležité pro zachování neutralizačních epitopů VP7 je zachování disulfidických můstků. Poprvé to bylo dokázáno neschopností produkovat hyperimunní antisérum s neutralizační aktivitou proti VP7, který byl purifikován z denaturovaného polyakrylamidového gelu (Bastardo aj., 1981; Estes a Graham, 1985; Sabara aj., 1985). Neschopnost mnohých monoklonálních protilátek reagovat s VP7 ve Western blotu nebo imunoprecipitaci (Coulson aj., 1985; Gerna aj., 1988; Heath aj., 1986) potvrdily tyto předpoklady. Ukázalo se, že VP7 je protein zodpovědný za navázání virionu na buňku (Matsuno a Inouye, 1983; Sabara aj., 1985). Polyklonální monospecifické protilátky vyrobené proti VP7 blokují adsorpci radioaktivně značených virů na

buňky (Matsuno a Inouye, 1983). Adsorpce rotavirů na tkáňové kultury je nezávislá na působení trypsinu na virion, který je potřebný k získání infekčnosti viru.

Mnoho monoklonálních a polyklonálních protilátek proti VP7 má hemaglutinačně inhibiční aktivitu. Tato aktivita značně komplikuje poznatky získané do této doby, protože VP4 a ne VP7 zastává funkci hemaglutininu. Dokazuje to, že VP4 a VP7 se vzájemně ovlivňují a také je pravděpodobné, že podobné interakce ovlivňují více biologických vlastností těchto virů, které zatím úplně neznáme (Estes a Cohen, 1989).

Nestrukturální proteiny

Naše současné znalosti o funkci nestrukturálních proteinů jsou menší než o proteinech strukturních. V poslední době byly získány některé informace o jejich struktuře a možné funkci.

NS53 je nestrukturální protein, který je u kmene SA11 kódován 5. genomovým segmentem. Tento protein byl zjištěn v infikovaných buňkách, ale ve virových částicích byl nalezen jen některými výzkumnými pracovníky (Arias aj., 1982; Ericson aj., 1982; Holmes, 1983; McCrae a McCorquodale, 1982). NS53 je detekovatelný hlavně v prvních stádiích infekce (Ericson aj., 1982; Novoa a Esparza, 1981). Syntéza tohoto proteinu je pravděpodobně kontrolována, protože v infikovaných buňkách je syntéza NS53 nižší v porovnání s jinými virovými proteiny a v bezbuňkovém systému je syntetizován do větších množství (Ericson aj., 1982; Mason aj., 1983). O mechanismu této regulace není nic známo.

NS35 je kódován v závislosti na virovém kmene genomovým segmentem 7,8 nebo 9. Imunocytochemické pokusy ukázaly, že tento protein je lokalizován ve viroplazmě infikovaných buněk (Petrie aj., 1984). Tyto výsledky ukazují, že NS35 je využíván k replikaci RNA nebo ke sbalení ssRNA do subvirových částic. (Estes aj., 1984) se zabývají možností, že tento protein a ne VP7 je zodpovědný za navázání k buněčnému povrchu. Potom se však dostáváme k otázce, zda je NS35 skutečně nestrukturální protein.

NS34 je u viru SA11 kódován 7. segmentem. Je to lehce kyselý protein (Bott aj., 1984) a je jediným nestrukturálním proteinem, který reaguje s radioaktivně značenou nukleovou kyselinou ve Western blotu (Boyle a Holmes, 1986). NS34 byl objeven v komplexech izolovaných z infikovaných buněk, které vykazovaly replikačnou aktivitu, a v komplexech vytvořených *in vitro* ve spojení s NS53. Tyto výsledky ukazují, že NS34 může být složkou virové replikázy a podobně jako u NS53 jsou potřebné další studie na určení přesné úlohy v replikačním procesu.

NS28 je u kmene SA11 produktem 10. segmentu, který je primárně přepisován s molekulární hmotností 20 000 a později je glykosylován (Ericson aj., 1982; Petrie aj., 1983). Bylo zjištěno, že jednoobalové částice jsou prekurzory částic s dvěma obaly a důležitá úloha NS28 byla odhalena pokusem, při kterém se vyčištěné jednoobalové částice vázaly na endoplazmatické retikulum jenom tehdy, když obsahovalo NS28.

NS26 je proteinový produkt 11. segmentu. Dodnes není úplně jasné, jestli je strukturním nebo nestrukturálním proteinem. Primární translační produkt 11. segmentu kmene SA11 má molekulovou hmotnost 26 000 (Ericson aj., 1982). Do souvislosti se strukturními proteiny se tento protein dává, protože migruje spolu s nízkomolekulárními

proteiny, navázanými na virovou částici, ale ztráta vysokého titru protilátek toto spojení vyvrací (Ericson aj., 1982; Mc Crae a Mc Corquodale, 1982). Tento předpoklad potvrdily studie s mutovanými viry, které ukázaly, že 11. segment kóduje minoritní neutralizační antigen (Matsuno aj., 1980) a po zjištění předpokládané aminokyselinové sekvence se ukázalo, že má velkou sekvenční variabilitu, jak lze očekávat u strukturálního proteinu vnější kapsidy (Ward aj., 1984). Jiní autoři se domnívají, že je to protein nestrukturální (Arias aj., 1984).

ANTIGENNÍ VLASTNOSTI

Do roku 1980 se zdálo, že všechny rotaviry vlastní společné antigeny detekovatelné imunofluorescencí, komplement fixačním testem nebo ELISA testem (Flewett a Woode, 1978; Woode aj., 1976). Proto se rozdělovaly jen do několika druhově specifických sérotypů. Postupně se ukázalo, že tato domněnka není pravdivá. V současnosti je známo, že mnoho izolátů rotavirů neobsahuje křížově reagující antigeny, které by se antigenně shodovaly s původci gastroenteritid mláďat (Bridger, 1987; Nakata aj., 1986; Pedley aj., 1983). Tyto nové poznatky zvýšily potřebu rozvoje sérologického klasifikačního schématu, které by zahrnovalo mnohé skupiny a sérotypy rotavirů.

Do této doby nebyl vypracován oficiální klasifikační systém na zařazení rotavirů. Rotaviry jsou proto zařazovány sérologicky nejdříve do skupin (séroskupin), které obsahují kmeny virů nesoucích křížově reagující antigeny detekovatelné sérologickými testy, jako jsou imunofluorescence, ELISA a imunoelektronová mikroskopie. Celkově bylo popsáno 6 odlišných skupin s označením od A do F (Bridger, 1987; Nakata aj., 1986; Pedley aj., 1983). Skupiny A, B a C byly popsány u lidí a zvířat, skupiny D, E a F jenom u zvířat (Bridger, 1987). Skupina A rotavirů byla popsána jako původce těžkých průjemových onemocnění mláďat. Příslušníci této skupiny mohou také způsobovat onemocnění dospělých, a to častěji, než se původně předpokládalo (Hrdy, 1987). Rotaviry skupiny A dělíme do 11 sérotypů, přitom do jednotlivých sérotypů patří současně lidské i zvířecí izoláty (tab. III). Skupina B rotavirů zahrnuje viry, které jsou spojovány se sezónními průjemovými epidemiemi převážně dospělých v Číně (Chen aj., 1985; Hung aj., 1984; Nakata aj., 1987; Su aj., 1986; Tao, 1988). Rotaviry skupiny C (pararotaviry) byly objeveny v sporadických případech při vypuknutí průjmů u prasat a dětí, ale závažnost a počet těchto onemocnění není znám (Bridger, 1987; Bridger aj., 1986; Snodgrass aj., 1984). Zajímavá je skutečnost, že infekce lidskými rotaviry skupiny C se vyskytují jenom v Číně, ale infekce zvířat této skupiny je rozšířena i do jiných oblastí (Brown aj., 1987; Nakata aj., 1987). O rotavirech z jiných skupin než A je známo velice málo, protože se podařilo kultivovat na buněčných liniích jenom jeden kmen ze skupiny C (Saf aj., 1988). Současné výsledky ukazují, že skupina B a C má strukturální proteiny podobné skupině A.

Rotaviry, zařazené do séroskupin, se rozdělují na sérotypy. Sérotypy jsou definovány pomocí plakredukčního testu nebo fluorescenčním neutralizačním testem (fluorescent focus reduction neutralization assay) s použitím antisér připravených hyperimunizací zvířat purifikovanými virovými částicemi. Tento pokus je založen na měření radioaktivity protilátek s dvěma vnějšími kapsidovými proteiny (VP4 a VP7), které indukují tvorbu protilátek s neutralizační aktivitou (Hoshino aj., 1985; Offit a Bla-

III. Klasifikace rotavirové séro skupiny A na základě specifity hlavního proteinu vnější vrstvy rotavirové partikule - VP7 (E s t e s aj., 1989)

VP7 sérotyp	Lidské kmeny	Kmeny izolované ze zvířat
1	Wa, Ku, RV-4, KB, M37, D, S12, Mont	
2	DS-1, S2, RV-5, RV-6, HN-126, 1076	
3	Ito, Yo, P, M, Nemoto	Si/SA11, Si/RRV:1, Si/RRV:2, Po/CRW-8, Po/MDR-13, Po/AR/76, Ca/K9, Ca/CU-1, La/Ala, La/C-11, La/R-2, Mu/EB, Mu/EW, Eq/H-2, Eq/FI-14, Fe/Taka, Fe/2, Fe/3, Fe/22, Fe/97
4	Hochi, Hosakawa, St Thomas-3, VA70, 57M	Po/Gottfried, Po/SB-1A, PoSB-2, Po/BEN144
5		Po/OSU, Po/TFR-41, Po/EE, Eq/H-1
6		Bo/NCDV, BO/UK, Bo/486, Bo/Rf, Bo/WC3
7		Ch/2, Ty/1
8	69M, B37	
9	WI-61, F45, AU32	
10		Bo/223
11		Po/YM

Druhé zkratky: Si - opičí, Po - prasečí, Bo - bovinní, Eq - koňský, Fe - kočičí, La - králičí, Ch - drůbeží, Ty - krůtí, Ca - psí, Mu - myší

v a t , 1986). V mnoha případech je většina protilátek v hyperimunním séru vytvořena proti glykoproteinu VP7. Vysvětlením tohoto jevu je poznatek, že VP7 tvoří většinu vnější kapsidy purifikovaného virionu a proto, že VP4 se částečně ztrácí v době přípravy a zpracování viru. Proto sérotypy virů určené recipročními neutralizačními pokusy s hyperimunními séry představují většinou typy VP7. Tato vlastnost se používá k přímému charakterizování virů s použitím ELISA testu se specifickými monoklonálními protilátkami proti VP7. Protilátky proti VP4 se nacházejí ve vyšších titrech v rekonvalescenčních sérech. K odlišení jednotlivých sérotypů na základě glykoproteinu VP4 se používají hybridizace a sekvenování 4. genomového segmentu. Tyto pokusy ukázaly, že existuje minimálně 9 typů VP4.

Různé virové izoláty mohou být také rozděleny podle neutralizačních epitopů, lokalizovaných na hlavním polypeptidu vnitřního obalu (VP6). Byly popsány dva takovéto epitopy, nazývané jako podskupinové antigeny.

Rotaviry mohou být charakterizovány na základě přítomnosti VP6 antigenů pomocí podskupinově specifických monoklonálních protilátek. Charakterizace virových kmenů

epitopy na těchto nezávislých antigenech může být použita k epidemiologickým studiím, ke zjišťování přenosu virů a k identifikaci přírodních ohnisek.

Zdá se, že jednoduchou a účinnou klasifikací rotavirových kmenů by mohl být kryptogram, který obsahuje tyto informace: skupina /druh /původce /místo původu /určení kmene /rok /podskupinový antigen. Pro zjednodušení zápisu se používá jednoho písmene. Např. P označuje proteázo-citlivý vnější kapsidový protein VP4, který je u některých kmenů současně hemaglutininem. Písmeno G označuje vnější kapsidový glykoprotein VP7. Tyto značky byly předloženy na Mezinárodním virologickém kongresu v Edmontonu roku 1987. VP6 podskupinový antigen se označuje zkratkou S a jeho dvě skupiny jako SI a SII. U zatím nejlépe prostudovaného rotavirového kmene, opičího SA11, vypadá kryptogram takto: A/SI/S Afrika/SA11/58/G3/P2/SI. Tento zápis ukazuje, že SA11 patří do skupiny A, izolován byl z opic, pochází z jižní Afriky, označení kmene je SA11, izolován byl v roce 1958 a nese 3. typ VP7, 2. typ VP4 a podskupinu I-VP6 (Estes a Cohen, 1989).

Na základě přítomnosti antigenů G a P se mohou vysvětlit některé křížové reakce, protože kmeny s odlišným G antigenem mohou nést některé P determinanty a naopak.

Byl popsán kmen rotavirů prasat, který nese dvojistou VP7 sérotypovou specifitu. Kmen MDR-13 vykazuje křížové antigeny s lidským kmenem RV-3 sérotyp G3 a současně nižší křížovou reaktivitu s TFR-41 sérotyp G5. Proto je možno označit sérotyp VP7 kmene MDR-13 jako G3/5.

KLINICKÉ PŘÍZNAKY

Rotavirová infekce se projevuje různým průběhem onemocnění, a to subklinickým nebo klinickým, s různým stupněm závažnosti. Možné je i letální ukončení jak u kojenců a dětí, tak i mladých zvířat. Jsou také případy onemocnění dospělých. Při onemocnění dospělých většinou chybí příznaky. Převládajícími klinickými příznaky jsou anorexie, skleslost, průjem a dehydratace.

Klinický průběh onemocnění u prasat popsali (W o o d e aj., 1976). Přibližně za 18 až 24 hodin po infekci dochází ke skleslosti a anorexii. Zvířata se nechťejí pohybovat a zvrací. Po několika hodinách se objeví průjem. Selata krmená mléčnou výživou mají průjem žlutý, často se shluky charakteru vloček, zatímco selata krmená tuhou potravou mají průjem žluto- až tmavěšedý. Selata rychle ztrácejí hmotnost. Po skončení anorexie za 24 až 72 hodin po infekci se u selat obnoví jejich chuť k potravě. Klinické příznaky mizí 4 až 6 dní po infekci. Průjem někdy přetrvává 7 až 14 dnů. K uzdravení dojde rychleji, když na 24 hodin nahradíme mléko v potravě vodou. Teplota nebývá zvýšená a udržuje se v rozmezí od 37,0 do 38,8 °C.

Podobné klinické příznaky byly popsány i při průběhu rotavirové infekce u jehňat, telat, hříbat a kroců. Souvislost mezi průjmem a rotaviry byla zjištěna i u myší, opic, potkanů, antilop a jelenů.

Infekce u lidí někdy způsobuje jenom mírné onemocnění nebo nezpůsobí onemocnění vůbec. Když symptomy připomínají infekci, inkubační doba se pohybuje mezi 48 až 72 hodinami. Některé děti v prvních dvou dnech onemocnění zvrací. Průjem se objevuje po různě dlouhé době, je vodnatý, nazelenalý nebo žlutý bez příměsi krve a hlenu. Často je doprovodem znakem horečka od 38 do 39 °C, při dehydrataci až 40 °C. Průběh onemocnění je většinou bez komplikací a trvá 5 až 8 dnů. Ve výjimečných případech končí

po méně než dvou a více než patnácti dnech. V komplikovaných případech může dojít následkem dehydratace a hypertermie i k exitu.

Z vysokého výskytu séropozitivních jedinců mezi lidmi i zvířaty je možno usuzovat, že subklinické rotavirové infekce jsou velmi časté. Z mnoha zvířat a lidí byly společně s rotaviry izolovány parvoviry, koronaviry, adenoviry, astroviry a caliciviry. Také bakteriální infekce, např. kolibacilózy a salmonelózy, se mohou uplatnit po primární infekci rotaviry.

PATOLOGIE A PATOGENEZE

Patologické změny u prasat popsali (W o o d e aj., 1976; L e c c e a K i n g, 1978). Málo je známo o histopatologii přirozeně vzniklé rotavirové infekce. Podrobnější informace jsou známy při experimentálně vyvolaných onemocněních laboratorních zvířat.

Rotavirová infekce většinou postihuje tenké střevo. U telat byly rotaviry detekovány i v plicích a mezenteriálních mízních uzlinách infikovaných zvířat a u infikovaných jehňat byly pomocí IF zjištěny v tlustém střevě. Mírné histopatologické změny byly pozorovány v žaludku a plicích infikovaných prasat, ale tyto změny nebyly spojeny s přítomností virového antigenu.

Rotaviry napadají epitelální buňky na absorpční části klku, ale ne buňky v kryptách. Virové částice byly nalezeny ve vesikulách epitelálních buněk. Postupně dochází ke zkrácení nebo atrofii klků. Enterocyty s mikrokly se ztrácejí ze špičky klku a jsou nahrazovány dlaždicovými buňkami bez mikrokly. V lamina propria se nachází zvýšený počet buněk kruhového tvaru. Postupně, jak infikované buňky migrují na povrch klku, jsou nahrazovány kubickými buňkami z neporušených částí krypt.

Při přirozeném onemocnění lidí bylo popsáno zkrácení klků duodenálních epitelálních buněk a zvýšení počtu retikulum-like buněk v lamina propria. Epitelální buňky byly kubické a nepravidelné. Rotaviry byly zjištěny v cytoplazmě enterocytů v kryptách i klcích od duodena k ileu.

U patogeneze rotavirové infekce jsou důležité různé faktory. Protože poškozené epitelální buňky jsou rychle nahrazeny kubickými nezralými buňkami migrujícími z krypt, vykazuje klkový epitel v době průjmů charakteristické rysy krypt. Takovéto povrchové buňky klku obsahují nižší množství disacharidu, což má za následek sníženou schopnost využívat laktózu z potravy. Laktóza se shromažďuje v tenkém střevě, kde se přednostně adsorbuje voda, což způsobí vysoký osmotický tlak a pozitivní dehydratační efekt. Ztráta adsorpčních buněk v tenkém střevě způsobí maladsorpční syndrom. Když není destrukce enterocytů úplná, má to za následek zánětlivý proces, který způsobí zvýšení peristaltické aktivity. Ta je zodpovědná za rychlejší průchod potravy střevem, čímž se sníží čas k adsorpci vody a trávení a vzniká predispozice k průjmu (K u r s t a k aj., 1978).

Zhoršení průběhu onemocnění rotaviry může způsobit současná infekce jiným mikrobiálním agens, např. *Escherichia coli*, resp. sekundární bakteriální infekce.

DIAGNOSTIKA ROTAVIROVÉ INFEKCE

K průkazu rotavirového agens byly vyvinuty různé metody, které můžeme rozdělit do dvou skupin: první skupinu tvoří metody prokazující přítomnost rotavirového antigenu ve vzorku trusu, druhou skupinu sérologické metody, které zjišťují protilátkovou odpověď na rotavirovou infekci.

Elektronová (EM) a imunoelektronová mikroskopie (IEM)

První zprávy o rotavirové infekci byly spojeny s použitím EM. U dětí byla prokázána přítomnost rotavirových partikulí v epitelálních buňkách sliznice duodena pomocí elektronoptických studií v ultratenkých řezech tohoto orgánu. V dalších pracích byl rotavirus různým způsobem koncentrován ze vzorků pomocí centrifugace, ultracentrifugace, po precipitaci s PEG 6000 apod. (K u r s t a k aj., 1978).

Jednoduchá metoda negativního barvení využívá zvýraznění rotavirových partikulí pomocí různých druhů barviv, např. pomocí kyseliny fosfowolframové. IEM byla rovněž využita řadou autorů. Při této technice jsou virové vzorky smíchány s homologním rekonvalescentním antisérem v různých ředěních a v elektronovém mikroskopu jsou pak pozorovány virové agregáty. Výhoda této metody spočívá v tom, že nečistoty obsažené ve vzorku neovlivní výsledek a záchytnost je vyšší než u jednoduché EM. Minimální potřebná koncentrace viru při IEM je 10^4 /ml, v případě jednoduché EM je to 10^6 /ml (K o r y c h , 1987). Nevýhodou EM je drahé vybavení a nevhodnost pro vyšetřování velkých souborů vzorků.

Imunofluorescenční test (IF)

Technika imunofluorescence byla k detekci rotavirové infekce vyvinuta v roce 1974, kdy se rotavirový antigen prokázal u pacientů, kteří zemřeli s příznaky gastroenteritidy (K u r s t a k aj., 1978). Kryostatové řezy sliznice duodena a jejuna byly v tomto případě inkubovány s antisérem proti rotaviru připraveným na morčeti, následně inkubovány se značeným konjugátem proti morčecímu Ig, který se navázal jen v pozitivním případě. Nepřímá fluorescence byla využita i o rok později k průkazu rotavirového antigenu v cytoplazmě mikrokulů epitelálních buněk duodena dětí s gastroenteritidou. Fluorescenční techniky vyšetřování vzorků feces jsou výhodné diagnostické techniky, protože jsou jednoduché a rychlé. Později byly použity i k průkazu viru množeného na buněčných liniích. Citlivost fluorescenčních technik byla zlepšena použitím nízkooobrátkové centrifugace při adsorpci virionů na buňky nebo inokulací čerstvě trypsinovaných buněk v suspenzi.

Fluorescenční virus precipitační test (FVP)

Tato metoda zjišťuje pomocí fluorescence precipitátu ze vzorků výkalů průjmujících mláďat konjugovaných s anti-rotavirálními protilátkami přítomnost komplexů antigen-protilátka (AG/AB). Tato technika byla použita při průkazu těchto komplexů ve stolici dětí (K u r s t a k aj., 1978). Fluorescenční metody průkazu rotavirového agens se podle některých autorů dají srovnávat s EM. I když je zde výhoda nenáročnosti na drahé technické vybavení, obtížnost vyšetřovat velké množství vzorků stále přetrvává.

Komplement fixační test (KFT)

Další technikou použitelnou k průkazu rotavirového antigenu ve vzorcích výkalů je komplement fixační test. Tato technika není však příliš využívána. Je méně citlivá než EM a IF a i z důvodu možné antikomplementární aktivity vzorků.

Imunoelektroforéza (IEF)

Dosud nejsou shodné názory na imunoelektroforézu jako na průkaznou diagnostickou metodu. Tato technika je založena na tvorbě precipitátů, který se vytváří na základě toho, že antigen (AG) putuje v elektrickém poli směrem k anodě, protilátky (AB) ke katodě a optická reakce nastává v místě jejich střetu. Při interpretaci výsledku je nutné si uvědomit, že konečnou reakci ovlivňuje kromě koncentrace AG a AB i kvalita agarózy. Citlivost této reakce je nižší než EM. Nicméně je to metoda rychlá, levná a nenáročná na technické vybavení.

Radioimunoanalýza (RIA)

RIA je jednou z metod, kterou je možné rotavirus prokázat. Tato technika měří rozsah a intenzitu reakce AG-AB. V tzv. solid phase RIA jsou specifické protilátky přichyceny na pevný podklad - polystyren. K této vrstvě se pak přidává antigen, takže vzniká komplex AG-AB, kde je antigen zjišťován pomocí další vrstvy specifických protilátek značených radioaktivním jódem I 125. Srovnáním s EM je RIA v případě zjišťování rotaviru ze stolice 10x citlivější a v případě detekce purifikovaného rotaviru 100x citlivější. Výsledky jsou získány v průběhu jednoho dne a je možné vyšetřovat velká množství vzorků. Nevýhodou této metody je práce s radioaktivními látkami a drahé odečítací zařízení.

ELISA

Princip ELISA testu je v zásadě shodný s RIA testem, jen pro značení specifického globulinu se místo radioaktivního prvku používá enzym. Tato metoda byla aplikována k detekci imunoglobulinů z lidských výkalů a k průkazu rotaviru z výkalů telat (E l l e n s a D e L e e u w , 1977). Specifické protilátky jsou navázány na pevný podklad, kterým je mikrotitrační destička nebo polystyrenová zkuševka. Vzorek fekálního extraktu je přidán do této fáze. Po promytí je přidán opět antirotavirový imunoglobulin značený enzymem jako alkalická fosfatáza nebo peroxidáza. Intenzita barevné reakce, kterou v případě pozitivní vazby způsobí enzym, je odečítána kolorimetricky. Tato metoda byla úspěšně využita při detekci různých rotavirových sérotypů. ELISA má řadu výhod oproti ostatním diagnostickým metodám. Je to metoda rychlá, stejně citlivá jako RIA metoda, citlivější než EM, IF, CFT, IEP. Navíc ve srovnání s RIA metodou využívá ELISA metody reagenty, které jsou stabilní a neradioaktivní. Vyšetřit lze i velké množství vzorků a reakci lze posoudit i pouhým zrakem. V současné době je v našem státě dostupný komerční set pro průkaz rotavirů, vyráběný pro veterinární účely (R o d á k aj., 1984). ELISA souprava k průkazu rotavirů ve výkalech telat, výrobcem je Bioveta Ivanovice na Hané. Dále byly na VÚVeL Brno vyvinuty ELISA soupravy k průkazu rotavirů i u prasat a ELISA souprava k průkazu antirotavirových a současně antikoronavirových protilátek (F r a n z aj., 1990).

Imunoperoxidázový test (IP)

Další metoda používaná k detekci rotavirového antigenu a protilátek je imunoperoxidázová technika. Tato metoda je podobná metodě IF a RIA, ale protilátky jsou místo fluochromu, resp. radioaktivního jódu značeny enzymem - křenovou peroxidázou. Apli-

kace této metody byla popsána autory K u r s t a k aj. (1978). IP techniky jsou techniky značených protilátek (přímá, nepřímá a antikomplement IP metoda) a nekovalentně značená peroxidáza antiperoxidázou, tzv. PAP metoda. Přímá IP technika je stejně citlivá jako přímá IF. Výhody IP metod jsou: jednoduchost, citlivost, použití pouze světelného mikroskopu, preparáty mohou být uchovávány delší dobu, virus je prokazován i na úrovni ultrastruktur.

Latexová aglutinace (LA)

Jednoduchá a rychlá metoda umožňující průkaz rotavirů z extraktu výkalů. Principem této reakce je aglutinace, která vzniká na bázi reakce mezi dvěma substráty, kterými jsou: 1. latexové částice potažené antirotavirovými protilátkami, 2. 10% extrakt výkalů, jako vyšetřovaný materiál. Obě složky se smíchají na skle v poměru 1 : 1 a v případě komplementarity virového antigenu a specifického séra vzniká asi za 1 min precipitát. Tuto metodu popsal několik autorů, kteří její citlivost přirovnávají k EM (K a n g aj., 1985). Je nutno podotknout, že příprava latexového konjugátu vyžaduje kvalitu výchozích substrátů, jako je homogennost a dostatečná koncentrace imunoglobulinů.

Sérologické metody

Sérologické metody k diagnostice rotavirové infekce zahrnují imunoelektronovou mikroskopii (IEM), imunofluorescenční test (IF), komplement fixační test (KFT), imunoelektroforézu (IEF), RIA, hemaglutinačně inhibiční test (HIT), ELISA. T h o u - l e s s aj., (1977) prokázali u rotavirů člověka, telete, hřiběte, selete a myši reakci s rekonvalescentním sérem všech těchto druhů pomocí KFT tak, že nebylo možné rozlišit druhovou specifitu. Tentýž autor potvrdil pomocí VNT druhově specifické protilátky. V této práci se prokázalo, že rotavirus je neutralizován homologním rekonvalescentním sérem. Pouze u myšního rotaviru se vyskytly křížové reakce. U bovinního, lidského a opičího rotaviru byla prokázána přítomnost hemaglutininu, ale pouze u virionů, které nepostrádaly vnější povrchovou vrstvu. Tato skutečnost vedla k rozvinutí hemaglutinačního testu a hemaglutinačně inhibičního testu. První je vhodný k průkazu virového antigenu z extraktu výkalů a druhý, podobně jako VNT, k průkazu antivirových protilátek.

Využití metod molekulární biologie při zjišťování rotavirového agens

Tyto metody v různých variacích vycházejí z průkazu a specifikace rotavirové RNA. V současnosti jsou to: elektroforéza rotavirové RNA, RNA-RNA hybridizace a polymerázová řetězová reakce (PCR) - P e d l e y aj. (1983), N a k a g o m i aj. (1987), G o u v e a aj. (1991). Výhodou těchto metod je kromě přímého průkazu specifické RNA také to, že pomocí nich lze sledovat epidemiologii, resp. epizootologii rotavirových nákaz, dále sledovat přímo genetické změny, které jsou *in vivo* u rotavirů časté, a metodou RNA-RNA hybridizace, určovat i vzájemnou genetickou příbuznost jednotlivých kmenů bez ohledu na klasifikaci vycházející z podstaty povrchových antigenů. Tím vzniká z hlediska systematiky a názorů na fylogenezi rotavirů zcela nový pohled (N a k a g o m i aj., 1990).

Nejčastější výskyt rotavirových průjmů se u prasat vztahuje k věku 1-4 týdnů, i když nemoc spojená s průjmem byla popsána i v 8 a více týdnech věku.

Z hlediska diferenciální diagnostiky v tomto věku přichází v úvahu jako další příčina infekčního průjmu zejména *E. coli*, transmisivní gastroenteritida prasat (TGE), *Clostridium perfringens* a *Isospora suis*. Z uvedených agens je virového původu jenom TGE (koronavirus), který však napadá buňky nejenom na absorpční části klku ale i mitoticky aktivní buňky v kryptách, čímž se celková alterace organismu výrazně zvyšuje. Ve výkalech se v případě TGE objevuje i krev a postiženy jsou spravidla všechny kategorie prasat. Mortalita, která u rotavirů nepřesahuje hranici 10 %, u TGE dosahuje v 1. týdnu věku až 100 % (G e l d b e r g, 1989).

U odstavených selat přichází do úvahy ještě koronavirus způsobující epizootickou diarehu prasat (EDP), kterého odlišení od rotaviru vyžaduje laboratorní, nejlépe elektronmikroskopické vyšetření feces.

KULTIVACE ROTAVIRŮ *IN VITRO*

Protože techniky kultivace virů *in vitro* skýtají množství výhod ve srovnání s technikami kultivace *in vivo* a také z důvodu izolace, charakteristiky, produkce vakcín a rozvoje diagnostických testů, bylo věnováno adaptaci rotavirových kmenů na tkáňové kultury mnoho úsilí. Poprvé adaptované rotavirové kmeny byly SALL a O-agens na buňkách opičích ledvin VMK (K u r s t a k aj., 1978). Dalším kmenem byl bovinní rotavirus adaptovaný na primární buňky telecí ledviny FBK. Propagace cytopatického bovinního rotaviru na buněčných liniích telecích ledvin byla úspěšná později: kmen NCDV byl adaptován na několik buněčných linií a cytopatického efektu bylo dosaženo na PK-15, u buněk embryonální bovinní trachey, jehněčích ledvin a L-buněk. Byla zjištěna infekčnost lidského rotaviru na lidské embryonální ledvině, lidský rotavirus Wa byl adaptován k růstu na buněčných liniích opičích ledvin po předchozích 11 pasážích na SPF selatech, myši a lidský rotavirus byly adaptovány na střevní epiteliální buňky atd. Vzorky obsahující příliš velké množství virových partikulí se ukázaly být málo infekční. Úspěch infekce se zvýšil centrifugací virové suspenze na buňky.

Cytopatický efekt prasečího rotaviru na MA-104 buňkách je charakteristický cytoplazmatickou vakuolizací, eozinofilními cytoplazmatickými inkluzemi a degenerací buněk, která je provázena jejich vypadáváním z monolayeru (K u r s t a k aj., 1978). IF-barvení ukazuje na přítomnost rotavirového antigenu v cytoplazmě infikovaných buněk.

Morfogeneze prasečího rotaviru na buněčných kulturách prasečích ledvin je podobná morfogenezi pozorované na epiteliích tenkého střeva *in vivo*. Byla zjištěna přítomnost virových partikulí v cytoplazmě a akumulace virionů uvnitř cisteren drsného endoplazmatického retikula. V infikovaných buňkách byly popsány částice o průměru 77 nm s dvěma vnějšími obaly (ds), dále částice s jedním vnějším obalem (ss) o průměru 70,5 nm a nukleotidy o průměru 50 nm. Virové partikule získaly vnější vrstvu v procesu dozrávání na membránách drsného endoplazmatického retikula. V některých infikovaných buňkách byly pozorovány v jádrech tubulózní útvary. Virus byl uvolňován do vnějšího prostředí dezintegrací cytoplazmatické membrány infikovaných buněk. Pozo-

rování morfogeneze bovinního rotaviru na buněčné linii MDBK přineslo podobné výsledky (K u r s t a k aj., 1978). Když byly linie PK-15 infikovány prasečím nebo jehněčím rotavirem, který nebyl ještě adaptován k růstu na buňkách, byly pozorovány rozdíly v morfogenezi *in vivo* a *in vitro*, které se projeví v generaci virových partikulí, které postrádaly dřev. Počet těchto částic se zvyšoval se zvyšující se multiplicitou infekce. Protože adaptace rotavirů na růst *in vitro* je obtížný úkol, bylo provedeno několik studií k objasnění tohoto problému. Vzhledem k tomu, že v přírodě se rotaviry množí v epitelálních buňkách tenkého střeva, byla vyslovena domněnka, že jejich replikace může probíhat pouze v diferencovaných buňkách. Také byl vysloven názor, že laktáza přítomná v řasinkovém lemu střevních epitelů slouží jako startovací enzym rotavirů. Naproti tomu však bylo prokázáno, že PK-15 buňky mohou být infikovány prasečím a jehněčím rotavirem, který není adaptován k růstu na buněčných kulturách. Byla vyslovena teorie, že důležitým momentem při kultivaci rotavirů *in vitro* je prostupnost buňky. V roce 1978 byla zjištěna nezbytnost pankreatických enzymů k rotavirové infekci (K u r s t a k aj., 1978). Tyto enzymy mohou aktivovat neinfekční partikule na infekční v časně fázi infekce, tj. během iniciace interakce mezi virionem a povrchem buňky. Vzorky feces mohou být pro buněčné kultury infekční díky aktivitě endogenních enzymů, ale progonní virové partikule vyžadují novou expozici pankreatickými enzymy. Bylo zjištěno, že pankreatické enzymy jsou esenciální pro infekci buněčných kultur primárních prasečích ledvin prasečím rotavirem. Trypsin - jeden ze tří enzymů pankreatického extraktu je částečně odpovědný za růst rotavirů *in vitro*. Kromě toho bylo potvrzeno, že čerstvě trypsinované buňky v suspenzi byly k rotavirové infekci citlivější než buňky netrypsinované. Tvorba plaků byla popsána u bovinního kmene NCDV na monolayeru buněk MA-104, když jako udržovací médium byl použit dextran DEAE obsahující trypsin.

EPIDEMIOLOGIE

Na celém světě je rotavirus hlavní příčinou průjmů u dětí a mláďat hospodářských zvířat (E s t e s a C o h e n, 1989). Rotavirus byl kromě člověka popsán u telat, selat, jehňat, myši, opic, hřibů, jelenů, králíků, antilop, ale i u ptáků a ryb. U člověka byla rotavirová gastroenteritida popsána více autory jako sezónní nemoc. Např. 64 % dětských pacientů s gastroenteritidou, hospitalizovaných v roce 1977 na klinice v Torontu, vylučovalo rotaviry v lednu a únoru, kdežto v červnu a červenci kleslo toto procento na 7 (K u r s t a k aj., 1978). Podobné výsledky byly popsány v Anglii, Francii a Japonsku. Naproti tomu v novějších pracích někteří autoři popírají takto popsanou sezónnost rotavirových nákaz, např. U t r e r a aj., (1984) zjistili ve Venezuele u dětí vyšší incidenci rotavirových průjmů během měsíců sucha. M o e a S h i r l e y, (1982) popsali optimální podmínky přežívání rotavirů při nízké relativní vlhkosti a teplotě 4 až 20 °C. U mláďat hospodářských zvířat nebyla sezónní incidence zaznamenána.

V chovech prasat se rotavirové infekce vyskytují jako enzoocie. Koloběh těchto enzoocií byl studován v Belgii v chovech s uzavřeným obratem stáda (D e b o u c k aj., 1983). V týdenních intervalech bylo od narození vyšetřováno 68 vrhů ze tří farem. Rotavirus skupiny A byl zjištěn v 91 až 100 % vrhů do věku 5 týdnů. V jedné třetině vrhů byla exkrece rotavirů zjištěna do věku 10 dnů. Exkrece rotavirů skupiny C byla pozorována později než do tří týdnů věku (D e b o u c k aj., 1983). Druhá fáze vyluč-

čování rotavirů u prasat byla pozorována 3 až 4 týdny následovně po první fázi (Tzipori a Williams, 1978; De Leeuw aj., 1979; Debouck aj., 1983). Není známo, proč se tyto reexkrece u prasat vyskytují. Faktorem, který má v epizootologii rotavirových infekcí význam, je častý vznik genetických mutací *in vivo*, podobně jako je tomu u viru influenzy. Segmentovaná struktura rotavirové RNA k tomu dává dobrou možnost, zvláště probíhá-li infekce jako smíšená, tj. několika kmeny. Změny v antigenní struktuře byly popsány u lidského a bovinního rotaviru jako následek těchto mutací (Theil aj., 1981; Follet a Desselberger, 1983). Ve výkalech mohou infikovaná selata vylučovat až 10^7 virových partikulí na g trusu.

Rotaviry jsou extrémně rezistentní k podmínkám vnějšího prostředí. I při důsledném turnusovém odchovu mohou přetrvávat v porodních stájích. Benfield aj., (1982) popsali exkrece rotavirů u prasnic v době porodu, ale je nepravděpodobné, že toto je hlavní zdroj infekce sajících selat. Prasnice se reinfikují pravděpodobně od selat každou laktaci. Bohla Saif (1981) zaznamenali vzestup protilátek v mléce tři týdny po tom, co selata začala vylučovat virus. Koloběh exkrece rotaviru není výrazně ovlivněn systémem chovu, ale v kontinuálních provozech stoupá počet subklinických infekcí (Debouck aj., 1983).

Vliv systému ustájení byl studován v Dánsku (Svensmark, 1983). Autor zjistil větší vylučování rotaviru u selat chovaných na podlaže bez podestýlky než u selat chovaných na slámě.

Aktivní imunizace prasat

Rotaviry způsobují infekce tenkého střeva. Cirkulující protilátky nemají protektivní význam, jsou pouze indikátorem toho, jestli zvíře rotavirem infikované už bylo, resp. získalo protilátky kolostrální. Protekci k rotavirové infekci mohou zabezpečit pouze IgA přítomné ve střevě. Bezprostředně po rotavirové infekci nastává ve střevním epitelu prasete následující proces: Lymfoblasty, které jsou ve střevním epitelu senzibilizovány, odcházejí do krevního řečiště, aby se vrátili už jako částečně maturované plazmatické buňky, které pak ve střevním lumeny secernují IgA, které jsou schopny neutralizovat rotaviry (Husband a Watson, 1978; Vonderfecht a Osburn, 1982; Cortier a Vanier, 1983).

Málo je zatím známo o perzistenci této lokální imunity, která je jako u většiny enterálních infekcí krátkého trvání, i když paměťové buňky přežívají. Rotavirové protilátky byly zjištěny ve výkalech 5 až 10 dní po experimentální infekci selat (Corthier a Vanier, 1983). Prasata infikovaná rotavirem, která byla za 14 až 21 dní podrobena čelenži, získala vůči infekci kompletní imunitu (Gaul aj., 1982). Byla popsána protekce vůči onemocnění, ale ne proti reinfekci u prasat čelenžovaných za 28 dní po první infekci. Reinfekce se u rotavirů vyskytují pravidelně. Když uvažujeme o protekci vůči reinfekci, je nutno vzít v úvahu rotavirové skupiny a sérotypy. Rotavirus z jiné skupiny reaguje jako jiný virus a zkříženou protekci nemůže navodit (Saif aj., 1980). Rozsah vzájemné protekce mezi různými sérotypy jedné skupiny není přesně determinován. Tzipori a Williams, (1978) prokázali zkříženou protekci zabezpečující odolnost vůči nemoci, ale ne vůči infekci, i když se jednalo o rota sérotypy odlišných živočišných druhů.

V ČSFR se v chovech prasat v indikovaných případech používá k prohloubení aktivní imunity prasnic před porodem injekční vakcína Surakol, která obsahuje inaktivovaný rotavirus prasat a hlavní protektivní antigeny bakterie *Escherichia coli*. Výrobce vakcíny je Bioveta Nitra.

Pasivní imunizace prasat

Sérové protilátky kolostrálního nebo jiného původu nechrání mládě před infekcí. Střevo sajících selat je první týden laktace zabezpečeno konstantní hladinou IgA z mléka prasnice (laktogenní imunita) - Hess a Bachman (1981), Debouck a Pensaert (1983). Subklinické rotavirové infekce jsou u sajících selat časté. Laktogenní imunita totiž nevylučuje možnost subklinické infekce. Bylo popsáno, že mléko obsahuje faktor tzv. trypsin inhibitor, který negativně ovlivňuje průběh infekce (McLean a Holmes, 1981; Totterdell aj., 1982).

PREVENCE A LÉČBA PRASAT

Náhradní výživa časně odstavených selat přináší vysoké riziko rotavirových průjmů. Profylaxe za těchto okolností není lehký úkol i za předpokladu dodržování hygienického režimu a turnusového chovu. Atenuované živé vakcíny používané pro orální imunizaci u telat jsou pro selata infekční (Lecce a King, 1979; Bohl a Saif, 1981). Vznik vakcíny proti prasečímu rotaviru se vztahuje k USA, ale chybí zpráva o tom, zda byla tato vakcína u časně odstavených selat úspěšná. Náhradní výživa selat obsahující boviní kolostrum přináší efektivní výsledky při zvládnutí rotavirové infekce (Bridger a Brown, 1981; Lecce a King, 1981). Z toho vyplývá, že křížová protekce může existovat *in vivo* i mezi sérotypy rozdílných živočišných druhů.

Experimenty s heterologními vakcínami a klinické studie dětí v Austrálii vedly ke stejným závěrům (Wyatt aj., 1979; Zissis aj., 1983; Bishop aj., 1983).

Další koncepce profylaxe virových enteritid sajících mláďat je založena na předcházející imunizaci matek (Bohl a Saif, 1981). Orální vakcinace sajících selat je problematická z důvodu neutralizace vakcinačního viru kolostrálními a mléčnými protilátkami. Vystává otázka kdy je nejvhodnější doba pro vakcinaci prasnice. Většina prasnic má mléčné protilátky anti-rota, které v mléce přetrvávají první 2 až 3 týdny po porodu. Imunita prasnic je aktivována každou laktací, takže každý nový vrh získá určitou kolostrální a laktogenní imunitu. Imunita prvnicek je někdy nízká, to znamená, že jejich první vrh je proti infekci chráněn nedostatečně. Další reinfekce ve stádě však zesílí imunitu primipar, kterou předají tyto prasnice na svůj druhý vrh. Posílení imunity prasnic můžeme dosáhnout i zkrmováním diarreických feces selat březím prasnicím. Imunizaci prasnic nedosáhneme zastavením rotavirového průjmu, pokud nebudou paralelně zabezpečena striktní hygienická opatření: Porodny musí být rozděleny do jednotek, kde jsou turnusové skupiny kojících prasnic. Po vyprázdnění těchto jednotek musí proběhnout kompletní dezinfekce. Fumigace formaldehydem je neefektivnější způsob, ale v tom případě musí být jednotka vzduchotěsně izolována od ostatních. Také může být použit chloramin (Sattar aj., 1983). Jestliže i při dodržení těchto opatření přetrvává rotavirový průjem, můžeme přistoupit k vakcinaci březích prasnic. Bohl a Saif (1981) doporučují zesílení produkce IgA protilátek intramuskulární vakcinací prasnic živou atenuovanou vakcínou 7 dní před porodem. Doba protekce se však

neprolouží. Terapeutická opatření proti následkům rotavirového průjmu směřují k minimalizaci dehydratace a váhové ztráty. U odstavených selat se doporučuje nahrazení mléka vodou nebo podávání glukózových elektrolytů *ad libidum* (B y w a t e r a W o o d e, 1980).

ZÁVĚR

Rotavirus je jedním ze šesti rodů patřících do čeledi *Reoviridae* (S a m u e l a j., 1988). Z etiologických agens způsobujících gastroenteritidy dětí a mláďat je rotavirus na prvním místě (C u k o r a j., 1984). Charakteristika rodu *Rotavirus*: Zralé virové částice jsou neobalené, obsahují několikavrstevný proteinový kapsid, přičemž virion má průměr 75 nm včetně vnější vrstvy, vnitřní vrstvy a dřeně. Virová dvouvláknitá RNA se skládá z 11 segmentů, viriony obsahují RNA - dependentní RNA polymerázu, virus se replikuje v cytoplazmě infikovaných buněk, genom rotavirů je schopen mutovat, kultivace *in vitro* je usnadňována ošetřením viru proteolytickým enzymem, který aktivuje protein vnější vrstvy VP4, virové partikule dozrávají na membránách endoplazmatického retikula, zralé viriony se dostávají do vnějšího prostředí buněčnou lyzí.

Jen málo rotavirových kmenů má všechny tyto vlastnosti. Většina izolátů byla zařazena do rodu *Rotavirus* na základě charakteristické morfologie, přítomnosti 11 RNA segmentů a křížové antigenní reaktivity (E s t e s a C o h e n, 1989). I když oficiálně nebyl přijat žádný systém klasifikace rotavirů, sérologicky se rotaviry rozdělují do šesti skupin (séroskupina A až F). Skupinově reagující antigeny je možné prokázat IF, IEM, ELISA testem. Séroskupiny A,B,C byly zjištěny u lidí i u zvířat, kdežto séroskupiny D,E,F jenom u zvířat (B r i d g e r a j., 1987). Skupina, která je nejčastěji spojována s výskytem průjmů dětí a mláďat, je skupina A (H r d y a j., 1987). Dva hlavní povrchové neutralizační antigeny jsou VP4 a VP7. Ve většině případů má hyperimunní sérum predominantní aktivitu proti VP7, proto klasifikace skupiny A je odvozena od tohoto proteinu (E s t e s a C o h e n, 1989). V současnosti existuje v rámci séroskupiny A celkově 11 sérotypů, přičemž rotaviry prasat (11 kmenů) patří do čtyř z nich (E s t e s a C o h e n, 1989).

Literatura

- ARIAS, C. F. - LOPEZ, S. - BELL, J. R. - STRAUSS, J. H.: Primary structure of the neutralization antigen of simian rotavirus SA11 as deduced from cDNA sequence. *J.Virol.*, 50, 1984, s. 657-661.
- ARIAS, C. F. - LOPEZ, S. - ESPEJO, R. T.: Gene protein products of SA11 simian rotavirus genome. *J.Virol.*, 41, 1982, s. 42-50.
- BASTARDO, J. W. - Mc KIMM-BRESCHKIN, J. L. - SONZA, S. - MERCER, L. D. - HOLMES, I. H.: Preparation and characterization of antisera to electrophoretically purified SA11 virus polypeptides. *Infect. Immun.*, 34, 1981, s. 641-647.
- BENFIELD, D. A. - STOTZ, I. - MOORE, R. - Mc ADARAGH, J. P.: Shedding of rotavirus in feces sows before and after farrowing. *J. clin. Microbiol.*, 16, 1982, s. 186-190.
- BICAN, P. - COHEN, J. - CHARPILLENNE, A. - SCHERRER, R.: Purification and characterization of bovine rotavirus cores. *J.Virol.*, 43, 1982, s. 1113-1117.

- BISHOP, R. F. - BARNES, G. L. - CIPRIANI, E. - LUND, J. S.: Clinical immunity after neonatal rotavirus infection. A prospective longitudinal study in young children. *New Engl. J. Med.*, 309, 1983, s. 72-76.
- BOHL, E. H.: Rotavirus diarrhoea in pigs: brief review. *J. Amer. veter. med. Assoc.*, 174, 1979, s. 6613-615.
- BOHL, E. H. - SAIF, L. J.: Passive immunity against enteric viral infections of piglets. *Curr. Top. Veter. Med. Anim. Sci.*, 12, 1981, s. 259-278.
- BOHL, E. H., - KOHLER, E. H. - SAIF, L. J. - CROSS, R. F. - AGNES, A. G. - THEIL, K. W.: Rotaviruses as a cause of diarrhoea in pigs. *J. Amer. veter. med. Assoc.*, 172, 1978, s. 458-463.
- BOTH, G. W. - BELLAMY, A. R. - SIEGMAN, L. G.: Nucleotide sequence of the dsRNA genomic segment 7 of simian 11 rotavirus. *Nucleic Acids Res.*, 12, 1984, s. 1621-1626.
- BOYLE, J. F. - HOLMES, K. V.: RNA-binding proteins of bovine rotavirus. *J. Virol.*, 58, 1986, s. 561-568.
- BRIDGER, J. C.: Novel rotaviruses in animals and man. *CIBA Found.Symp.*, 128, 1987, s. 6-23.
- BRIDGER, J. C. - BROWN, J. F.: Development of immunity to porcine rotavirus in piglets protected from disease by bovine colostrum. *Infect.Immun.*, 31, 1981, s. 906-910.
- BRIDGER, J. C. - PEDLEY, S. - Mc CRAE, M. A.: Group C rotaviruses in humans. *J. clin. Microbiol.*, 23, 1986, s. 760-763.
- BROWN, D. W. G., - BEARDS, G. M. - CHEN, G. M. - FLEWETT, T. H.: Prevalence of antibody to group B (atypical) rotavirus in humans and animals. *J. clin. Microbiol.*, 25, 1987, s. 316-319.
- BURNS, J. W. - GREENBERG, H. B. - SHAW, R. D. - ESTES, M. K.: Functional and topographical analyses of epitopes on the hemagglutinin /VP4/ of the simian rotavirus SA11. *J.Virol.*, 62, 1988, s. 2164-2172.
- BYWATER, R. J. - WOODE, G. N.: Oral fluid replacement by a glucose glycine electrolyte formulation in *Escherichia coli* and rotavirus diarrhoea in pigs. *Veter. Rec.*, 106, 1980, s. 75-78.
- CHEN, G. M. - HUNG, T. - BRIDGER, J. C. - Mc CRAE, M. A.: Chinese adult rotavirus is a group B rotavirus. *Lancet*, 11, 1985, s. 1123-1124.
- COHEN, J. - CHARPILLENNE, A. - CHILMONCZYK, S. - ESTES, M. K.: Nucleotide sequence of bovine rotavirus gene 1 and expression of the gene product in baculovirus. *Virology*, 171, 1989, s. 131-140.
- CONNER, M. E. - ESTES, M. K. - GRAHAM, D. Y.: Rabbit model of rotavirus infection. *J. Virol.*, 62, 1988, s. 1625-1633.
- CORTHIER, G. - VANNIER, P.: Production of coproantibodies and immune complexes in piglets infected with rotavirus. *J. Infect. Diseases*, 147, 1983, s. 293-296.
- COULSON, B. S. - FOWLER, K. J. - BISHOP, R. F. - COTTON, R. G. H.: Neutralizing monoklonal antibodies to human rotavirus and indications of antigenic drift among strains from neonates. *J.Virol.*, 54, 1985, s. 14-20.
- CUKOR, G. - BLACKLOW, N. R.: Human viral gastroenteritis. *Microbiol. Rev.*, 48, 1984, s. 157-179.
- DEBOUCK, P. - PENSART, M.: Rotavirus excretion in suckling pigs followed under field circumstances. *Ann. Rech. Veter.*, 14, 1983, s. 447-448.
- DEBOUCK, P. - CALLEBAUT, P. - PENSART, M.: The pattern of rotavirus and pararotavirus excretions in pigs on closed swine herds. In: *Proceedings of the Fourth International Symposium of Neonatal Diarrhea*. Saskatoon, Canada, VIDO 1983, s. 77-89.
- De LEEUW, P. W. - ELLENS, D. J. - HILBRINK, F. W.: Rotavirus associated recurrent diarrhoea in nursing piglets. In: *BRICOUT, F. - SCHERRER, R. (eds): Enterites Virales chez l'Homme et l'Animal*. Inserm. Paris. 1979, s. 349-354.

- ELLENS, D. J. - DE LEEUW, P. W.: Enzyme linked immunosorbent assay for diagnosis of rotavirus infections in calves. *J. clin. Microbiol.* 6, 1977, s. 530-532.
- ERICSON, B. L., - GRAHAM, D. Y. - MASON, B. B. - ESTES M. K.: Identification, synthesis, and modifications of simian rotavirus SA11 polypeptides in infected cells. *J. Virol.*, 42, 1982, s. 825-839.
- ESPEJO, R. T. - NUNOZ, O. - SERAFIN, F. - ROMERO, P.: Shift in the prevalent human rotavirus detected by ribonucleic acid segment differences. *Infect. Immun.*, 27, 1980, s. 351-354.
- ESPEJO, R. T. - LOPEZ, S. - ARIAS, C. F.: Structural polypeptides of simian rotavirus SA11 and the effect of trypsin. *J. Virol.*, 37, 1981, s. 156-160.
- ESTES, M. K. - COHEN, J.: *Rotavirus* gene structure and function. *Microbiol. Rev.*, 53, 1989, s. 410-448.
- ESTES, M. K. - CONNER, M. E. - GILGER, M. A. - GRAHAM, D. Y.: Molecular biology and immunology of rotavirus infections. *Immunol. Invest.*, 18, 1989, s. 571-581.
- ESTES, M. K. - CRAWFORD, S. E. - PENARANDA, M. E. - PETRIE, B. L. - BURNS, J. W. - CHAN, W. K. - ERICSON, B. - SMITH, G. E. - SUMMERS, M. D.: Synthesis and immunogenicity of the rotavirus major capsid antigen using a baculovirus expression system. *J. Virol.*, 61, 1987, s. 1488-1494.
- ESTES, M. K., - GRAHAM, D. Y.: Rotavirus antigens. *Adv. Exp. Med. Biol.*, 185, 1985, s. 201-214.
- ESTES, M. K., - GRAHAM, D. Y. - DIMITROV, D. H.: The molecular epidemiology of rotavirus gastroenteritis. In: MELNICK, J. L. (ed.): *Progress in medical virology*. Basel, S. Karger, 1984, s. 1-22.
- ESTES, M. K. - GRAHAM, D. Y. - MASON, B. B.: Proteolytic enhancement of rotavirus infectivity: molecular mechanisms. *J. Virol.*, 39, 1981, s. 879-888.
- FITZGERALD, G. R.: Diarrhea in young pigs: Comparing the incidence of the five most common infections agents. *Veter. Med.-US.*, 88, 1983, s. 80-87.
- FLEWETT, T. H. - WOODE, G. N.: The rotaviruses. Brief review. *Arch. Virol.*, 57, 1978, s. 1-23.
- FOLLET, E. A. C. - DESSELBERGER, U.: Co-circulation of different rotavirus strains in a local outbreak of infantile gastroenteritis: monitoring by rapid and sensitive nucleic acid analysis. *J. Med. Virol.*, 11, 1983, s. 39-52.
- FRANZ, J. - DVOŘÁK, R. - ŠTĚPÁNEK, J. - PŠÍKAL, I. - POKOROVÁ, D. - WALDOVÁ, L. - HAMPL, J.: Inovace imunoenzymatické diagnostiky rotavirových infekcí telat. [Výzkumná zpráva.] Brno. VÚV, 1990, 39 s.
- GAUL, S. K. - SIMPSON, T. F. - WOODE, G. N. - FULTON, R. W.: Antigenic relationship among some animal rotaviruses: virus neutralization *in vitro* and cross-protection in piglets. *J. clin. Microbiol.*, 16, 1982, s. 495-503.
- GELDBERG, H.: Porcine rotavirus and the problems it causes. Symposium on neonatal swine diarrhea. *Veterinary Medicine*, April, 1989, s. 449-452.
- GERNA, G. - SARASINI, A. - MATEO, A. - PASSARANI, N. - GAGLIARDI, V. - MILANESI, G. - RICOTTI, G. C. B. A. - BATTAGLIA, M.: The outer capsid glycoprotein VP7 of simian rotavirus SA11 contains two distinct neutralization epitopes. *J. Gen. Virol.*, 69, 1988, s. 937-944.
- GORZIGLIA, M. - GREEN, K. - NISHIKAWA, K. - TANIGUCHI, K. JONES, R. - KAPIKIAN, A. Z. - CHANOCK, R. M.: Sequence of the fourth gene of human rotaviruses recovered from asymptomatic or symptomatic infections. *J. Virol.*, 62, 1988, s. 2978-2984.
- GOUVEA, V., - ALLEN, J. R. - GLASS, R. I. - FANG, Z. Y. - BREMONT, M. - COHEN, J. - Mc CRAE, M. A. - SAIF, L. J. - SINARACHATANANT, P. - CAUL, R. O.: Detection of group B and C rotaviruses by polymerase chain reaction. *J. clin. Microbiol.*, 29, 1991, s. 519-523.

- GREENBERG, H. B. - FLORES, J. - CALICA, A. R. - WYATT, R. G. - JONES, R.: Gene coding assignments for growth restriction, neutralization and subgroup specificities of the W and DS-1 strains of human rotavirus. *J. Gen. Virol.*, 64, 1983a, s. 313-320.
- GREENBERG, H. B. - VALDESUSO, J. - WYKE, K. - MIDTHUN, K. - WALSH, M. - McAULIFFE, V. - WYATT, R. G. - KALICA, A. R. - FLORES, J. - HOSHINO, Y.: Production and preliminary characterization of monoclonal antibodies directed at two surface proteins of rhesus rotavirus. *J. Virol.*, 47, 1983b s. 267-275.
- HEATH, R. - BIRCH, C. - GUST, I.: Antigenic analysis of rotavirus isolates using monoclonal antibodies specific for human serotypes 1, 2, 3 and 4, and SA11. *J. Gen. Virol.*, 67, 1986, s. 2455-2466.
- HESS, R. G. - BACHMAN, P. A.: Distribution of antibodies to rotavirus in serum and lacteal secretions of naturally infected swine and their suckling pigs. *Am. J. veter. Res.*, 42, 1981, s. 1149-1152.
- HOLMES, I. H.: Rotaviruses. In: JOKLIK, W. K. (ed.): *The Reoviridae*. New York, Plenum Publishing Corp. 1983, s. 359-423.
- HOSHINO, Y. - SERENO, M. M. - MIDHTUN, K. - FLORES, J. - KAPIKIAN, A. Z. - CHANOCK, R. M.: Independent segregation of two antigenic specificities (VP3 and VP7) involved in neutralization of rotavirus infectivity. *Proc. nat. Acad. Sci. USA*, 82, 1985, s. 8701-8704.
- HRDY, D. B.: Epidemiology of rotaviral infection in adults. *Rev. Infect. Diseases.*, 9, 1987, s. 461-469.
- HUNG, T. - WANG, C. - FANG, Z. - CHOU, Z. - CHANG, X. - LIONG, X. - CHEN, G. - YAO, H. - CHAO, T. - YE, W. - DEN, S. - CHANG, W.: Waterborne outbreak of rotavirus diarrhea in adults in China caused by a novel rotavirus. *Lancet*, 1, 1984, s. 1139-1142.
- HUSBAND, A. J. - WATSON, D. L.: Immunity in the intestine. *Veter. Bull. (London)*, 48, 1978, s. 911-919.
- KABCENELL, A. K. - ATKINSON, P. H.: Processing of the rough endoplasmic reticulum membrane glycoprotein of rotavirus SA11. *J. Cell Biol.*, 101, 1985, s. 1270-1280.
- KALICA, A. R. - GREENBERG, H. B. - WYATT, R. G. - FLORES, J. - SERENO, M. M. - KAPIKIAN, A. Z. - CHANOCK, R. M.: Genes of human (strain Wa) and bovine (strain UK) rotaviruses that code for neutralization and subgroup antigens. *Virology*, 112, 1981, s. 385-390.
- KALJOT, K. T. - SHAW, R. D. - RUBIN, D. H. - GREENBERG, H. B.: Infectious rotavirus enters cells by direct cell membrane penetration, not by endocytosis. *J. Virol.*, 62, 1988, s. 1136-1144.
- KANG, S. Y. - NAGARAJA, K. V. - NEWMAN, J. A.: Rapid coagglutination test detection for rotaviruses in turkeys. *Avian Diseases*, 29, 1985, s. 640-649.
- KANTHARIDIS, P. - DYALL-SMITH, M. L. - HOLMES, I. H.: Marked sequence variation between segment 4 genes of human RV-5 and simian SA11 rotaviruses. *Arch. Virol.*, 93, 1987, s. 111-121.
- KAPIKIAN, A. Z. - CLINE, W. L. - GREENBERG, H. B. - WYATT, R. G. - KALICA, A. R. - BANKS, C. E. - JAMES, D. J. - FLORES, J. - CHANOCK, R. M.: Antigenic characterization of human and animal rotaviruses by immune adherence hemagglutination assay (IAHA): evidence for distinctness of IAHA and neutralization antigens. *Infect. Immun.*, 33, 1981, s. 415-425.
- KITAOKA, S. - FUKUHARA, N. - TAZAWA, F. - SUZUKI, H. - SATO, T. - KONNO, T. - EBINO, T. - ISHIDA, N.: Characterization of monoclonal antibodies against human rotavirus hemagglutinin. *J. med. Virol.*, 19, 1986, s. 313-323.
- KORYCH, B.: Laboratorní diagnostika virových gastro-intestinálních onemocnění. Mikrobiologické vyšetřovací metody. sv. 6, 1987, s. 9-76.

- KURSTAK, E. - KURSTAK, C. - VAN DEN HURK, J. - MORISSET, R.: Comparative diagnosis of viral diseases. 1978, s. 105-141.
- LAMBERT, J. P. - MARISSSENS, D. - MARBEHANT, P. - ZISSIS, G.: Prevalence of subgroup 1, 2 and 3 rotaviruses in Belgian children suffering from acute diarrhea (1979-1981). *J. med. Virol.*, 11, 1983, s. 31-38.
- LECCE, J. G. - KING, M. W.: Role of rotavirus (reo-like) in weanling diarrhea of pigs. *J. clin. Microbiol.*, 8, 1978, s. 454-458.
- LECCE, J. G. - KING, M. W.: The calf reo-like virus (rotavirus) vaccine: an ineffective immunization agent for rotaviral diarrhea of piglets. *Can. J. comp. Med.*, 43, 1979, s. 90-93.
- LECCE, J. G. - KING, M. W.: Nutrition and management of early weaned pigs: diets for protecting rotavirus exposed pigs weaned at 1-5 days of age. *J. Anim. Sci.*, 53, 1981, s. 677-682.
- LIU, M. - OFFIT, P. A. - ESTES, M. K.: Identification of the simian rotavirus SA11 genome segment 3 product. *Virology*, 163, 1988, s. 26-32.
- MACKOW, E. R. - BARNETT, J. W. - CHAN, H. - GREENBERG, H. B.: The rhesus rotavirus outer capsid protein NP4 functions as a hemagglutinin and is antigenically conserved when expressed by a baculovirus recombinant. *J. Virol.*, 63, 1989, s. 1661-1668.
- MASON, B. B. - GRAHAM, D. Y. - ESTES, M. K.: Biochemical mapping of the simian rotavirus SA11 genome. *J. Virol.*, 46, 1983, s. 413-423.
- MATSUI, S. M. - OFFIT, P. A. - VO, P. T. - MACKOW, E. R. - BENFIELD, D. A. - SHAW, R. D. - PADILLA-NORIEGA, L. - GREENBERG, H. B.: Passive protection against rotavirus-induced diarrhea by monoclonal antibodies to the heterotypic neutralization domain of VP7 and the VP8 fragment of VP4. *J. clin. Microbiol.*, 27, 1989, s. 780-782.
- MATSUNO, S. - HASEGAWA, A. - KALICA, A. R. - KONO, R.: Isolation of a recombinant between simian and bovine rotaviruses. *J. Gen. Virol.*, 48, 1980, s. 253-256.
- MATSUNO, S. - INOUE, S.: Purification of an outer capsid glycoprotein in neonatal calf diarrhea virus and preparation of its antisera. *Infect. Immun.*, 39, 1983, s. 155-158.
- Mc CRAE, M. A. - Mc CORQUODALE, J. G.: Molecular biology of rotaviruses. 2. Identification of the protein-coding assignments of calf rotavirus genome RNA species. *Virology*, 117, 1982, s. 435-443.
- Mc LEAN, B. S. - HOLMES, I. H.: Effects of antibodies, trypsin and trypsin inhibitors on susceptibility of neonates to rotavirus infection. *J. clin. Microbiol.*, 13, 1981, s. 22-29.
- MOE, K. - SHIRLEY, J. A.: The effects of relative humidity and temperature on the survival of human rotavirus in faeces. *Arch. Virol.*, 72, 1982, s. 179-186.
- NAKAGOMI, O. - NAKAGOMI, T. - HOSHINO, Y. - FLORES, J. - KAPIKIAN, A. Z.: Genetic analysis of a human rotavirus that belongs to subgroup 1 but has an RNA pattern typical of subgroup 2 human rotaviruses. *J. clin. Microbiol.*, 25, 1987, s. 1159-1164.
- NAKAGOMI, O. - OHSHIMA, A. - ABOUDY, Y. - SHIF, I. - MOCHIZUKI, M. - NAKAGOMI, T. - GOTLIEB-STEMATSKY, T.: Molecular identification by RNA-RNA hybridization of a human rotavirus that is closely related to rotavirus of feline and canine origin. *J. clin. Microbiol.*, 28, 1990, s. 1198-1203.
- NAKATA, S. - ESTES, M. K. - GRAHAM, D. Y. - LOOSLE, R. - HUNG, T. - WANG, S. - SAIF, L. J. - MELNICK, J. L.: Human group B rotavirus: antigenic characterization and ELISA detection of adult diarrhea rotaviruses. *J. Infect. Diseases*, 154, 1986, s. 448-455.
- NAKATA, S. - ESTES, M. K. - GRAHAM, D. Y. - WANG, S. - GARY, G. W. - MELNICK, J. L.: Detection of antibody to group B adult diarrhea rotaviruses in humans. *J. clin. Microbiol.*, 25, 1987, s. 812-818.

- NOVO, E. - ESPARZA, J.: Composition and topography of structural polypeptides of bovine rotavirus. *J. Gen. Virol.*, 56, 1981, s. 325-335.
- OFFIT, P. A. - BLAVAT, G.: Identification of the two rotavirus genes determining neutralization specificities. *J. Virol.*, 57, 1986a, s. 376-378.
- OFFIT, P. A. - BLAVAT, G. - GREENBERG, H. B. - CLARK, H. F.: Molecular basis of rotavirus virulence: role of gene segment 4. *J. Virol.*, 57, 1986b, s. 46-49.
- OFFIT, P. A. - CLARK, H. F. - BLAVAT, G. - GREENBERG, H. B.: Reassortant rotaviruses containing structural proteins vp3 and vp7 from different parents induce antibodies protective against each parental serotype. *J. Virol.*, 60, 1986c, s. 491-496.
- PEDLEY, S. - BRIDGER, J. C. - BROWN, - Mc CRAE, M. A.: Molecular characterization of rotaviruses with distinct group antigens. *J. Gen. Virol.*, 64, 1983, s. 2093-2101.
- PETRIE, B. L. - ESTES, M. K. - GRAHAM, D. Y.: Effects of tunicamycin on rotavirus morphogenesis and infectivity. *J. Virol.*, 46, 1983, s. 270-274.
- PETRIE, B. L. - GREENBERG, H. B. - GRAHAM, D. Y. - ESTES, M. K.: Ultrastructural localization of rotavirus antigens using colloidal gold. *Virus Res.*, 1, 1984, s. 133-152.
- PRASAD, B. V. V. - WANG, G. J. - CLERX, J. P. M. - CHIU, W.: Three-dimensional structure of rotavirus. *J. mol. Biol.*, 199, 1988, s. 269-275.
- READY, K. F. M. - SABARA, M.: *In vitro* assembly of bovine rotavirus nucleocapsid protein. *Virology*, 157, 1987, s. 189-198.
- RODÁK, L. - FRANZ, J. - VALÍČEK, L. - SVOBODA, J. - VESELÝ, T. - ŠTĚPÁNEK, J.: Vývoj nových metod imunodiagnostiky virových průjmů telat. [Výzkumná zpráva.] Brno. VÚVeL, 1984. 25 s..
- SABARA, M. - GILCHRIST, J. E. - HUDSON, G. R. - BABIUK, L. A.: Preliminary characterization of an epitope involved in neutralization and cell attachment that is located on the major bovine rotavirus glycoprotein. *J. Virol.*, 53, 1985, s. 58-66.
- SAIF, L. J. - BOHL, E. H. - THEIL, K. W. - CROSS, R. F. - HOUSE, J. A.: Rotavirus-like, calicivirus-like, and 23-nm virus-like particles associated with diarrhoea in young pigs. *J. clin. Microbiol.* 12, 1980, s. 105-111.
- SAIF, L. J. - TERRETT, L. A. - MILLER, K. L. - CROSS, R. F.: Serial propagation of porcine group C rotavirus (pararotavirus) in a continuous cell line and characterization of the passaged virus. *J. clin. Microbiol.*, 26, 1988, s. 1277-1282.
- SANDINO, A. M. - JASHES, M. - FAUNDEZ, G. - SPENCER, E.: Role of the inner protein capsid on *in vitro* human rotavirus transcription. *J. Virol.*, 60, 1986. s. 797-802.
- SAMUEL, C. E.: Virus diseases in laboratory and captive animals: Reoviruses. 1988, s. 467-520.
- SATTAR, S. A. - RAPHAEL, R. A. - SPRINGTHORPE, V. S.: Rotaviruses and chemical disinfectants. In: Proceedings of the 4th International Symposium on Neonatal Diarrhea. Saskatoon. Canada, VIDO 1983, s. 90-99.
- SHAW, R. D., - FONG, K. J. - LOSONSKY, G. A. - LEVINE, M. M. - MALDONADO, Y. - YOLKEN, R. - FLORES, J. - KAPIKIAN, A. Z. - VO, P. T. - GREENBERG, H. B.: Epitope specific immune responses to rotavirus vaccination. *Gastroenterology*, 93, 1987, s. 941-950.
- SMITH, M. L. - LAZDINS, I. - HOLMES, I. H.: Coding assignments of double stranded RNA segments of SA11 rotavirus established by *in vitro* translation. *J. Virol.*, 33, 1980, s. 976-982.
- SNODGRASS, D. R. - HERRING, A. J. - CAMPBELL, I. - INGLIS, J. M. - HARGREAVES, F. D.: Comparison of atypical rotaviruses from calves, piglets, lambs, and man. *J. Gen. Virol.*, 65, 1984, s. 909-914.

- SU, C., - WU, Y. - SHEN, H. - WANG, D. - CHEN, Y. - WU, D. - HE, L. - YANG, Z.: An outbreak of epidemic diarrhea in adults caused by a new rotavirus in Anhui province of China in the summer of 1983. *J. med. Virol.*, 19, 1986, s. 167-173.
- SUZUKI, H. - CHEN, G. M. - HUNG, T. - BEARDS, G. M. - BROWN, D. W. G. - FLEWETT, T. H.: Effects of two negative staining methods on the Chinese atypical rotavirus. *Arch. Virol.*, 94, 1987, s. 305-308.
- SVENSMARK, B.: Prevalence rate of porcine rotavirus in Danish swine herds. *Ann. Rech. Veter.*, 14, 1983, s. 433-436.
- SVENSSON, L. - GRAHNQUIST, L. - PETTERSSON, C. A. - GRANDIEN, M. - STINTZING, G. - GREENBERG, H. B.: Detection of human rotaviruses which do not react with subgroup 1 and 2 specific monoclonal antibodies. *J. clin. Microbiol.*, 26, 1988, s. 1238-1240.
- SVENSSON, L. - SHESHBERADARAN, H. - VENE, S. - NORRBY, E. - GRANDEIN, M. - WADELL, G.: Serum antibody responses to individual viral polypeptides in human rotavirus infections. *J. Gen. Virol.*, 68, 1987, s. 643-651.
- TANIGUCHI, K. - URASAWA, T. - URASAWA, S.: Reactivity patterns to human rotavirus strains of a monoclonal antibody against VP2, a component of the inner capsid of rotavirus. *Arch. Virol.*, 87, 1986, 135-141.
- TAO, H.: Rotavirus in adult diarrhea. *Adv. Virus Res.*, 35, 1988, s. 193-218.
- THEIL, K. W. - Mc CLOSKEY, C. - NIEMAN, D. R. - REDMAN, D. R.: Rotavirus infection of calves in a dairy herd: shift in the prevalent strain as detected by polyacrylamide-agarose gel electrophoresis of rotaviral ribonucleic acid. In: Abstracts of the 61st Annual Conference of Research Workers in Animal Disease, Chicago, 1981, s. 151.
- THOULESS, M. E. - BRYDEN, A. S. - FLEWETT, T. H. - WOODE, G. N. - BRIDGER, J. S. - SNODGRASS, D. R. - HERRING, J. A.: Serological relationship between rotaviruses from different species as studied by complement fixation and neutralization. *Arch. Virol.*, 53, 1977, s. 287-294.
- TOTTERDELL, B. M. - NICHOLSON, K. G. - MACLEOD, I. - CHRYSTIE, I. L. - BANATVALA, J. E.: Neonatal rotavirus infection: role of lacteal, neutralizing alpha1-anti-trypsin and non-immuno-globulin antiviral activity in protection. *J. med. Virol.*, 10, 1982, s. 37-44.
- TZIPORI, S. - WILLIAMS, I. H.: Diarrhoea in piglets inoculated with rotavirus. *Austral. veter. J.*, 54, 1978, s. 188-192.
- UTRERA, V. - MAZZALI DE ILJA, R. - GORZIGLIA, M. - ESPARZA, J.: Epidemiological aspects of porcine rotavirus infections in Venezuela. *Res. veter. Sci.*, 36, 1984, s. 310-315.
- VONDERFECHT, S. L. - OSBURN, B. L.: Immunity to rotavirus in conventional neonatal calves. *J. clin. Microbiol.*, 16, 1982, s. 935-942.
- WARD, C. W. - ELLEMAN, T. C. - AZAD, A. A. - DYALL-SMITH, M. L.: Nucleotide sequence of gene segment 9 encoding a nonstructural protein of UK bovine rotavirus. *Virology*, 134, 1984, s. 249-253.
- WOODE, G. N. - BRIDGER, J. - HALL, G. A. - JONES, J. M. - JACKSON, G.: The isolation of reovirus-like agents (rotaviruses) from acute gastroenteritis of piglets. *J. med. Microbiol.*, 9, 1976, s. 203-209.
- WYATT, R. G. - MEBUS, C. A. - YOLKEN, R. H. - KALICA, A. R. - JAMES, H. D. - KAPIKIAN, A. Z. JR. - CHANOCK, R. M.: Rotaviral immunity in gnotobiotic calves: heterologous resistance to human virus induced by bovine virus. *Science*, 203, 1979, s. 548-550.
- ZISSIS, G. - LAMBERT, P. J. - MARBEHANT, P. - MARISSSENS, D. - LOBMANN, M. - CHARLIER, P. - DELEM, A. - ZYGRAICH, N.: Protection studies in colostrum deprived piglets of a bovine rotavirus vaccine candidate using human rotavirus strains for challenge. *J. infect. Diseases*, 148, 1983, s. 1061-1068.

Present knowledge of rotaviruses focused on rotaviruses in pigs

A summary of thirty pages, concerning rotaviruses, i.e. RNA-viruses, the most frequent causal agents of infectious diarrhoea in children and young farm animals. Most of the chapters are generally focused on rotavirus morphology, structure and biology. Chapter No. 6 is especially detailed, trying to offer a complete summary of available diagnostic methods. The final chapters concern in greater detail the problems of rotaviruses in pigs, such as the immunity, prevention and treatment.

Kontaktní adresa:

MVDr. Š e s t á k , Výzkumný ústav veterinárního lékařství, Hudcova 70, 621 32 Brno
Tel. 05/741121, fax 05/752240

ODBER VENÓZNEJ KRVÍ A FIXÁCIA PODBRUŠNÝCH CIEV U KRÁV PRODUKČNÉHO TYPU

Mlieková úžitkovosť hovädzieho dobytku, najmä vznik, tvorba a vylučovanie mlieka v súčasných podmienkach výroby je v popredí pozornosti vedecko-výskumných pracovníkov. Obsah bielkovín, tukov, minerálnych látok a ostatných komponentov v mlieku je čiastočne podmienený prekurzormi v krvi, ktoré môžu byť sledované aj arteiálno-venóznym rozdielom krvných komponentov.

Žilová krv vemena odvádzajú vena pudenda externa, vena perinealis a vena subcutanea abdominis dextra et sinistra, ktoré prechádzajú z dorzálného povrchu vemena asi 15 - 18 cm po stranách linea alba a na úrovni asi 11. rebra prechádzajú cez hrudnú stenu, kde sa spájajú do vena thoracica interna. Podkožné brušné žily majú niekoľko veľkých a malých vetiev. V laktačnom období sa lumen podkožných brušných žíl nápadne zväčšuje a dosahuje priemer 2 - 3 cm. Z tohoto dôvodu sú tieto žily dobre viditeľné, najmä u vysoko produkčných kráv a vhodné na odber venózneho krvného vemena.

Odber krvi u dojnic z podkožných brušných žíl je pomerne jednoduchý, ak máme k dispozícii účinnú fixačnú metódu a vhodné fixačné prostriedky. Jeden netradičný spôsob fixácie dojnic, vhodný pre odber venózneho krvného vemena z podbrušných žíl, je ich fixácia škrticou pred vstupom do dutiny hrudnej pomocou gumenej hadice o priemere asi 2 - 4 cm.

Postup fixácie a metodika odberu žilovej krvi vemena

Dojnicu fixujeme po obvode hrudníka pomocou gumenej hadice škrtiacim spôsobom asi 5 cm kaudálne od vstupu žíl do dutiny hrudnej. Po niekoľkých minútach miesto vpichu asi 7 cm od hadice ostriháme a dôkladne dezinfikujeme bežným dezinfekčným prostriedkom, najvhodnejší je Septonex spray. Miesto vpichu tesne pred odberom znecitlivíme Chloraethylom, asi 2 - 4 ml.

Hrubšou ihlou o rozmeroch 2 x 40 mm, najvhodnejšie so širokou olivou, šikmým úderom vbodneme do stredu podkožnej brušnej žily smerom kraniálnym asi 5 - 8 cm od hadice. Nie viac, lebo ďalej sú podkožné žily značne pohyblivé a ťažšie sa nabodávajú. Presný vpich umožní odobrať aj väčšie množstvo krvi, ak je ihla dostatočne hlboko v lúmene žily.

Po odbere najprv odstránime škrtiaci účinok hadice, ihlu jednou rukou rýchlym spôsobom vytiahneme z lúmena žily a súčasne pritlačíme tampón s dezinfekčným roztokom na miesto vpichu, komprimujeme aspoň dve minúty, čím zamedzíme vzniku hematómu.

Uvedený spôsob fixácie podkožných brušných žíl je vhodný najmä pre jeho jednoduchosť a účelnosť, ktoré sú predpokladom úspešného odberu najmä väčšieho množstva (50 - 300 ml) žilovej krvi z toho dôvodu, že dostatočne obmedzuje pohyblivosť podkožných žíl v mieste vpichu a zároveň zabezpečuje ich dostatočnú komprimáciu v priebehu odberu.

Schalkháza i. (1979) ako aj ďalší autori udávajú možnosť odberu menšieho množstva venózne krvi z podbrušných žíl. Aliev (1968, 1972) vo svojej metodike doporučuje miesto vpichu smerom k vmenu a na fixáciu navrhuje zdvihnúť zadnú končatinu na tej strane hrudníka, na ktorej sa realizuje odber. Nám sa tento spôsob vpichu a fixácie neosvedčil, nakoľko dojnice nadmerne reagovali pri zákroku. Autor udáva, že u dojníc so živším temperamentom a jemnou konštitúciou je potrebný chirurgický zásah.

Tento problém odstraňuje nami navrhovaný a v praxi overený netradičný spôsob fixácie podbrušných žíl, uskutočnený na 45 dojniciach po druhej laktácii, pri ktorom dojnice s pokojnejším temperamentom pri vpichu takmer nereagovali a temperamentnejšie reagovali miernym pohybom. Ani v jednom prípade nedošlo k reakcii dojníc kopnutím.

Podbrušná oblasť u dojníc je veľmi citlivá a reakcie dojníc pri iných spôsoboch fixácie boli na vpich ihlou veľmi intenzívne. U niektorých dojníc, najmä nervóznych, odber žilovej krvi z podbrušných žíl bol veľmi sťažený.

Škrtenie podkožných brušných žíl pomocou gumenej hadice má okrem imobilizačného vplyvu aj účinok celkový na reakciu zvierat, pôsobí ukludňujúco a dojnice stoja pokojne po celú dobu odberu. Tento netradičný spôsob fixácie dojníc pre odber venózne krvi vmena je vhodný najmä pre dojnice vo vážnych maštaliach s vyššou koncentráciou dojníc ako aj pri individuálnom ustajnení. Navyše veľmi spoľahlivo fixuje dojnice aj pri odbere arteriálnej krvi z *arteria iliaca interna per rectum*.

Literatúra

ALIEV, A. A.: Modifikacija sposoba vyvedenija sonnej arterii pod kožu. Fiziol. Ž. SSSR, 54, 1968, s. 746-747.

ALIEV, A. A. - LIMONOV, V. V.: Neprezyvnaja kateterizacija matočnych ven u korov. Fiziol. Ž. SSSR, 58, 1972, s. 286-289.

SCHALKHÁZ, I. - KAJTÁR, J. - FEHÉR, GY.: Vervétel a sarvasmarha középső farokvénájából. Magy. állatorv. Lap., 34, 1979, s. 94-96.

Doc. MVDr. Augustín Ďuran, CSc.,
Univerzita veterinárskeho lekárstva, Komenského 73, 041 81 Košice

POKYNY PRO AUTORY VĚDECKÉHO ČASOPISU VETERINÁRNÍ MEDICÍNA

Časopis uveřejňuje původní vědecké práce, krátká sdělení a výběrově i přehledné referáty, tzn. práce, jejichž podkladem je studium literatury a které shrnují nejnovější poznatky v dané oblasti. Práce jsou uveřejňovány v češtině, slovenštině nebo angličtině. Rukopisy musí být doplněny krátkým a rozšířeným souhrnem.

Autor je plně odpovědný za původnost práce a za její věcnou i formální správnost. K práci musí být přiloženo 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 a kvalitě práce.

Rozsah vědeckých prací nemá přesáhnout 10 stran psaných na stroji včetně tabulek, obrázků a grafů. V práci je nutné používat jednotky odpovídající soustavě měrových jednotek SI (ČSN 01 1300):

Technická úprava rukopisu

Úprava rukopisu pořizovaného na psacím stroji má odpovídat ČSN 88 0220 (formát A4, 30 řádek na stránku, 60 úhozů na řádku, tzn., že mezi řádky se dělají dvojité mezery). Při pořizování rukopisu na počítači je pro nás nejvhodnější textový editor T602, popř. text převedený do ASCII kódu. Text příspěvku se posílá spolu s disketou, která po zkopírování se vrací autorům zpět.

Ilustrace, grafy, tabulky a fotografie (černobílé) mají vyhovovat ČSN 88 2109, dodávají se zvlášť a nepodlepují se. Grafy se rýsují tuší na bílý nebo pauzovací papír a popisují se jednotnou velikostí písma (šablona 3,5 mm). Obrázky pořizované počítačem je možné publikovat přímo, pokud jsou ve formátu vektorovém (.GEM, .WMF, .CDR, atd.) nebo bitovém (.TIF, .PCX, atd.). 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 podtitulky článků.

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

Souhrn

Vypracování souhrnu je nutné věnovat obzvláštní péči. Autor do něho má shrnovat vše, co je na jeho práci pozoruhodné a nové a co má být dokumentováno. Souhrn má být nekritickým informačním výběrem významného obsahu a závěru, nikoliv však jeho pouhým popisem. Musí vyjádřit všechno podstatné, co je obsaženo ve vědecké práci, nemá ji však nahradit. Nemá překročit rozsah 170 slov. Je třeba, aby byl psán celými větami, nikoliv heslovitě. Pro překlad do angličtiny se požaduje souhrn delší (do dvou rukopisných stran) s odkazy na tabulky a obrázky, popř. s anglickými odbornými termíny nebo už přeložené do angličtiny. Souhrn začíná jménem autorů, názvem pracoviště a jeho sídlem (v závorce),

titulem článku a citací: Vet. Med. - Czech, 00, 1990. Místa označená nulami doplní na kompletní citaci při korektuře redakce.

Klíčová slova (key words, index terms)

Připojují se po vynechání řádku pod souhrn krátký i rozšířený (k oběma souhrnům musí být připojena stejná klíčová slova). Klíčové slovo je substantivum, které je nutné pro věcné zařazení práce. Klíčová slova se řadí směrem od obecnějších výrazů ke konkrétním. Začínají malým písmenem a oddělují se středníkem. Jejich počet závisí na povaze práce, neměl by klesnout pod tři a převýšit 12 slov.

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 kdokoli z odborníků mohl podle něho a při použití uvedených citací práci opakovat.

Výsledky

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

Diskuse

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

Poděkování

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

Literatura

Musí odpovídat státní normě ČSN 01 0197. Citace se řadí abecedně podle jména prvních autorů: příjmení (verzálkami), zkratka jména, plný název práce, úřední zkratka časopisu, ročník, rok vydání, první stránka, poslední stránka; u knih je uvedeno místo vydání, vydavatel a rok. Odkazy na literaturu v textu uvádějí jméno autora a rok vydání. Do seznamu se zařadí jen práce citované v textu. Na práce v seznamu literatury musí být odkaz v textu.

Adresa autora

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

Upozorňujeme čtenáře, že v čísle 4/1993 časopisu

VETERINÁRNÍ MEDICÍNA

mají být uveřejněny tyto příspěvky:

Vilček Š., Deliová I., Forgáč O., Strojný L., Harvan M., Benko G.: Detekcia bovinného herpesvírusu-1 metódou dot-blot hybridizácie

Paulík Š., Slanina E., Dubaj J., Széchenyi Š., Benko G.: Preventívne a metafylaktické použitie preparátov Alga a Algalev pri diarrhoickom, resp. respiračnom syndróme

Ryšánek D., Šchlegelová J.: Účinnost BR-TESTU a INTESTU při stanovení reziduí chemoterapeutik v syrovém a prezervovaném mléce

Pazdera J., Hruban V., Pichrtová J., Müller Z., Jílek F.: DNA fingerprinting u koní

Sviatko P., Zeleňák I.: Vplyv kadmia na ukazovatele bachorovej fermentácie a jeho obsah v biologickom materiáli oviec

Celer V., Zanoni R., Peterhans E.: Porovnání různých druhů antigenů pro diagnostiku CAEV testem ELISA

Valíček L., Šmíd B., Váchala J.: Průkaz parvoviru u průjmu-jících gepardů štíhlých (*Acinonyx jubatus jubatus* Schreber, 1775)



**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**



OBSAH — CONTENTS

Kozdera A., Věžník Z., Ryšavá L.: Average testosterone levels in bulls after GnRH stimulation at breeder bull rearing stations and A.I. stations — Průměrné hladiny testosteronu u býků po stimulaci GnRH v odchovných a inseminačních stanicích	129
--	-----

Bomba A., Králíček L., Žitňan R., Králíčková E., Poláček M.: Hodnotenie úrovne minerálneho metabolizmu teliat v období mliečnej výživy a odstavu na základe vybraných parametrov v krvi — Evaluation of mineral metabolism of calves in the period of milk diet and weaning on the basis of some parameters of the blood	141
--	-----

Bomba A., Paulík Š., Králíček L., Žitňan R., Poláček M.: Využitie vybraných parametrov v sére a krvi teliat pri posudzovaní úrovne dusíkového a energetického metabolizmu — The use of some serum and blood parameters for evaluation of the level of nitrogen and energy metabolism in calves	151
--	-----

PŘEHLEDNÝ REFERÁT

Šesták K., Iša P.: Současné poznatky o rotavirech se zaměřením na rotaviry prasat	161
---	-----

INFORMACE

Đuran A.: Odber venózne krvi a fixácia podbrušných ciev u kráv produkčného typu	189
---	-----

Vědecký časopis VETERINÁRNÍ MEDICÍNA ● Vydává Česká akademie zemědělských věd a Slovenská akadémia pôdohospodárskych vied - Ústav zemědělských a potravinářských informací ● Vychází měsíčně ● Redaktorka: ing. Zdenka Radošová ● Redakce: Slezská 7, 120 56 Praha 2 tel.: 02/257541 ● Sazba: Studio DOMINO - ing. Jakub Černý, Popovice 144, 267 01 Králův Dvůr tel.: 0311/22959 ● Tisk: OSTRAVSKÉ TISKÁRNY, Novinářská 7, 709 00 Ostrava 1 ● © Ústav zemědělských a potravinářských informací, Praha 1993

Rozšiřuje PNS. Informace o předplatném podá a objednávky přijímá každá administrace PNS doručovatel tisku a Administrace centralizovaného tisku, Kafkova 19, 160 00 Praha 6.