

ÚSTAV ZEMĚDĚLSKÝCH A POTRAVINÁŘSKÝCH
INFORMACÍ

VETERINÁRNÍ MEDICÍNA

8

ROČNÍK 38 (LXVI)
PRAHA 1993
ČS 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 B o u d a , DrSc., University of Veterinary and Pharmaceutical Sciences, Brno, Czech Republic

Prof. MVDr. Bohumír H o f í r e k , DrSc., University of Veterinary and Pharmaceutical Sciences, Brno, Czech Republic

Prof. MVDr. Karel H r u š k a , CSc., (Chairman), Veterinary Research Institute, Brno, Czech Republic

Doc. MVDr. Gabriel K o v á č , DrSc., University of Veterinary Medicine, Košice, Slovak Republic

Doc. MVDr. Imrich M a r a č e k , DrSc., Research Institute of Experimental Veterinary Medicine, Košice, Slovak Republic

Prof. MVDr. Zdeněk P o s p í š i l , CSc., University of Veterinary and Pharmaceutical Sciences, Brno, Czech Republic

Doc. MVDr. Ivan R o s i v a l , CSc., Research Institute of Experimental Veterinary Medicine, Košice, Slovak Republic

Prof. MVDr. Bohumil Š e v č í k , DrSc., Research Institute of Feed Supplements and Veterinary Drugs, Jílové u Prahy, Czech Republic

Editor in Chief - Vedoucí redaktorka

Ing. Zdenka Radošová

ZMENY HLADINY OXYTOCÍNU A KORTIZOLU U PRVŮSTOK PO PRECHODE Z 21-DŇOVÉHO CICANIA TEĽATAMI NA STROJOVÉ DOJENIE

V. Tančin, Ľ. Harcek, J. Brouček, M. Uhrinčat', Š. Mihina

Výskumný ústav živočíšnej výroby, Nitra

Sledoval sa vplyv dlhodobejšieho rozdojovania prvôstok cicaním teliat a ich nasledovnej adaptácie na strojové dojenie, na zmeny oxytocínu (OT) a kortizolu (K) v krvnej plazme. Do pokusu boli zaradené štyri prvôstky čierostrakatého plemena, ktoré boli cicané 16 teľatami do 21. dňa laktácie. 22. deň boli prvôstky presunuté do maštale s vážnym ustajnením a dojené na stojisku. Sledovania sa uskutočnili v priebehu piatich dní; posledné dva dni v prítomnosti teliat (1. a 2. deň - cicanie) a prvé tri dni po presune do maštale (3. a 5. deň - dojenie). Krv bola odoberaná pred, počas a po dojení, resp. cicaní. Priemerná hladina oxytocínu počas 7 min dojenia bola u prvôstok pri 1. dojení ($12,39 \pm 5,81$ pg/ml) preukazne nižšia v porovnaní s priemernými hodnotami nameranými pri 3. dojení ($28,01 \pm 18,56$ pg/ml; $P < 0,001$), resp. počas cicania ($18,32 \pm 7,15$ pg/ml; $P < 0,01$) ako aj hodnotami pri 3. dojení a obdobím cicania ($P < 0,01$). Priemerná hladina kortizolu v priebehu 3. dňa ako aj počas dojenia v tomto dni bola vyššia v porovnaní s 5. dňom, pričom signifikantný bol rozdiel len v priebehu dňa ($32,83 \pm 29,28$ nmol/l 3. deň; $17,24 \pm 15,86$ nmol/l 5. deň; $P < 0,05$). Rozdielne behaviorálne prejavy prvôstok po oddelení od teliat a presune do nových podmienok ustajnenia ovplyvnili ich reakciu na prvé strojové dojenie čo sa odzrkadlilo v hladine oxytocínu, kortizolu a v množstve nadojeného mlieka.

prvôstky; cicanie teľatami; dojenie; krv; oxytocín; kortizol

Primeraná dotyková stimulácia ceckov bezprostredne pred dojením sa ukazuje ako veľmi dôležitá požiadavka pre rýchle a úplné vydojenie kráv (G o r e w i t a G a s s m a n , 1985). Strojové a ručné dojenie, ako aj cicanie vyvolávajú uvoľnenie oxytocínu, prolaktínu a kortizolu do krvi (G o r e w i t , 1988). Toto uvoľňovanie má v závislosti od uvedených faktorov rozdielnú intenzitu a trvanie. A k e r s a L e f c o u r t (1982) zaznamenali vyššie hladiny oxytocínu počas dojenia v porovnaní s cicaním. Taktiež aj ručné dojenie vyvoláva zreteľnejšie a dlhšie uvoľňovanie oxytocínu v porovnaní so strojovým dojením (S a g i a i. , 1980; G o r e w i t a i. , 1992) i keď sa objavili aj opačné výsledky (M c F a d d e n a i. , 1987).

Cicaním uvoľnený oxytocín je zahrnutý nielen v reflexe ejekcie mlieka (G o r e w i t , 1988), ale novšie práce poukazujú na jeho význam pre metabolizmus matky a jej správanie (F a h r b a c h a i. , 1984). Cicanie prvôstok teľatami na začiatku laktácie má pozitívny vplyv na ďalšiu úroveň mliečnej úžitkovosti v priebehu

laktácie (P e e l a i., 1979). Fyziologický význam dojením vyvolanej sekrécie kortizolu je u prežúvavcov málo známy (G o r e w i t a i. 1992).

V posledných rokoch, pre pochopenie regulácie spúšťania mlieka a uvoľňovania oxytocínu, sa robili pokusy prevážne hodnotením vplyvu stresu (elektrošoky) alebo exogénne podávaných katecholamínov. Jedným z možných období, kedy sa môžu prirodzeným spôsobom prejavíť inhibičné vplyvy na proces spúšťania, je prvý kontakt prvôstok so strojovým dojením. Najmä ak strojové dojenie nasleduje po dlhšom období cicania teľatami po otelení. Cieľom tejto práce bolo zaznamenať zmeny hladiny oxytocínu a kortizolu u prvôstok predtým cicaných v procese prechodu a adaptácie na strojové dojenie.

MATERIÁL A METÓDA

Do pokusu boli zaradené štyri prvôstky čiernostrakatého plemena, ktoré boli cicané teľatami do 21. dňa laktácie. Na jednu prvôstku pripadali štyri teľatá. 22. deň boli prvôstky presunuté do maštale s vážnym ustajnením a dojené na stojisku bez dodávania dojacím zariadením Miele Mobimatic pri podtlaku 50 kPa, počtu pulzov 50 za min a pulzačnom pomere 2 : 1. Súčasťou dojacieho zariadenia je prietokomer, ktorý udáva momentálny stav nadojeného mlieka počas dojenia s presnosťou na stotiny litra. Počas cicania teľatami pozostávalo krmenie z prájmu siláže a sena *ad libitum* a 8 kg krmnej zmesi na deň. Po presune bola krmná dávka doplnená o repné skrojky.

Pokus sa uskutočnil v priebehu piatich dní podľa schémy uvedenej v tab. I. Reakciu na cicanie teľatami sme sledovali po 4-hodinovom zabránení prístupu teliat k dojniciam (od 12.00 - 16.00). Dojnice boli počas prvých 15 min intenzívne cicané 2 - 4 teľatami súčasne a potom cicanie bolo nepravidelné. Reakciu na strojové do-

I. Schéma pokusu – Layout of the trial

Deň laktácie ¹	Získavanie mlieka ²	Deň pokusu ³	Vzorky krvi ⁴
0 - 19	cicanie ⁵	-	bez odberu ¹¹
20	cicanie	1	odber ¹²
21	cicanie	2	odber
22	8.00 h odstav teliat a presun ⁶ 16.00 h prvé dojenie ⁷	3	odber
23	5.00 h ranné dojenie ⁸ 16.00 h druhé dojenie ⁹	4	bez odberu
24	5.00 h ranné dojenie 16.00 h tretie dojenie ¹⁰	5	odber

¹day of lactation, ²milk drawing, ³day of trial, ⁴blood samples, ⁵sucking, ⁶calf weaning and cow moving, ⁷first milking, ⁸morning milking, ⁹second milking, ¹⁰third milking, ¹¹no samples taken, ¹²samples taken

jenie sme sledovali v prvom a treťom dni po presune (t.j. 3. a 5. deň pokusu) pri večernom dojení. Strojové dojenie bolo ukončené medzi 7. a 8. min od začiatku dojenia.

Krv sme odoberali cez kateter, ktorý bol zavedený deň pred začatím experimentu do *vena jugularis*. Vzorky krvi pre stanovenie kortizolu sme odoberali v dvojhodinových intervaloch (po presune dvakrát v polhodinovom intervale a raz v hodinovom). Odber krvi pre stanovenie kortizolu a oxytocínu počas cicania resp. dojenia bol nasledovný: 20 a 10 min pred jednotlivými zásahmi, tesne pred začiatkom cicania resp. masáže – v -1. min, v 0. min cicania (pri dojení nasadenie strukových nástrčiek), 1., 2., 3., 5., 7., 10., 15., 25. a 55. min. Vzorky plazmy boli zmrazené a uskladnené pri -20 °C až do stanovenia.

V krvnej plazme sme stanovili oxytocín a kortizol rádioimunologickou metódou pomocou testov z ÚVVR Praha. Citlivosť stanovenia na oxytocín bola 1,2 pg/ml; recovery -92 %; podiel skrížených reakcií použitého antiséra s arginín-vazopresín bol < 0,005 %, s lyzín-vazopresín 0,04 %, 17 % s vazotocínom a 22,6 % s desamino oxytocínom. Citlivosť stanovenia na kortizol bola 0,39 nmol/l; recovery 98,6 %; podiel skrížených reakcií použitého antiséra s 11-Deoxykortizol 11,66 %, Prednisolon 51,00 %, Kortikosteron 2,04 %. Koeficient inter-assay pre oxytocín bol 5,4 - 9,7 % a pre kortizol 5,9 - 7,0 % a inter-assay pre oxytocín bol 11 - 20 % a pre kortizol 9,7 - 10,4 %

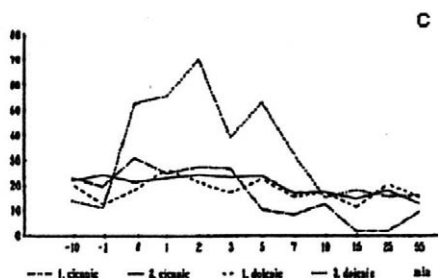
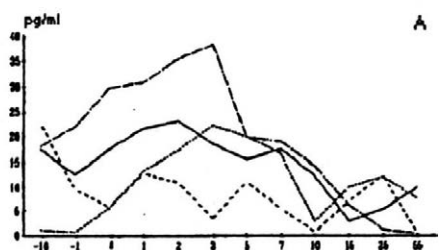
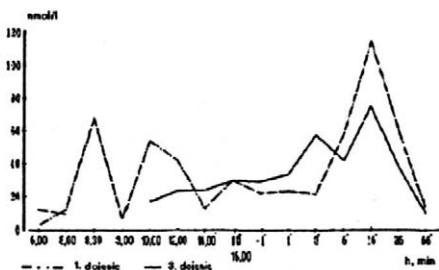
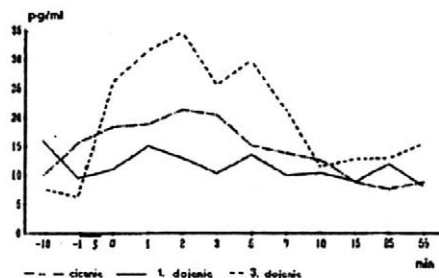
VÝSLEDKY

Počas prvého večerného strojového dojenia (3. deň) prvôstky nadojili v priemere $6,10 \pm 1,88$ kg, pričom najnižší nádoj bol u 1. prvôstky 4,02 kg a najvyšší u 2. prvôstky 8,23 kg (tab. II). V 5. dni bol priemerný nádoj $8,21 \pm 0,84$ kg. Okrem 2. prvôstky, ktorej úžitkovosť bola približne rovnaká v 3. a 5. dni (7,98 kg v 5. dni), ostatné prvôstky v 3. dni nadojili o 30 - 45 % mlieka menej v porovnaní s večerným dojením v 5. dni.

II. Množstvo nadojeného mlieka počas prvého a tretieho večerného dojenia – Milk amounts received during the first and third evening milkings

Číslo prvôstky ¹	Nádoj (kg) - večerné dojenie ²	
	prvé ³	tretie ⁴
1.	4,02	7,57
2.	8,23	7,98
3.	5,14	7,65
4.	7,00	9,44
$\bar{x}$	6,10	8,21
s	1,88	0,84

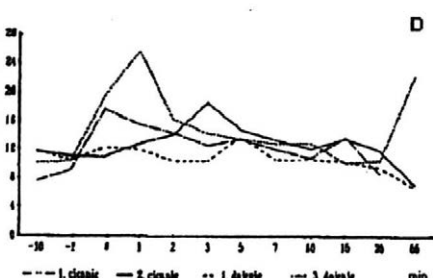
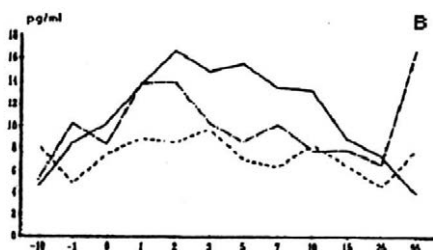
¹first-calver no., ²milk yield (kg) - evening milking, ³first, ⁴third



1. Priemerné hladiny oxytocínu (pg/ml) a kortizolu (nmol/l) počas dňa, cicania a dojenia u štyroch prvôtok – The mean concentrations of oxytocin (pg/ml) and cortisol (nmol/l) during the day, sucking and milking in four first-calvers

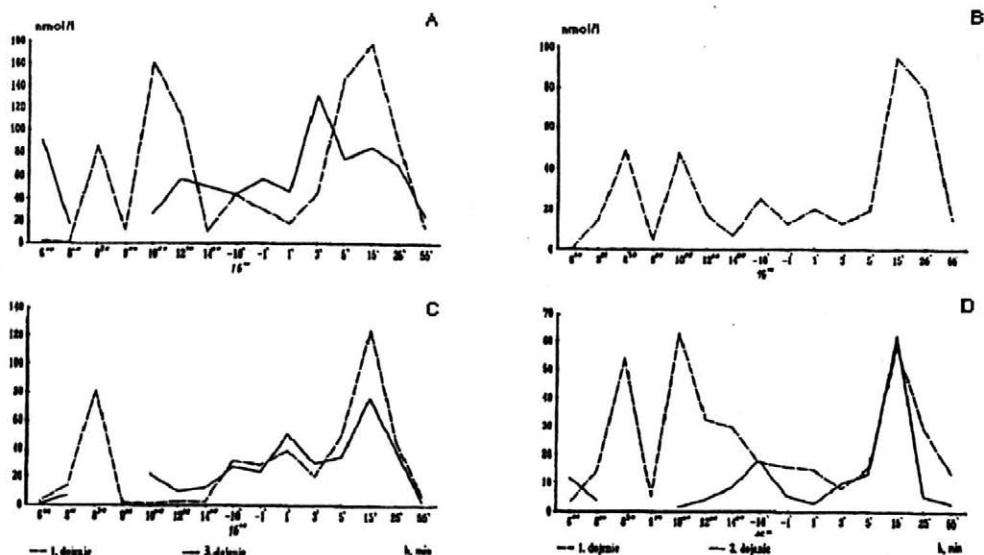
Vysvetlivky pre obr. 1 až 3 – Explanatory notes to Figs. 1 to 3:

S = masáž; A = prvá prvôtka, B = druhá prvôtka, C = tretia prvôtka, D = štvrtá prvôtka – S = stimulation; A = first primipara, B = second primipara, C = third primipara, D = fourth primipara; 1. cicanie - 1st sucking, 2. cicanie - 2nd sucking, 1. dojenie - 1st milking, 3. dojenie - 3rd milking



2. Hladina oxytocínu (pg/ml) počas cicania a dojenia u jednotlivých prvôtok – Oxytocin concentrations (pg/ml) during sucking and milking in individual first-calvers

Na obr. 1 a v tab. III sú znázornené priemerné hladiny oxytocínu v reakcií na cicanie a dojenie. Vrchol koncentrácie bol počas cicania dosahovaný v 2. min ($21,39 \pm 7,86$ pg/ml). Počas prvého strojového dojenia vrchol koncentrácie bol v 1. min ($15,23 \pm 7,93$ pg/ml) a na konci dojenia $10,12 \pm 4,91$ pg/ml. V 5. dni pokusu



3. Hladina kortizolu (nmol/l) počas dňa a dojenja u jednotlivých prvôstok – Cortisol concentrations (nmol/l) during the day and milking in individual first-calvers

sme vrchol koncentrácie zaznamenali v 2. min ($34,72 \pm 30,89$ pg/ml) a na konci dojenja $21,32 \pm 10,15$ pg/ml). Počas prvého dojenja (3. deň) sme zaznamenali najnižšie priemerné hladiny oxytocínu v porovnaní s cicaním resp. tretím dojením v 5. dni, pričom najvyššie hodnoty boli dosahované počas tretieho dojenja. Poukazujú na to aj individuálne hladiny u jednotlivých dojnic (obr. 2).

Priemerná hladina oxytocínu počas 7 min dojenja bola u prvôstok pri prvom dojení ($12,39 \pm 5,81$ pg/ml) preukazne nižšia v porovnaní s priemernými hodnotami nameranými pri treťom dojení ($28,01 \pm 18,56$ pg/ml; $P < 0,001$), resp. počas cicania ($18,32 \pm 7,15$ pg/ml; $P < 0,01$). Preukazný rozdiel v hladine oxytocínu bol aj medzi hodnotami pri treťom dojení a obdobím cicania ($P < 0,01$).

Priemerná hladina kortizolu v priebehu 3. dňa ako aj počas dojenja v tomto dni bola vyššia v porovnaní s 5. dňom (obr. 1, tab. III), pričom preukazný bol rozdiel len v priebehu dňa ($32,83 \pm 29,28$ nmol/l 3. deň; $17,24 \pm 15,86$ nmol/l 5. deň; $P < 0,05$). Vrchol koncentrácie počas dojenja v 3. dni bol dosahovaný v 15. min ($114,71 \pm 50,46$ nmol/l) a v 5. dni opäť v 15. min ($74,69 \pm 11,44$ nmol/l).

U všetkých prvôstok sme po presune zistili v prvej polhodine nárast hladiny kortizolu s opätovným znížením v ďalšej polhodine (obr. 3).

DISKUSIA

V priebehu prvého strojového dojenja sme u týchto prvôstok zaznamenali o 0 - 45 % nižší nádoj v porovnaní s nádojom v 5. dni pokusu. U všetkých prvôstok sme po stimulácii masážou ako aj v priebehu dojenja zistili len minimálne zvýšenie

III. Priemerné hladiny oxytocínu a kortizolu počas dňa, cicania a dojenia u štyroch prvôtok – The mean oxytocin and cortisol concentrations during the day, sucking and milking in four first-calvers

Oxytocín (pg/ml)																
		čas (min) ⁴														
		-20	-10	-1	0	1	2	3	5	7	10	15	25	60		
Cicanie ¹	$\bar{x}$	8,03	9,98	15,08	18,56	18,98	21,39	20,58	15,37	14,01	12,74	8,84	7,74	8,58		
	s	3,36	3,54	6,24	8,75	7,56	7,86	9,16	4,95	3,72	2,82	4,94	5,49	5,41		
Prvé dojenie ²	$\bar{x}$	6,02	16,06	9,60	11,09	15,23	13,05	10,37	13,74	10,12	10,45	8,95	11,97	8,23		
	s	1,76	6,93	3,27	5,75	7,93	5,89	5,64	6,60	4,91	5,81	2,39	6,87	5,37		
Tretie dojenie ³	$\bar{x}$	8,74	7,81	6,37	26,21	31,61	34,72	25,76	29,88	21,32	11,50	12,92	12,98	15,56		
	s	5,70	5,05	4,35	21,33	21,89	30,89	12,42	20,54	10,15	8,36	4,71	2,79	7,32		
Kortizol (nmol/l)																
		čas (h) ⁵						dojenie (min) ⁶								
		6.00	8.00	8.30	9.00	10.00	12.00	14.00	-20	-10	-1	1	3	5	15	
Prvé dojenie ²	2,83	12,32	67,78	6,67	53,89	41,98	12,89	28,54	29,79	22,16	23,19	21,83	58,07	114,17	60,82	12,85
	1,56	5,02	19,24	4,19	39,92	48,04	11,79	12,05	11,01	9,11	11,09	16,34	61,17	50,46	27,72	3,95
Tretie dojenie ³	12,41	9,69			16,86	23,76	23,92	6,03	29,81	29,16	33,50	57,27	41,47	74,69	38,57	10,17
	7,13	5,23			13,42	29,17	23,34	4,05	12,91	26,56	26,65	65,38	31,18	11,44	32,38	12,71

¹sucking, ²first milking, ³third milking, ⁴time (min), ⁵time (h), ⁶milking (min)

hladiny oxytocínu v krvi. Predpokladáme, že ide o centrálnu tlmenú produkciu oxytocínu, ktorá sa však vôbec neprejavila v ejekcii mlieka u druhej prvôstky. Pravdepodobne to súvisí s 2,5-násobne vyššími hladinami oxytocínu nameranými počas dojenia u tejto prvôstky v porovnaní s ostatným prvôstkami. Podobné zmeny v sekrécii oxytocínu pozoroval B r u c k m a i e r a i. (1992) u prvôstok s poruchami ejekcie v prvých dvoch týždňoch po otelení alebo pri presune dojníc tesne pred dojením do nevhodných podmienok. U týchto dojníc dochádza k zadržaniu až 92 % mlieka počas dojenia, čo sme u našich prvôstok nepozorovali. Uvedení autori po exogénnom podaní oxytocínu vyvolali ejekciu mlieka.

Pri periférnej inhibícii sa síce hladina oxytocínu zvyšuje následkom masáže a dojenia, ale v dôsledku pôsobenia katecholamínov vyvolaných stresom dochádza na úrovni vemena k úplnému alebo čiastočnému zastaveniu ejekcie a to v závislosti od toho, či bol stres vyvolaný pred alebo po masáži vemena pred dojením (B l u m a i., 1989; B r u c k m a i e r a i., 1991). Exogénne podanie oxytocínu pri periférnej inhibícii nevyvolá ejekciu mlieka. Pravdepodobne okrem centrálnej inhibície môžeme u 1., 3. a 4. prvôstky pozorovať aj periférnu inhibíciu špúšťania mlieka. Ukazuje sa, že na variabilitu oxytocínu sa teda podieľa aj náchylnosť zvierat na stres.

Aj napriek možnej centrálnej alebo periférnej inhibícii ejekcie mlieka, ktoré ovplyvnili množstvo prvého nádoja u sledovaných prvôstok, existujú pravdepodobne aj ďalšie faktory, ktoré sa podieľajú v regulácii uvoľňovania oxytocínu a ejekcie mlieka. Napr. A k e r s a L e f c o u r t (1982) zistili vyššiu hladinu oxytocínu počas strojového dojenia v porovnaní s cicaním. Podobné rozdiely sme zaznamenali aj v našom pokuse medzi hodnotami nameranými počas cicania a tretieho dojenia. Pravdepodobne sa jedná o rozdielnú reguláciu sekrécie oxytocínu následkom stimulácie vemena dojníc počas cicania a strojového dojenia. Predpokladáme, že zmeny hladiny oxytocínu počas prvého dojenia v 3. dni pokusu sú aj pod vplyvom regulačných mechanizmov uvoľňovania oxytocínu vytvorených počas cicania.

V priebehu pokusu sme zaznamenali vysokú variabilitu nameraných hodnôt oxytocínu v reakcii na cicanie a dojenie medzi jednotlivými prvôstkami, pričom najvyššia variabilita bola zistená počas dojenia v 5. dni pokusu. Podobne vysokú variabilitu nameraných hodnôt oxytocínu počas dojenia uvádzajú v prácach aj iní autori (M a y e r a i., 1991; M a y e r a i., 1984). S c h a m s a i. (1984) u 29 dojníc počas 195 dojení zistili päť rôznych typov reakcií dojníc v uvoľňovaní oxytocínu počas dojenia, avšak len 11 dojníc malo vždy ten istý priebeh hladiny oxytocínu počas siedmich za sebou sledovaných dojení.

Zmeny hladiny kortizolu počas dojenia sú v súlade s údajmi autorov G o r e w i t a i. (1992). Zvyšovanie hladiny kortizolu v krvi je výsledkom pôsobenia určitého stresora. Avšak význam zvyšovania hladiny kortizolu v priebehu dojenia je v súčasnosti nejasný (G o r e w i t a i., 1992). Nami zaznamenané vyššie hladiny kortizolu v priebehu dňa ako aj počas dojenia v 3. dni pokusu v porovnaní s hodnotami v 5. dni sú pravdepodobne výsledkom pôsobenia dvoch stresorov: strata mláďata a zmena podmienok ustajnenia a získavania mlieka (zmena z cicania na dojenie). U sledovaných prvôstok sme pozorovali, že čím intenzívnejšie boli behaviorálne prejavy po presune a odstave teliat, tým bola vyššia hladina kortizolu v krvi

v priebehu dňa. L e f c o u r t a i. (1991) zistili, že odstav teliat od kráv je väčším stresom pre dojnice než pre teľatá. V ďalšom období nášho pokusu pravdepodobne došlo k adaptácii sa na strojové dojenie, na čo poukazuje aj vyššia hladina oxytocínu a nižšia hladina kortizolu v 5. dni v porovnaní s 3. dňom pokusu.

Reakcia prvôstok uvoľňovaním oxytocínu a kortizolu na prvé kontakty so strojovým dojením po predchádzajúcom dlhšom období dojčenia teliat je málo sledovaným problémom. Ukazuje sa, že stres vyvolaný prerušením vzťahu matka - mláďa, zohráva kvalitatívne inú úlohu v procese ejekcie mlieka a zmien hladiny oxytocínu v reakcii na prvé strojové dojenie. Kumulujú sa tu pravdepodobne dva stresory, zmena podmienok ustajnenia a strata mláďaťa. Poznávanie týchto vzťahov ako aj ďalšie objasňovanie faktorov, ktoré regulujú sekréciu týchto hormónov môžu byť predpokladom ovplyvňovania procesu syntézy a ejekcie mlieka u dojníc.

Pod'akovanie

Úprimné poďakovanie patrí MVDr. R. Hečkoví a MVDr. B. Harkabusovi za úspešnú a šetnú kateterizáciu pokusných zvierat, pani L. Šabíkovej za pomoc pri laboratórnom spracovaní výsledkov a pani E. Belákovéj za spoluprácu počas dojenia kráv.

Literatúra

- AKERS, M. R. - LEFCOURT, A. M.: Milking- and suckling-induced secretion of oxytocin and prolactin in parturient cows. *Horm. and Behav.* 16, 1982, s. 87-93.
- BLUM, J. W. - SCHAMS, D. - BRUCKMAIER, R.: Catecholamines, oxytocin and milk removal in dairy cows. *J. Dairy Res.*, 56, 1989, s. 167-177.
- BRUCKMAIER, R. - MAYER, H. - SCHAMS, D.: Effect of alfa- and β -adrenergic agonist on intramammary pressure and milk flow in dairy cows. *J. Dairy Res.*, 58, 1991, s. 411-419.
- BRUCKMAIER, R. - SCHAMS, D. - BLUM, J. W.: Aetiology of disturbed milk ejection in parturient primiparous cows. *J. Dairy Res.*, 59, 1992, s. 479-489.
- FAHRBACH, S. E. - MORELL, J. J. - PFAFF, D. W.: Oxytocin induction of short-latency maternal behavior in nulliparous estrogen-primed female rats. *Horm. Behav.*, 18, 1984, s. 267.
- GOREWIT, R. C.: Lactation biology and methods of increasing efficiency. Page 208 un Design food. Animal product options in the market place. Washington, DC, Natl. Acad. Press 1988.
- GOREWIT, R. C. - GASSMAM, K. B.: Effects of duration of udder stimulation on milking dynamics and oxytocin release. *J. Dairy Sci.*, 68, 1985, s. 1813-1818.
- GOREWIT, R. C. - SVENNERSTEN, K. - BUTLER, W. R. - UVNAS-MOBERG, K.: Endocrine responses in cows milked by hand and machine. *J. Dairy Sci.*, 75, 1992, s. 443-448.
- LEFCOURT, A. M. - ELSASSER, T. H. - BARFIELD, R. C.: Catecholamine and cortisol responses to weaning at 4-6 months in Angua x Hereford cows. *J. Dairy Sci.*, 74 1991, s. 155.
- MAYER, H. - BRUCKMAIER, R. - SCHAMS, D.: Lactational changes in oxytocin release, intramammary pressure and milking characteristics in dairy cows. *J. Dairy Res.*, 58, 1991, s. 159-169.
- MAYER, H. - SCHAMS, D. - WORSTORFF, H. - PROKOPP, A.: Secretion oxytocin and milk removal as affected by milking cows with and without manual stimulation. *J. Endocrinol.*, 103, 1984, s. 355-361.

- McFADDEN, T. B. - AKERS, R. M. - SMITH, J. J.: Endocrine response to milking among cows milked under three different conditions. *J. Dairy Sci.*, 70, 1987, s. 226.
- PEEL, C. J. - ROBINSON, I. B. - McGOWAN, A. A.: Effects of multiple suckling by dairy heifers for short periods before or after calving on subsequent milk yields. *Austral. J. exp. Agric.*, 19, 1979, s. 535-540.
- SAGI, R. - GOREWIT, R. C. - MERRILL, W. G. - WILSON, D. B.: Premilking stimulation effects on milk performance and oxytocin and prolactin release in cows. *J. Dairy Sci.*, 63, 1980, s. 800-806.
- SCHAMS, D. - MAYER, H. - PROKOPP, A. - WORSTORFF, H.: Oxytocin secreting during milking in dairy cows with regard to the variation and importance of a threshold level for milk removal. *J. Endocrinol.*, 102, 1984, s. 337-343.

Došlo 25. 5. 1992

TANČIN, V. - HARCEK, L. - BROUČEK, J. - UHRINČAŘ, M. - MIHINA, Š.: (Research Institute of Animal Production, Nitra):

Variations of oxytocin and cortisol concentrations in first-calvers after their transition to machine milking following 21-day calf sucking.

Vet. Med. - Czech, 38, 1993 (8) : 449-458.

Four first-calvers of the Black-Pied breed with calves sucking their milk until day 21 of lactation were included in a trial. One suckler cow had four calves.

The trial took place within five days which included days 20 and 21 in the first-calvers, that means the last two days with sucking calves (designated as day 1 and day 2 of trial - first and second calf sucking) and days 22 and 24, that means the first and third day after the cows were moved to a cowshed (designated as the third and fifth day of trial - first and third evening machine milking). The first-calvers were separated from the calves and moved to a cowshed at 8 o'clock a.m. on day 3 of trial (Tab. I). The responses to calf sucking were investigated after four-hour prevention of calves to approach the cows (12.00 - 16.00 p.m.).

Blood was sampled with a catheter which was introduced into the *vena jugularis* a day before the trial outset. Blood samples for cortisol determination were taken in two-hour intervals (when the cows were moved to the cowshed twice in half-an-hour interval and once in an hour interval). Blood samplings were effectuated by day, before, during and after milking, or sucking. Machine milking was finished within 7 to 8 minutes. Two to four calves were intensively sucking a cow within the first 15 minutes, then sucking was irregular. Plasma samples were deep-frozen and stored at -20 °C until determinations were performed. Oxytocin and cortisol in the blood plasma were determined by radioassays.

In the first evening machine milking (day 3) the second cow yielded 8.23 kg milk while on day 5 in the third milking it was 7.98 kg. The other first-calvers gave by 30 - 45 % less milk on day 3 in comparison with evening milking on day 5 (Tab. II).

A trend of the higher average values of oxytocin was observed in machine milking on day 5 of trial if compared with the values recorded during calf sucking, or the first milking (day 3), Fig. 1a, Tab. III. The mean oxytocin concentration during 7-minute milking (12.39 ± 5.81 pg/ml) was significantly lower in the first-calvers on day 3 in comparison with the mean values recorded on day 5 (28.01 ± 18.56 pg/ml; $P < 0.001$),

or during sucking (18.32 ± 7.15 pg/ml; $P < 0.01$). There was also a significant difference in oxytocin concentrations between the values on day 5 and during sucking ($P < 0.01$). In the first milking (day 3) the lowest mean oxytocin concentrations were recorded as a response to stimulation if compared with sucking, or third milking on day 5. This is also documented by individual concentrations in the cows (Fig. 2).

The mean cortisol concentration on day 3 as well as on the same day during milking was higher in comparison with the values on day 5 (Fig. 1b), while a significant difference was observed during the day only (32.83 ± 29.28 nmol/l on day 3; 17.24 ± 15.86 nmol/l on day 5; $P < 0.05$).

When the cows were moved to a cowshed, an increase in cortisol concentrations was observed within the first half an hour in all of them followed by a decrease in another half an hour (Fig. 3). As for other samplings during the day, cortisol concentrations were related to the behavioral manifestations of the cows which were also evident during milking. The most intensive behavioral activities, such as moving, looking round, treating, refusal to accept feed, kicking during milking, were found on day 3 of trial particularly in the first primipara and to a lesser extent in the third and fourth if compared with their behaviour on day 5 of the trial. On day 5 the intensity of behavioral activities of the first-calvers decreased to the level similar like in the other dairy cows. The behaviour of the second primipara was the same on days 3 and 5 of trial.

During the trial the variability of the oxytocin concentrations was high as a result of responses to sucking and milking, being the highest during milking on day 5.

The more elevated circadian cortisol concentrations as well as during milking on day 3 of trial if compared with the values on day 5 are likely to be a result of two stressors: loss of a young, and change in housing conditions and milk drawing. We could find in the first-calvers investigated that the more intensive the behavioral manifestations after moving and calf weaning, the higher the circadian cortisol concentrations in the blood.

Despite the potential central or peripheral inhibition of milk ejection observed in the first-calvers there may be further factors which participate in the control of oxytocin release and milk ejection. We suppose that the variations of oxytocin concentrations during first milking on day 3 are also influenced by regulatory mechanisms of oxytocin release established during calf sucking.

first-calvers; calf sucking; milking; blood; oxytocin; cortisol

Contact Address:

Ing. Vladimír T a n ě i n, CSc., Výskumný ústav živočíšnej výroby, Hlohovská 2,
949 92 Nitra, Slovak Republic
Tel. 087 410800, fax 087 419032

EXPERIMENTÁLNA PAROXYZMÁLNA HEMOGLOBINÚRIA TELÍAT A JEJ DOSAH NA HEMATOLOGICKÝ A ACIDOBÁZICKÝ PROFIL

E. Slanina¹, O. Nagy¹, M. Šedovič², J. Kaderiak²

¹Univerzita veterinárskeho lekárstva, Košice

²Ústav experimentálnej veterinárnej medicíny, Košice

Vyvolali sme experimentálnu paroxyzmálnu hemoglobínúriu u 8 teliat - býčkov čierostrakatého plemena na rastlinnej výžive o hmotnosti 55 - 70 kg a veku 2 mesiacov. Po podaní vody 12 - 14 °C teplej v množstve 12 % telesnej hmotnosti sme sledovali zväčšený objem brušnej dutiny, tremor svalstva, zhrbený postoj a prvé spontánne hemoglobínurické močenie 45 - 60 minút po aplikácii vody. Triasové hodnoty inklinovali k hypotermii, miernej bradykardii a bradypnoe s úpravou do 24 hodín, s výnimkou prvých 20 minút po podaní vody, kedy bola zaznamenaná výrazná tachykardia s arytmiou (100 - 130 za min). Hodnoty hematologického profilu smerovali k hydrémii, najvýraznejšie a najdlhšie u hemoglobínu. Hodnoty hemoglobínu, erytrocytov a hematokritu boli ešte po 24 hodinách pod úrovňou východných hodnôt a trend k leukopénii sa zmenil na leukocytózu. Acidobázický stav zaznamenal mierny trend k acidémii s poklesom pH, aktuálneho bikarbonátu a BE v 1. hodine s následným vyrovnaním hodnôt, resp. vzostupom v rámci fyziologickej normy. Krvné plyny vykazali mierny pokles v 2. hodine (pO₂) resp. 3. hodine (pCO₂).

teľa; krv; acidobáza; paroxyzmálna hemoglobínúria

Hemoglobínúriu s alterovaným klinickým stavom a načervenalou až tmavočervenou farbou moča spôsobujú krvné parazity, bakteriálne ochorenia (leptospiroza, klostrídie) ako aj rôzne otravy (med', rastlinné toxíny) či nadmerný príjem vody (Rosenberger, 1970).

Častou príčinou hemoglobínúrie u teliat býva intoxikácia vodou, označovaná ako paroxyzmálna hemoglobínúria. Prirodzený výskyt prípadov otravy vodou bol popísaný najmä v 40. rokoch (Ascoli, 1936; Harvey, 1936; Lewellyn-Jones, 1936). Príčiny vzniku sú späté s funkciou čepcového žľabu, ktorá je veľmi závislá na veku teliat. U starších kusov po prechode na rastlinnú výživu sa pri pití vody tento reflex neuplatňuje, aj keď hlad a smäd náchylnosť na jeho vyvolanie zvyšujú. Smäd vyvolaný skrmovaním vysokokonzentrovaných mliečnych zmesí, nedostatkom vody počas rastlinnej výživy alebo počas transportu spôsobia, že v prípade náhleho prístupu k vode zvieratá ju prijímajú naraz v nadmernom množstve. Jej veľká časť sa dostáva čepcovým žľabom do slezu a tenkého čreva

a v dôsledku resorpcie sa zníži osmotický tlak krvi, nastáva hemolýza erytrocytov a hemoglobín je vylučovaný močom (S l a n i n a , 1977).

Vznik paroxyzmálnej hemoglobínúrie spôsobí vypitie vody v množstve väčšom ako je 10 % telesnej hmotnosti. K vylučovaniu hemoglobínu močom sú pridružené aj ďalšie klinické príznaky rôznej intenzity (R o s s o w a H o r v á t h , 1988). Nízka teplota prostredia a vypitie vody môžu klinický stav zhoršiť (R o - s e n b e r g e r , 1970).

V škále predispozičných faktorov, prognóze ale najmä v diferenciálnej diagnostike paroxyzmálnej hemoglobínúrie u teliat zostáva stále veľa nejasností. Z uvedeného dôvodu sme vyvolali experimentálnu paroxyzmálnu hemoglobínúriu so širším sledovaním dielčích metabolických profilov. Predkladané časti uvádzajú klinický nález, skrátený hematologický profil a acidobázický stav.

Pretože sme v organizme predpokladali vznik disiónie a doposiaľ sme sa v literatúre nestretli s poznatkami o vplyve navodenej disiónie na acidobázickú homeostázu, preverili sme preto tiež zmeny, ktoré pri tejto poruche zdravotného stavu v acidobáze nastanú.

MATERIÁL A METÓDY

V experimente sme použili 8 zdravých teliat - býčkov čiernostrakatého plemena vo veku dva mesiace. Zvieratá o hmotnosti 55 - 70 kg boli kŕmené výlučne rastlinným krmivom (lúčne seno, jadrové krmivo a voda *ad libitum*). Zvieratá boli ustajnené na klinike.

Predpríprava pokusu spočívala vo vynechaní dvoch kŕmení a odstavenia napájania na 26 - 28 hodín. Hemoglobínúriu sme vyvolali podaním vody v množstve 12 % telesnej hmotnosti (6,7 - 8,4 l), o teplote 12 - 14 °C. Teľatá ju prijímali pomocou cumľa, nevypitý zvyšok danej dávky bol podaný pomocou sondy.

Sledovali sme klinické príznaky, hodnoty triasu a odoberali sme krv na hematologické vyšetrenie (pH, pCO₂, pO₂, akt. HCO₃, BE a SAT), ktoré bolo vykonané na prístroji ABL₄ fy Radiometer Copenhagen pri teplote 37 °C.

Krv sme odoberali z v. *jugularis*. Na vyšetrenie acidobázického profilu sme krv odoberali do heparinizovaných kapilár typu D 551/20/150.

Odbery vzoriek, ako aj sledovanie zmien klinického stavu s hodnotením triasu sme robili pred aplikáciou vody (0. odber). Odber krvi na acidobázické vyšetrenie bol urobený aj po 24 hodinách. Vo výsledkoch pre porovnanie uvádzame aj hodnoty získané pred navodenou hladovkou a odstavením vody pri bežnom kŕmení (-48).

VÝSLEDKY A DISKUSIA

Výsledky vyšetrenia hodnôt triasu sú znázornené na obr. 1. Výsledky vyšetrenia hematologického profilu a acidobázy sú v obr. 2 - 5.

Teľatá podanú vodu po navodenej hladovke a smäde prijali spontánnym pitím z cumľa v množstve približne 90 % z celkovej dávky, čo predstavovalo 6 - 7,5 litrov. Zvyšok im bol podaný pažerákovou sondou.

KLINICKÝ NÁLEZ PO PRÍJME VODY

Všeobecný stav mal trend k psychickému útlmu do úrovne miernej apatie. Apetít teliat nebol výrazne narušený, defekácia nezaznamenala odchýlky. Bol pozorovaný zväčšený objem brušnej dutiny, zhrbený postoj a tremor, hlavne svalstva panvových končatín. Zvieratá postávali, nepokúšali sa o ľhanie. Prvé spontánne močenie bolo zaznamenané 45 - 60 minút po podaní vody a moč bol tmavočervenej farby. Neboli pozorované príznaky kolikových bolestí, ťažké poruchy CNS, ani výraznejšia tympania.

HODNOTY TRIASU

Oproti stavu 48 hodín pred pokusom (-48) došlo u všetkých troch ukazovateľov (obr. 1) k poklesu hodnôt v nulte pokusnej hodine a dostali sa v priemere na dolnú fyziologickú hranicu (pulz a teplota). Po podaní vody nastala hypotermia, najvýraznejšie v 1. hodine a to s poklesom v priemere až o 1,7 °C ($p < 0,001$). Potom nasledoval mierny vzostup, v 2. hodine o 0,3 °C a až v 6. hodine pokusu sa teplota priblížila k východzej hodnote v 0. hodine pokusu. Po 24 hodinách bola zaznamenaná priemerná telesná teplota 38,6 °C. U hodnôt dychu a pulzu sme oproti stavu pred pokusom (-48) zaznamenali len mierny pokles do 5. hodiny (dych, $p < 0,001$), resp. do 3. hodiny (pulz, $p < 0,001$). Po 24 hodinách hodnoty dychu a pulzu dosiahli fyziologickú úroveň, ktorá bola zaznamenaná 48 hodín pred podaním vody. Najvýraznejšie zmeny v srdcovej činnosti boli zaznamenané prvých 20 minút po podaní vody vo forme výraznej tachykardie (100 - 130 za min) s arytmiou. Následne sa stav upravil a ustálil (obr. 1).

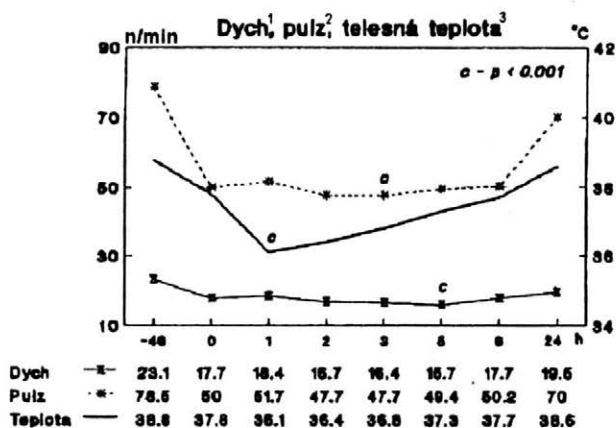
HEMATOLOGICKÝ PROFIL

Všeobecný trend sledovaných ukazovateľov poukazuje na hydrémiu a hemolytickú anémiu (obr. 2 a 3). Najvýraznejšie sa prejavila u hemoglobínu. Hemoglobinnémia bola maximálna v 3. a 6. hodine ($p < 0,01$) s postupnou úpravou, ale ani za 24 hodín nedosiahla východzie hladiny. Stav anémie u erytrocytov bol menej výrazný a zaznamenali sme ho až v 5. resp. v 24. hodine ($p < 0,01$). Hematokrit ($p < 0,001$) v podstate kopíroval úroveň erytrocytov. Trend k leukopénii bol zreteľný v 2. až 3. hodine ($p < 0,05$) s postupným vyrovňovaním a prechodom do miernej leukocytózy v 24. hodine.

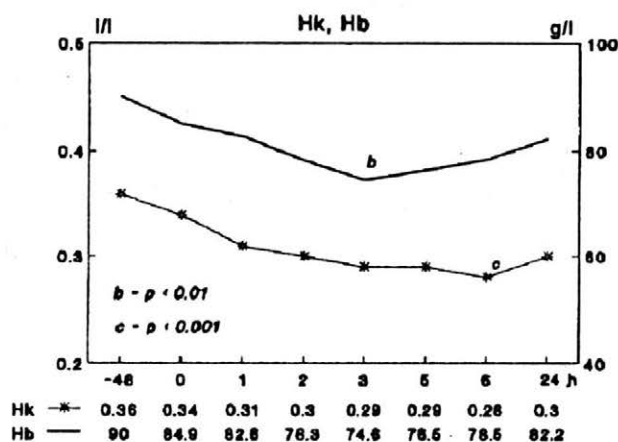
ACIDOBÁZICKÝ PROFIL

Acidobáza zaznamenala v sledovaných ukazovateľoch mierny trend k acidémii poklesom pH ($p < 0,001$), BE ($p < 0,01$) a nevýznamným poklesom aktuálneho bikarbonátu v 1. hodine (obr. 4 a 5), s následnou stabilizáciou vo fyziologickom rozpätí, resp. miernym vzostupom týchto hodnôt v 5. a 6. hodine ale len v rámci fyziologickej normy. Hodnoty krvných plynov zaznamenali mierny nevýznamný pokles u $p\text{CO}_2$ s maximom v 3. hodine, kým hodnoty $p\text{O}_2$ ($p < 0,01$) podobne ako aj SAT ($p < 0,001$) vykázali maximálny pokles už v 2. hodine s následným vzostupom hodnôt.

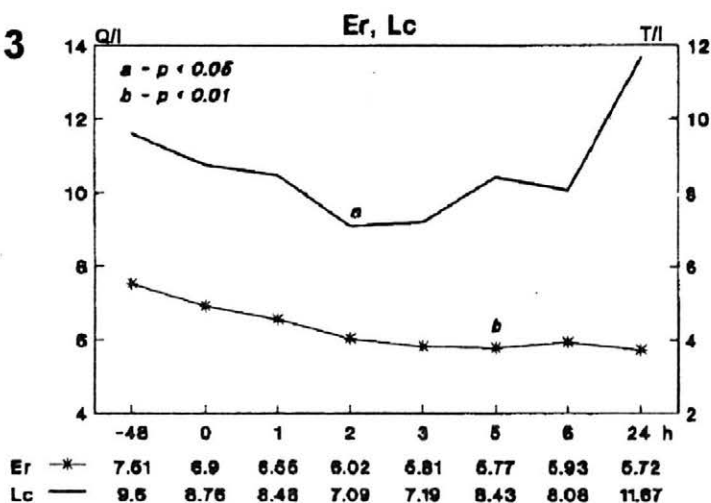
1

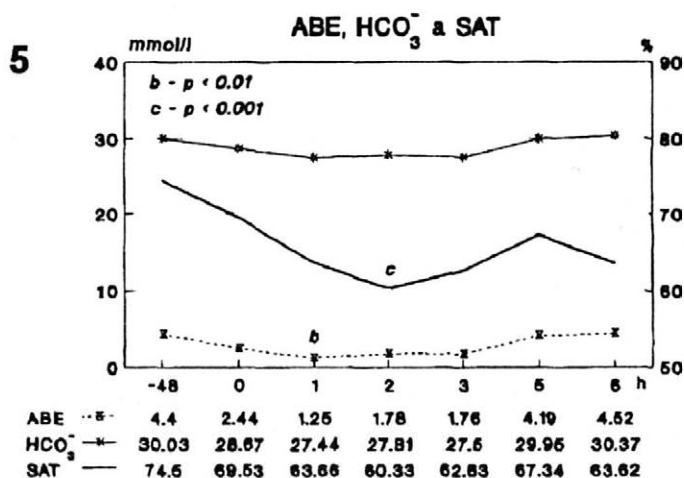
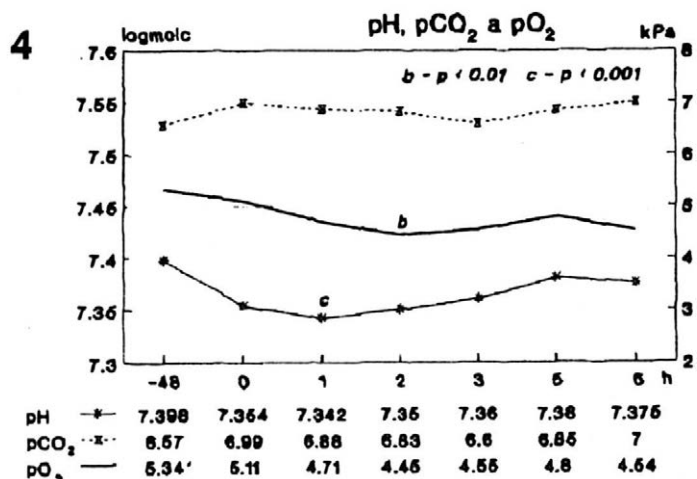


2



3





1. - 5. Zmeny sledovaných parametrov počas experimentálnej paroxysmálnej hemoglobínúrie – Changes of the parameters investigated during experimental paroxysmal haemoglobinuria

Legenda k obr. 1 až 5 – Legend to Figs. 1 to 5:

Hk = hodnoty hematokritu – hematocrit values

Hb = koncentrácia hemoglobínu – haemoglobin concentration

Er = koncentrácia erytrocytov – erythrocyte concentration

Lc = koncentrácia leukocytov – leucocyte concentration

pH = pH krvi – blood pH

pCO₂ = parciálny tlak oxidu uhličitého v krvi – partial CO₂ pressure in blood

pO₂ = parciálny tlak kyslíka v krvi – partial oxygen pressure in blood

HCO₃⁻ = koncentrácia bikarbonátu v krvi – bicarbonate concentration in blood

ABE = koncentrácia aktuálneho base excess v krvi – actual base excess concentration in blood

SAT = saturácia hemoglobínu kyslíkom – oxygen saturation of haemoglobin

¹breathing, ²pulse rate, ³body temperature

Pri sledovaní dynamiky uvedených ukazovateľov vidieť, že u niektorých došlo už vplyvom navodenej hladovky a odstavenia vody k zmenám oproti obdobiu pri bežnom kŕmení. Prejavilo sa to výraznejšie u hodnôt triasu poklesom telesnej teploty, frekvencie dychu a pulzu podobne ako pri acidobázickom profile kde nastal pokles pH krvi, aktuálneho bikarbonátu a BE.

Naše pozorovania klinických prejavov nárazového vypitia väčšieho množstva vody sú podobné ako uvádzajú niektorí autori pri ľahšej forme ochorenia (Rosenberger, 1970; Slanina, 1977; Vrzgula, 1982), ktorí popisujú, že vypitie väčšieho množstva vody ako je 10 % telesnej hmotnosti spôsobuje vážnejší stav a chladné prostredie a studená voda pôsobia súčasne ako nepriaznivý faktor. Naše teľatá z ponúknutého množstva vody (12 % telesnej hmotnosti) spontánne vypili len časť, rovnajúcu sa asi 9 - 10 % živej hmotnosti) a to do 10 minút; zvieratá boli ustajnené v chladnej maštali (január - február) a bola im podaná studená voda. Kirkbride a Frey (1967) pri experimentálnej intoxikácii vodou a sledovaní klinických prejavov uvádzajú spontánny príjem vody teľatami o hmotnosti 50 - 65 kg v množstve až do 11,5 litrov napriek tomu, že im pred pokusom voda nebola odstavená a boli bežne napájané mliečnou náhražkou. My sme však napriek vyvolaniu smädu a hladu spontánne vypitie takého množstva vody u teľiat nezaznamenali a preto im zvýšná dávka vody bola podaná sondou.

V klinickom obraze sme najvýraznejšie zmeny zaznamenali v prvú hodinu po podaní vody. Telesná teplota poklesla o viac než 0,5 až 1 °C ako uvádza napr. Rosenberger (1970), a to v priemere až o 1,7 °C. Tremor svalstva bol pozorovaný už počas vypitia väčšej časti vody. Zároveň nastúpila búšivá nepravidelná činnosť srdca. Arytmia ako aj tachykardia pretrvávali len približne 20 minút po podaní vody. Oproti citovaným autorom sme aj pri prijíme vody zodpovedajúcej 10 - 12 % telesnej hmotnosti nezaznamenali výrazné klinické prejavy intoxikácie a nebolo ani nutné terapeuticky zasiahnuť. Naše pozorovania korešpondujú s údajmi, ktoré uvádzajú Rossow a Horváth (1988), podľa ktorých organizmus zdravého zvierťa dokáže predávkovanie vodou dobre kompenzovať zvýšenou diurézou bez toho, aby došlo ku klinickým prejavom ochorenia.

Naše výsledky preukázali aj predpokladaný vplyv nadbytku vody v organizme na pokles hematologických ukazovateľov, predovšetkým počtu Er a Hk ako uvádzajú aj Rosenberger (1970) a Vrzgula (1982). U acidobázického profilu chýbajú v dostupných prácach poznatky o vplyve intoxikácie vodou na jej dynamiku a preto sú naše výsledky v tejto oblasti rozšírením škály poznatkov v patogeneze tohto ochorenia. Napriek predpokladanému vplyvu navodeného stavu na acidobázickú rovnováhu sme zaznamenali mierne výkyvy a to v oblasti fyziologickej normy.

Naše výsledky týmto dopĺňajú doterajšie poznatky predovšetkým v oblasti sledovania zmien vnútorného prostredia, hlavne acidobázického profilu v spojení s klinickým obrazom. Aj keď výskyt paroxysmálnej hemoglobínúrie nie je častý, nedostatky vyskytujúce sa v technológii chovu teľiat dávajú predpoklad k jeho vzniku. Z uvedeného dôvodu dáva sledovanie týchto ukazovateľov širší obraz o patogenéze, jeho dynamike ako aj podklady pre diagnostiku tohto ochorenia.

Podakovanie

Za preklad súhmu do anglického jazyka autori ďakujú Mgr. Gertrúde Tkáčikovej.

Literatúra

- ASCOLI, E. W.: Water poisoning in calves. *Veter. Rec.*, 48, 1936, s. 1082.
HARVEY, F. T.: Water poisoning in calves. *Veter. Rec.*, 48, 1936, s. 641.
KIRKBRIDE, C. A. - FREY, R. A.: Experimental water intoxication in calves. *J. Amer. veter. med. Assoc.*, 151, 1967, s. 742-746.
LLEWELIJN-JONES, H.: Excess of water as a cause of haemoglobinuria. *Veter. Rec.*, 48, 1936, s. 1056.
ROSENBERGER, G.: *Krankheiten des Rindes*. Berlin und Hamburg, Paul Parey 1970.
ROSSOW, N. - HORVÁTH, Z.: *Innere Krankheiten der Haustiere*. Jena, VEB Gustav Fischer Verlag 1988.
SLANINA, L.: *Zdravie a chorobnosť teliat v priemyselnej produkcii*. Bratislava, Príroda 1977.
VRZGULA, L.: *Poruchy látkového metabolizmu hospodárskych zvierat a ich prevencia*. Bratislava, Príroda 1982.

Došlo 12. 1. 1993

SLANINA, L. - NAGY, O. - ŠEDOVIČ, M. - KADERIAK, J. (Research Institute of Experimental Veterinary Medicine, Košice; University of Veterinary Medicine, Košice):

Experimental paroxysmal haemoglobinuria in calves and its effect on blood and acid-base indices.

Vet. Med. - Czech., 38, 1993 (8) : 459-466.

Water intoxication is considered to be one of the possible causes of haemoglobinuria in calves. As to predisposing factors, prognosis and particularly differential diagnosis, uncertainty is rather frequent. Therefore we tried to provoke this state in an experiment, in which the disiony-induced changes of the acid-base balance (pH, pCO₂, HCO₃, pO₂, BE, SAT of venous blood) were determined in addition to clinical observations (general behaviour, respiratory and pulse rates, body temperatures) and blood analysis (red and white blood cells, PCV and haemoglobin).

Experimental paroxysmal haemoglobinuria was induced in eight 2-months-old male calves of the Black Pied breed weighing 55 - 70 kg that were held on a green diet. After the animals had been given cold water (12 - 14 °C) at an amount of 12 % of their body weight, increased volume of the abdominal cavity, muscle tremor, and a stooping posture could be seen, and in 45 - 60 min. following water administration the first spontaneous haemoglobinuria occurred. Except the first 20 minutes following water gavage, when pronounced tachycardia accompanied by arrhythmia (100 - 130 per min.) was recorded, a tendency towards hypothermy, mild bradycardia and bradypnoe was observed; correction of these values occurred within 24 hours. Haematological indices revealed a hydraemic trend that was most pronounced and long-lasting in haemoglobin. Twenty-four hours after water gavage, haemoglobin, red blood cells and PCV values were still below their starting levels; the tendency toward leucopenia changed into leucocytosis.

The acid-base balance revealed a slight acidemic trend with decreasing pH, actual bicarbonate and BE levels in the first hour; later, equilibration and increase within the physiological range occurred. A slight decrease in pO_2 and pCO_2 levels was observed during the 2nd and 3rd hour, respectively.

In contrast to literary data our observations revealed that the gavage of cold water at an amount of 12 % of the animal's body weight did not induce such clinical symptoms that would necessitate therapeutical intervention. No adverse effects of experimentally induced disiony on the acid-base balance could be recorded.

calf; blood; acid-base balance; paroxysmal haemoglobinuria

Contact Address:

Prof. MVDr. Ľudovít S l a n i n a, CrSc., Univerzita veterinárskeho lekárstva, Komenského 73, 040 01 Košice, Slovak Republic
Tel. 095 32111 - 15, fax 095 767675

EXPERIMENTÁLNA PAROXYZMÁLNA HEMOGLOBINÚRIA TELIAŤ A VYBRANÉ BIOCHEMICKÉ UKAZOVATELE V KRVÍ A MOČI

M. Šedovič¹, O. Nagy¹, L. Slanina²

¹Ústav experimentálnej veterinárnej medicíny, Košice

²Univerzita veterinárskeho lekárstva, Košice

V pokuse sme použili 8 býčkov o hmotnosti 55 - 71 kg a veku 2 mesiacov, kŕmených objemovým krmivom. V sére a v moči sme stanovovali niektoré biochemické ukazovatele minerálneho, enzymatického, hepatálneho, energetického a močového profilu. Po aplikácii studenej vody v množstve 12 % telesnej hmotnosti sme pri posudzovaní hodnôt ionogramu zaznamenali pozitívnu koreláciu (súlad) s hydrémiou u všetkých ukazovateľov a bol pozorovaný pokles hodnôt sledovaných parametrov. K úprave došlo k 24. hodine s výnimkou Na a P, kde neboli dosiahnuté východzie hodnoty. Enzymatický profil nebol výrazne narušený. Najvýraznejšie sa zmenila aktivita AST vzostupom jej hodnôt v 5. hodine. Zaznamenali sme mierny trend k hypoproteinémii s pretrvávaním aj po 24 hodinách, k hypoglobulinémii s dosiahnutím východzej úrovne v 24. hodine a mierne zvýšenie hladiny albumínu v 24. hodine. Zaznamenali sme výrazne zvýšenú koncentráciu bilirubínu s maximom v 5. a 6. hodine s úpravou do 24. hodín. Močový profil poukazyval na polyúriu, acidúriu, zvodnenie moča a hemoglobínúriu, ktorá vrcholila medzi 1. a 3. hodinou po aplikácii vody.

teľa; sérum; moč; paroxysmálna hemoglobínúria

V diagnostike ochorení teliat sa sporadicky vyskytne aj nález hemoglobínúrie, ktorý sa objaví náhle a to buď vo výraznej forme s načervenalou až tmavočervenou farbou moča, prípadne ju zistíme len náhodne pri vyšetrovaní v rámci bežnej klinickej diagnostiky. Hemoglobínúria môže byť vyvolaná rôznymi činiteľmi ako sú krvné parazity, bakteriálne ochorenia, prípadne rôzne otravy a pod. (R o s s e n b e r g e r, 1970).

U teliat sa môžeme v niektorých prípadoch s náhlym vznikom hemoglobínúrie stretnúť aj pri nadmernom príjme vody (R o s s o w a H o r v á t h, 1988). Nadbytočný príjem exogénnej vody sa môže u teliat vyskytnúť pri hlade, ale najmä smäde, ktoré zvyšujú vyvolanie reflexu čepcového žľazu, ktorý sa inak u starších teliat po prechode na rastlinnú výživu pri pití vody neuplatňuje. Kŕmenie vysoko-koncentrovaných mliečnych zmesí, nedostatok vody počas rastlinnej výživy, výkrmu, na pastve, prípadne zamedzenie prístupu zvierat k vode na dlhší čas vyvolajú u teliat pocit smädu a v prípade následného náhleho prístupu teliat k vode, tieto ju prijímajú v nadmernom množstve. V dôsledku prechodu väčšej časti vody

čepcovým žľabom priamo do slezu a tenkého čreva nastáva jej rýchla resorpcia, zníženie osmotického tlaku krvi, hemolýza erytrocytov a vylučovanie hemoglobínu močom (Slaniņa, 1977).

Intoxikácia vodou u teľat bola popísaná pri jej prirodzenom výskyte v 40. rokoch (Ascoli, 1936; Harvey, 1936; Lewelijn-Jones, 1936) a bola vyvolaná aj experimentálne (Hannan, 1965; Kirkbride a Frey, 1967). Existujúce poznatky v danej problematike u hovädzieho dobytku zahŕňujúce informácie o predispozičných faktoroch, príznakoch a nálezoch, ako aj prognóze a terapii sú rôzne a nie vo všetkých smeroch úplne známe. Aj keď klinický obraz pri ťažkých stavoch môže byť pestrý, na základe dôkladnej anamnézy a posúdenia klinického stavu s prítomnosťou hemoglobínu v moči nie je diagnostika intoxikácie vodou tak problematická. V ľahších prípadoch, bez výrazného klinického nálezu je potrebné v rámci diferenciálnej diagnostiky vykonať širšiu škálu doplnkových vyšetrení. Z uvedeného dôvodu sme vykonali experimentálnu paroxysmálnu hemoglobínúriu so sledovaním vybraných biochemických parametrov krvi a moča.

MATERIÁL A METÓDY

Pokus sme vykonali na 8 zdravých teľatách - býčkoch čiernostrakatého plemena vo veku 2 mesiace. Zvieratá o hmotnosti 55 - 70 kg boli kŕmené objemovým krmivom (lúčne seno), jadrovým krmivom a napájané vodou *ad libitum*. Zvieratá boli umiestnené v klinických ustajňovacích priestoroch.

Predpríprava pokusu spočívala vo vynechaní dvoch kŕmení a odstavenia napájania na 26 - 28 hodín. Hemoglobínúriu sme vyvolali podaním vody v množstve 12 % telesnej hmotnosti (6,7 - 8,4 l), o teplote 12 - 14 °C. Teľatá ju prijímali pomocou cumľa, nevypitý zvyšok vody bol podaný pomocou sondy.

Zamerali sme sa na sledovanie niektorých biochemických parametrov krvi a moča. U moča sme sledovali mernú hmotnosť, ČABV (Jörgensen, 1957), pH (pH meter Tesla BM 551) a obsah hemoglobínu - semikvantitatívne (PHAN Lachema). Vyšetrenia krvi (séra) pozostávali zo stanovení koncentrácie Ca, Mg, Na, K - metódou AAS na prístroji fy Perkin Elmer, P, Cl, glukózy, celkových bielkovín, AST, ALT, GGT - Lachema test, bilirubínu - metódou podľa Jendrassík a Grofa (1938), Clg - zinksulfátový test, albumínu - fluorometricky.

Krv sme odoberali z v. *jugularis*, moč sme získali pri spontánnej mikcii alebo po masáži prepúcia. Vzorky sme odoberali pred aplikáciou vody (0. odber) a následne po jednej hodine do 6. hodiny po aplikácii vody. Posledný odber bol urobený po 24 hodinách. Vo výsledkoch pre porovnanie uvádzame aj hodnoty získané pred navodenou hladovkou (-48 h) a odstavením vody pri bežnom kŕmení.

VÝSLEDKY A DISKUSIA

Výsledky vyšetrení krvi sú znázornené v obr. 1 - 5, nálezy v moči sú zhrnuté v obr. 6 - 7.

Teľatá podanú vodu po navodení hladu a smädu prijali spontánnym pitím z cumľa, v množstve približne 90 % z celkovej dávky, čo predstavovalo 6 - 7,5 litrov. Zvyšok vody im bol podaný pažerákovou sondou.

Iónogram (obr. 1 a 2) signalizuje hydrémiu, kde disiónia bola zvýraznená po aplikácii vody vo forme hyponatrémie, hypochlorémie, hypokalcémie, hypomagneziémie, hypokaliémie a hypofosfatémie. Koncentrácie fosforu, horčíka a draslíka zaznamenali klesajúci trend po prvotnom vzostupe v 0. hodine, oproti stavu pred hladovkou a odstavením vody. Najnižšie priemerné hodnoty boli dosiahnuté v 2. hodine u Ca ($p < 0,05$), Mg a Na ($p < 0,05$), v 3. hodine u P, kým u K a Cl ($p < 0,05$) až v 6. hodine. Úprava disiónie sa dosiahla v 24. hodine pri Ca, Mg, K i Cl s úpravou hodnôt k východnému stavu, kým u P a Na ešte východzie hodnoty dosiahnuté neboli.

ENZYMATICKÝ, HEPATÁLNY A ENERGETICKÝ PROFIL

Pri sledovaní aktivít AST, ALT a GGT (obr. 3) sme zaznamenali len veľmi mierny vzostupný trend. Najvýraznejšie sa zmenila aktivita AST v 5. hodine vzostupom na 0,66 $\mu\text{kat/l}$ a ALT v 6. hodine vzostupom na 0,32 $\mu\text{kat/l}$ ($p < 0,05$). Celkové bielkoviny, imunoglobulíny a albumín (obr. 4) sú charakterizované miernym trendom k hypoproteínémii a hypoglobulinémii. Albumín zaznamenal zvýšené hodnoty v 24. hodine ($p < 0,01$). K úprave hypoproteínémie nedošlo ani po 24 hodinách sledovania ($p < 0,05$) a koncentrácia celkových imunoglobulínov významne poklesla v 6. hodine ($p < 0,05$) pričom do 24 hodín dosiahla úroveň 0. hodiny.

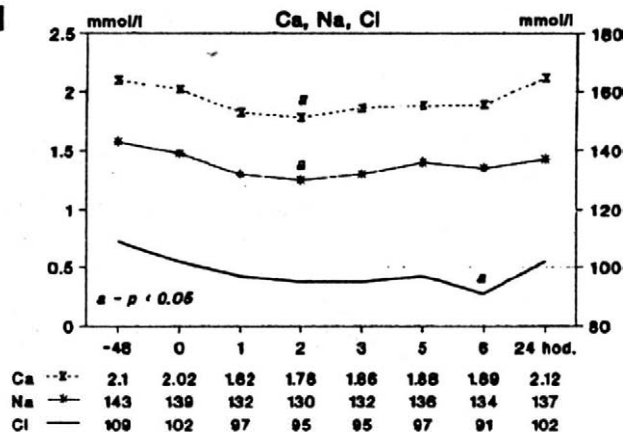
Sérový bilirubín (obr. 5) zaznamenal výrazný ($p < 0,05$) stúpajúci trend s maximom v 5. a 6. hodine, pričom k úprave hyperbilirubinémie do východiskových hodnôt došlo do 24 hodín. Klinickým vyšetrením sa však dosiahnutý stupeň bilirubinémie neodrazil v iktere slizníc.

Glykémia pri zreteľnom poklese v 0. hodine (hladovka 48 h) stúpila do pôvodných hodnôt a v ďalšom sledovaní prejavila len mierne kolísanie.

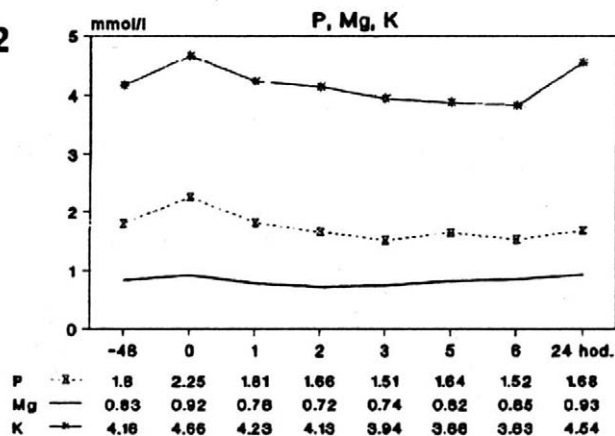
Močový profil zaznamenal významnú ($p < 0,001$) postupnú acidúriu (obr. 6) s dosiahnutím najnižších priemerných hodnôt v 5. a 6. hodine (pH - 6,7 logmolc; $p < 0,001$) s úpravou hodnôt na východziu úroveň v 24. hodine. Hodnoty ČABV (obr. 6; $p < 0,001$) reagovali výrazne s acidúriou, súhlasne s aktuálnou aciditou a hemoglobínúriou (obr. 7), ktorá dosiahla vrchol v 1. až 3. hodine s postupnou úpravou do 24 hodín. Osmolalita nebola sledovaná, ale merná hmotnosť moča (obr. 7) poukazuje na jeho zvodnenie až ku krajným hodnotám, od 2. do 6. hodiny ($p < 0,001$).

Pri sledovaní dynamiky uvedených ukazovateľov vidieť, že u niektorých došlo k zmenám už vplyvom navodenej hladovky a odstavenej vody. Výraznejší pokles nastal u aktivity AST v enzymatickom profile, v koncentrácii celkových bielkovín a imunoglobulínov, glukózy a podobne ako aj Ca, Na a Cl. Z biochemických ukazovateľov moča poklesla hodnota aktuálnej acidity a ČABV. Vzostup hodnôt sme naproti tomu zaznamenali v koncentrácii P, Mg, K, albumínu a v aktivite ALT a GGT.

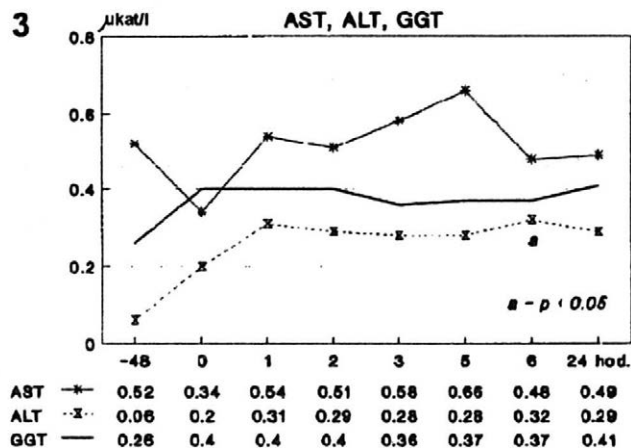
1



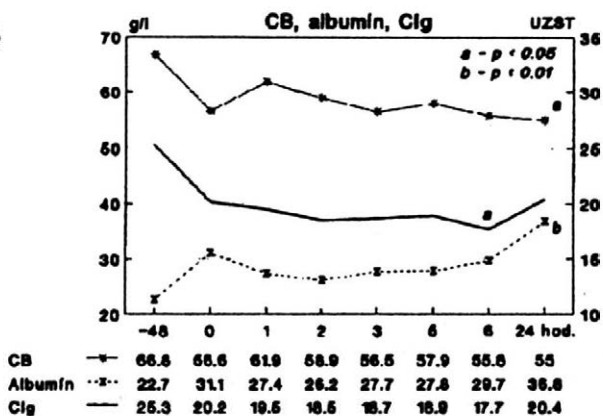
2



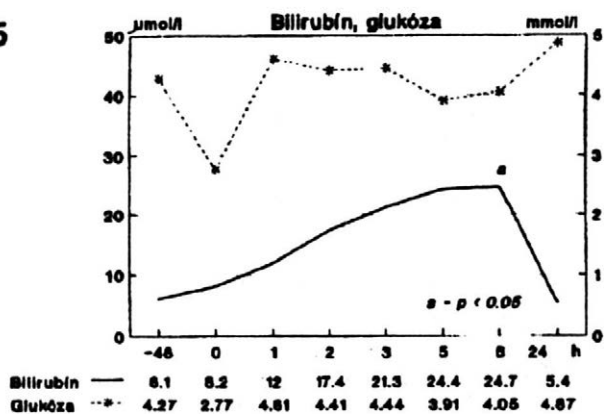
3



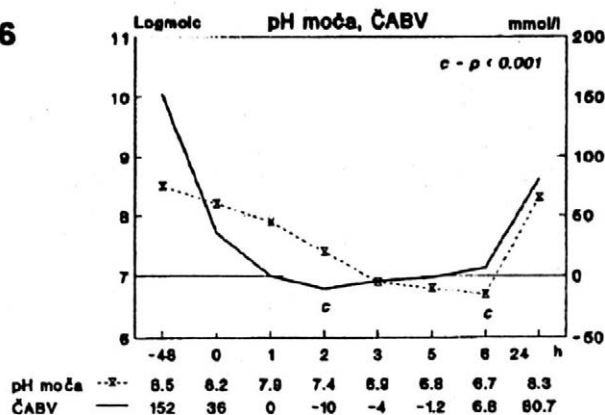
4



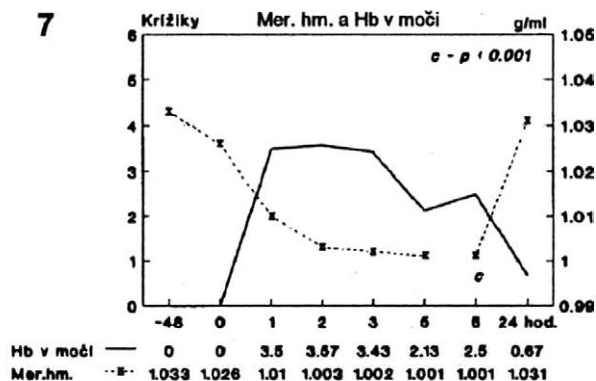
5



6



1. - 6. Zmeny niektorých parametrov počas experimentálnej paroxysmálnej hemoglobínúrie –
Changes of some parameters during experimental paroxysmal haemoglobinuria



7. Zmeny niektorých parametrov počas experimentálnej paroxyzmálnej hemoglobínúrie – Changes of some parameters during experimental paroxysmal haemoglobinuria

Legenda k obr. 1 až 7 – Legend to Figs. 1 to 7:

Ca, Na, Cl, P, Mg, K - koncentrácia v sére – serum concentrations

AST - aktivita v sére – serum activity

ALT - aktivita v sére – serum activity

GGT - aktivita v sére – serum activity

bilirubín - koncentrácia v sére – bilirubin - serum concentration

glukóza - koncentrácia v sére – glucose - serum concentration

CB - koncentrácia celkových bielkovín v sére – serum concentration of total proteins

albumín - koncentrácia v sére – albumin - serum concentration

CIg - koncentrácia celkových imunoglobulínov v sére – serum concentration of total immunoglobulins

UZST – jednotky zink-sulfátového testu – units of zinc-sulphate test

ČABV - koncentrácia čistého acido-bázického výlučku v moči – concentration of net acid-base urinary output

Mer. hm. - memná hmotnosť moča – Spec. w. - specific weight of urine

Hb v moči - hemoglobín v moči – haemoglobin in urine

krížíky – scores

Doterajšia diagnostika sa pri podozrení na vznik paroxyzmálnej hemoglobínúrie opiera predovšetkým o klinický nálež. Podrobne je popísaný tak u miernej ako i ťažkej formy ochorenia v mnohých dostupných publikáciách, napr. G d o v i n (1970), Rosenberger (1970), Slanina (1977) alebo Rossow a Horváth (1988). V literatúre popísaný prirodzený výskyt otráv vodou ako i ojedinelé experimentálne práce sa v prevažnej miere zaoberajú tiež len popisom hlavne klinického nálezu (Harvey, 1936; Wright, 1961; Lawrence, 1965; Kirkbride a Frey, 1967). Z hľadiska laboratórnej diagnostiky sa uvádza v prevažnej miere len hematologický nálež so zníženým počtom erytrocytov, znížením hematokritu, pričom krvné sérum je hemolytické. Z ďalších laboratórnych náleзов popisuje zvýšenie sérového bilirubínu, podobne ako sme to zistili aj my, G d o v i n (1970), zníženie koncentrácie sérového Na V r z g u l a (1982). Oproti

jeho údajom sme však pri sledovaní dynamiky celkových bielkovín nezaznamenali významný pokles ich hodnôt. Pri vyšetrení moča sa citovaní autori zhodujú s našimi pozorovaniami nálezom hemoglobínúrie, zníženia mernej hmotnosti moča a polyúrie. Z nášho experimentálneho zámeru sa však ukazujú aj ďalšie cenné trendy v patogenéze paroxysmálnej hemoglobínúrie.

Etiologický faktor - náhly a nadmerný príjem vody v dôsledku smädu resp. hladovky s následnou disoniou, hydrémiou a diurézou má známe vstupné kvantitatívne činitele. K vyvolaniu hemoglobínúrie je potreba minimálny príjem vody nad 10 % živej hmotnosti. K potencujúcim faktorom ochorenia patrí aj nízka teplota prostredia alebo studená voda.

Z priamych patogenetických prejavov, ktoré treba zvlášť pri terapeutickom zásahu rešpektovať, je disionia krvi; v nej osobitný význam má hyponatremia, hypochloremia, hypokalcemia, hypomagnesiemia, hypofosfatemia, kým hypokaliemia je výnimkou. Maximálna úroveň uvedenej disionie krvi nastáva spravidla už v 2. - 3. hodine po prijímaní vody, keď ochorenie môže dosiahnuť svoj kritický bod. Substitučná terapia by mala zohľadniť prvé štyri deficitné stavy, ktoré predstavujú značný únik kationov z organizmu. Naproti tomu dotácia K v štádiu upravujúcej sa hydrémie mohla by mať za následok fatálnu hyperkaliémiu.

Enzymatický, hepatálny, energetický profil je buď nenarušený, alebo jeho odchýlka je len nepatrná a prechodná.

Bielkovinový profil signalizoval únik albumínu a celkových bielkovín vysokou diurézou. Túto skutočnosť však nemožno pokladať za vitálne nebezpečnú pre postihnutý organizmus a jej riešenie v terapeutickom zásahu za nutné.

Osobitosť reakcie acidobázického profilu sa prejavila cestou krvi a obličky. Kým acidobáza v krvi signalizuje len nepatrné odchýlky vo forme prechodnej acidózy, zatiaľ pri zvýšenej diuréze je markantná reakcia obličky so zreteľnou acidúriou. Táto skutočnosť je dôležitá v diagnostike a z hľadiska straty báz musí byť rešpektovaná aj v racionálnej terapii.

Sledovanie biochemických ukazovateľov vnútorného prostredia potvrdilo predpokladaný vplyv nadbytku vody v organizme na vznik disionie poklesom koncentrácie všetkých sledovaných iónov, celkových bielkovín, imunoglobulínov a albumínu ako to uvádza aj V r z g u l a (1982). Sledovanie enzymatického a hepatálneho profilu nepreukázali výrazný vplyv na aktivity AST, ALT a GGT, kým hladiny bilirubínu zaznamenali výrazný vzostupný trend ako následok zvýšeného rozpadu erytrocytov, uvoľnenia hemoglobínu a jeho degradácie. Avšak podobne ako u väčšiny sledovaných ukazovateľov došlo aj k ich úprave k 24. hodine.

P o d ě k o v a n í e

Za preklad súhmu do anglického jazyka autori ďakujú Mgr. Gertrúde T k á ě i k o v e j .

Literatúra

- ASCOLI, E. W.: Water poisoning in calves. *Veter. Rec.*, 48, 1936, s. 1082.
- GDOVIN, T.: Vnútorné choroby hovädzieho dobytku, oviec, kôz a ošípaných. Braatistava, Príroda, 1970.
- HANNAN, H.: Water intoxication of calves. *Ir. Veter. J.*, 19, 1965, s. 211-214.
- HARVEY, F. T.: Water poisoning in calves. *Veter. Rec.*, 48, 1936, s. 641.
- JENDRASSIK, L. - GROF, O.: Vereinfachte photometrische Methode zur Bestimmung des Bilirubins. *Biochem. Z.*, 298, 1938, s. 81-89.
- JÖRGENSEN, S.: Determination of net acid-base output in blood. *Scand. J. clin. Lab. Inv.*, 9, 1957, s. 2.
- KIRKBRIDE, C. A. - FREY, R. A.: Experimental water intoxication in calves. *J. Amer. Veter. Med. Assn.*, 151, 1967, s. 742-746.
- LAWRENCE, J. A.: Water intoxication in calves. *J. S. Afr. veter. med. Assoc.*, 36, 1965, s. 277-278.
- LLEWELYN-JONES, H.: Excess of water as a cause of haemoglobinuria. *Veter. Rec.*, 48, 1936, s. 1056.
- ROSENBERGER, G.: Krankheiten des Rindes. Berlin und Hamburg, Paul Parey 1970.
- ROSSOW, N. - HORVÁTH, Z.: Innere Krankheiten der Haustiere. Jena, VEB Gustav Fischer Verlag 1988.
- SLANINA, L.: Zdravie a chorobnosť teliat v priemyselnej produkcii. Bratislava, Príroda 1977.
- VRZGULA, L.: Poruchy látkového metabolizmu hospodárskych zvierat a ich prevencia. Bratislava, Príroda 1982.
- WRIGHT M. A.: Hemoglobinuria from excess water drinking. *Veter. Rec.*, 73, 1961, s. 129-130.

Došlo 12. 1. 1993

ŠEDOVIČ, M. - NAGY, O. - SLANINA, L. (Research Institute of Experimental Veterinary Medicine, Košice; University of Veterinary Medicine, Košice):

Experimental paroxysmal haemoglobinuria in calves and selected biochemical indices in the blood and urine.

Veter. Med. - Czech, 38, 1993 (8) : 467-475.

When examining diseased calves, sporadically pronounced haemoglobinuria with dark red urine can be observed. In serious cases the clinical picture may be manifold but peculiar; in easy cases, however, when there are no distinct clinical symptoms, a larger scale of examinations is needed to aid differential diagnosis.

Eight roughage-fed bulls aged two months, weighing 55 - 71 kg were used in this experiment. Selected biochemical indices of the mineral, enzymatic, hepatic, energetic and urinary profile were determined in the blood serum and urine of the animals.

After the administration of cold water at an amount representing 12 % of the animal's body weight, ionogram values were determined. In all indices a positive correlation with hydraemia and a decrease in Na, Cl, Ca, Mg and P levels were observed. Correction of the above levels occurred within 24 hours, with the exception of Na and P concentrations that did not reach starting values. As to the enzymatic profile (AST, ALT, GGT), no pronounced disturbances could be observed. The most profound changes

were seen in AST activity that increased in the 5th hour of the experiment. A slight tendency towards hypoproteinaemia was observed to continue even in 24 hours. Hypoglobulinaemia reached its starting value in the 24th hour while simultaneously albumin levels slightly increased. The increasing bilirubin levels reached their maximum in the 5th and 6th hour; correction of the former occurred within 24 hours. The urinary profile revealed polyuria, aciduria, aqueous urine and haemoglobinuria, the latter reaching its peak between hours 1 and 3 following water administration.

The values we succeeded to determine for a wide spectrum of indices suggest that the latter may be used to confirm or exclude the diagnosis of suspect paroxysmal haemoglobinuria in calves within 3 - 6 hours following the onset of the disease.

calf; serum; urine; paroxysmal haemoglobinuria

Contact Address:

MVDr. Miloš Š e d o v i č , Ústav experimentálnej veterinárnej medicíny, Hlinkova 1/A,
404 01 Košice, Slovak Republic
Tel. 095 37429, fax 095 31853

Upozorňujeme čtenáře, že v čísle 9/1993 časopisu

VETERINÁRNÍ MEDICÍNA

mají být uveřejněny tyto příspěvky:

Vinkler A., Dvořák R., Zendulka I., Kudláč E.:
Ovariální odpověď a koncepční schopnost krav při experimentální zátěži
dusičnany

Žitňan R., Gallo J., Gallo M., Bomba A., Sommer
A.: Vybrané biochemické ukazovatele dusíkového a energetického me-
tabolizmu v plazme a krvi výkrmových býčků v období prechodu na
pašu

Rob O., Doležalová J., Doležal S., Jedináková
V.: Obsah kyseliny arachidonové v játrech, ovariích a děloze krav
s různou úrovní reprodukce

Sviatko P., Hiščíková M.: Obsah manganu v biologickom
materiáli dojnic

Holečková B., Šutiaková I., Pijáková N.,
Dalliová K., Jenčík M.: Aberácia chromozómov v periférnych
lymfocytoch oviec z plemenného chovu

Juriš P., Plachý P., Dubinský P., Venglovský J.,
Tóth F.: Vplyv aeróbnej stabilizácie tekutých exkrementov ošípaných
v laboratórnych podmienkach na vitalitu zárodkov *Salmonella typhimu-*
rium a *Ascaris suum*

Tremel F., Nesňalová E.: Sérologická depistáž výskytu proti-
látok proti leptospirám u volně žijících drobných savců

EFEKT PRIMÁRNEJ BHV-1 INFEKCIE NA DYNAMIKU T A B LYMFOCYTOV PERIFÉRNEJ KRVÍ A HLADINU ŠPECIFICKÝCH SÉROVÝCH PROTILÁTKO U TELIAT OŠETRENÝCH GLUKÁNOM

Š. Paulík¹, M. Levkutová¹, V. Bajová¹, G. Benko², M. Harvan¹

¹Univerzita veterinárskeho lekárstva, Košice

²Štátny veterinárny ústav, Košice

V práci bola sledovaná dynamika cirkulujúcich T a B lymfocytov a sérových špecifických protilátok u teliat experimentálne infikovaných vírusom IBR (skupina I) a teliat ošetrovaných glukánom (7 dní pred infekciou) a následne infikovaných (skupina GI). Percentuálne zastúpenie T a B lymfocytov v periférnej krvi bolo analyzované rozetovými metódami; titer sérových anti-IBR protilátok bol určený vírus neutralizačným testom na bunkových kultúrach. Dynamika percentuálneho zastúpenia cirkulujúcich T lymfocytov preukázala u oboch skupín teliat podobný klesajúci trend, so signifikantným vyjadrením v 3. - 5. deň po infekcii (PI). V porovnaní s teľatami skupiny I bol pri teľatách skupiny GI zistený mierny nárast (počas prvých 2 dní PI) v redukcii T buniek, so štatisticky preukazným rozdielom v 2. dni PI ($P < 0,05$) - obr. 1. Pokles v percentuálnom zastúpení T lymfocytov bol spojený so vzostupom percenta cirkulujúcich B lymfocytov, ktoré dosiahlo maxima na 3. a 4. deň PI ($P < 0,05$) - obr. 1. Všetky teľatá pred začiatkom experimentu boli bez sérových anti-BHV 1 protilátok. Na experimentálnu infekciu vírusom IBR začali odpovedať tvorbou sérových protilátok medzi 1. a 2. týždňom PI. Dynamika sérových anti-IBR protilátok preukázala u oboch sledovaných skupín teliat zhodný priebeh, s výraznejším ($P > 0,05$) nárastom imunologickej odozvy u teliat skupiny GI (obr. 2). Súhrne možno uviesť, že premedikačné použitie fungálneho glukánu sa výraznejšie neodrkadilo v zmiernení vírusom IBR spôsobenej produkcie T lymfocytov v krvi a v intenzite humorálnej IBR protilátkovej odpovede v porovnaní ku kontrolným teľatám.

teľatá; infekcia IBR; percento cirkulujúcich T a B lymfocytov; titer sérových anti-IBR protilátok; glukán; imunomodulácia

V rámci vírusových pôvodcov komplexu zápalových ochorení dýchacích orgánov u teliat primárne miesto v etiopatogenéze prináleží vírusu IBR (Pospíšil, 1991). BHV-1 je zaraďovaný k vírusom s imunosupresívnymi účinkami (Munier a i., 1988). Alteruje nielen populáciu krvných lymfocytov (Griebel a i., 1987/88a, b), ale aj populáciu krvných a pľúcnych fagocytov (Filion a i., 1983; McGuire a Babiuk, 1984). Modulácia imunity pri BHV-1 infekcii u hovädzieho dobytku je študovaná hlavne pri uplatňovaní vakcinácie (Gerber a i., 1978; Zuffa a i., 1986; Straub a Mawhinney, 1988 a ďalší). Glukány prejavujú viaceré imunofarmakologické účinky, ktoré však boli v prevažnej

miere určené na laboratórnych zvieratách (D i L u z i o , 1985). V experimentoch na teľatách bol pri glukáne preukázaný stimulačný efekt na percento cirkulujúcich T lymfocytov (P a u l í k , 1992), oneskorenú precitlivosťnú reakciu (P a u l í k a i. , 1992b), fagocytárnu aktivitu krvných leukocytov (P a u l í k a i. , 1992a) a protilátkovú odpoveď pri T-dependentnom antigéne (H ú s k a a i. , 1991).

V experimente na teľatách sme sledovali zmeny v dynamike cirkulujúcich T a B lymfocytov a v hladine anti-IBR sérum neutralizačných protilátok po experimentálnej BHV-1 infekcii a premedikačnom použití glukánu.

MATERIÁL A METÓDA

EXPERIMENTÁLNE ZVIERATÁ

Do sledovania bolo zaradených desať kusov 9 - 10mesačných, klinicky zdravých teliat. Všetky teľatá boli IBR-séronegatívne a boli ustájené v izolovanej maštali. K minimalizácii možného imunomodulačného efektu stresu boli teľatá aklimatizované na nové podmienky týždeň pred vykonaním experimentálnej infekcie. Denne bola monitorovaná rektálna teplota a zdravotný stav.

Teľatá boli rozdelené do 2 skupín (sk. I a sk. GI) po 5 zvierat. Všetky teľatá boli infikované vírusom IBR v ten istý termín (0. deň). Sedem dní pred infekciou bol teľatám skupiny GI aplikovaný *i. m.* glukán (rozpuštný, fungálny-hliva ustricová; RNDr. Széchenyi, MEVAK Nitra) v dávke 10 mg/kg živej hmotnosti.

EXPERIMENTÁLNA INFEKCIA

Teľatá boli infikované intranazálne (do oboch nosných otvorov), vstriknutím 2 ml suspenzie BHV-1 o titri $10^{8.5}$ (suspenzia vírusu získaná od Doc. MVDr. Žuffu, DrSc., MEVAK Nitra). Určenie množstva vírusu v nosových sekrétoch bolo robené titráciou na bunčných kultúrach (Ž u f f a a i. , 1986) v 0. deň, v 3. a 7. deň po infekcii.

URČENIE PERCENTA T A B LYMFOCYTOV A TITRU BHV-1 SÉROVÝCH PROTILÁTK

Percentuálne zastúpenie T a B lymfocytov v periférnej krvi bolo určené rozetovými metódami. T lymfocyty - E rozetovou metódou s AET (aminoethylisothio-uroniumbromid, fy Serva) opracovanými baranými erytrocytami (P a u l a i. , 1979); B lymfocyty - EAC rozetovou metódou podľa B i a n c a a i. (1971). Titer anti-IBR sérových protilátok bol určený metódou VNT na MDBK bunkách postupom podľa Ž u f f u a i. (1982) v 0. deň, 1., 2., 4. a 16. týždeň po infekcii.

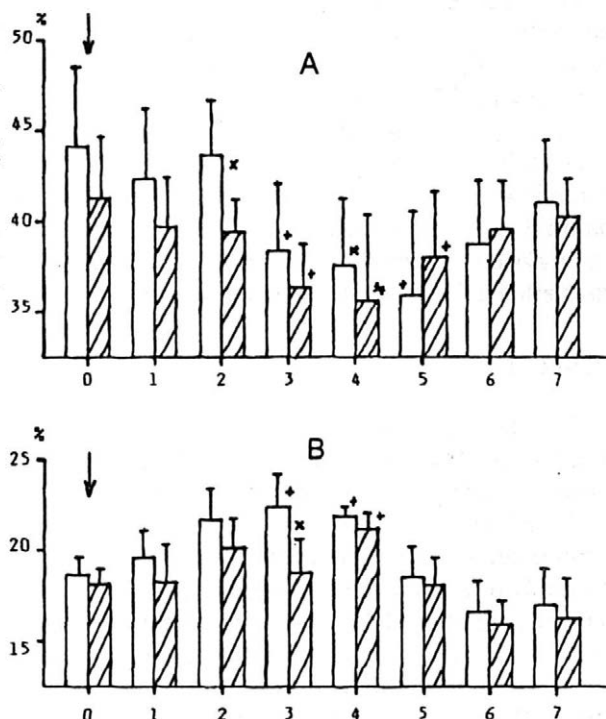
ŠTATISTICKÁ ANALÝZA

K sledovaniu zmien v percentuálnom zastúpení cirkulujúcich T a B lymfocytov k hodnotám pred infekciou bol použitý párový *t*-test. Hodnoty percenta T a B lymfocytov a titru anti-IBR sérových protilátok boli u sledovaných skupín teliat vzájomne porovnávané v jednotlivých termínoch sledovania Studentovým *t*-testom (P o l á -č e k , 1984).

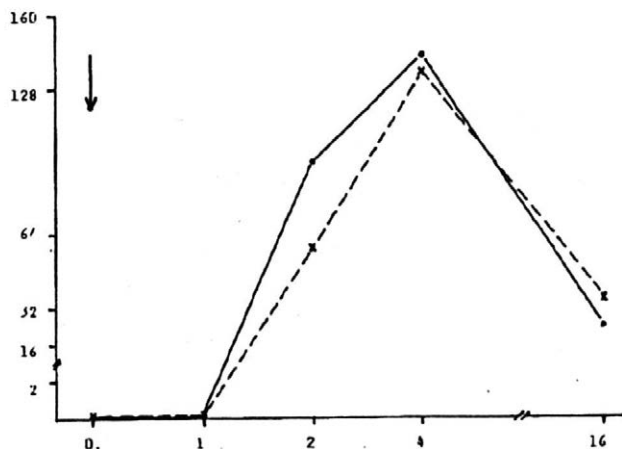
VÝSLEDKY

Kvantitatívnou analýzou uskutočnenou pred aplikáciou vírusu IBR (0. deň) sme zaznamenali v periférnej krvi 44,1 %, resp. 41,3 % T lymfocytov a 18,6 %, resp. 18,1 %, B lymfocytov u teliat pokusnej a kontrolnej skupiny. Po infekcii preukázala dynamika T a B lymfocytov vzájomne opačný trend (obr. 1). Pri T lymfocytoch bol zistený kontinuálny pokles do 5. dňa po infekcii (PI), so významným vyjadrením medzi 3. - 5. dňom ($P < 0,05$, resp. $0,01$). V 6. a 7. deň PI nastúpila rešaurácia ich percenta; hodnoty však nedosiahli úroveň pred infekciou. Počas prvých 2 dní PI sa percento T lymfocytov udržiavalo u teliat, ktorým bol aplikovaný glukán na vyššej úrovni (2. deň PI; $P < 0,05$) než u zvierat kontrolnej skupiny. V ďalších termínoch sledovania nebol medzi hodnotami T lymfocytov porovnávaných skupín teliat zistený štatisticky preukazný rozdiel. Percento B lymfocytov preukázalo vzostup do 4. dňa PI (teľatá infikované + glukán = 3. deň PI - $P < 0,05$; 4. deň PI - $P < 0,05$; teľatá infikované = 4. deň PI - $P < 0,05$). Jeho výraznejší trend bol zaznamenaný u teliat, ktorým bol aplikovaný glukán, so významným prejavom oproti teľatám len infikovaným v 3. deň PI ($P < 0,05$).

1. Percentuálne zastúpenie cirkulujúcich T lymfocytov (A) a B lymfocytov (B) po experimentálnej IBR infekcii u teliat len infikovaných (▨) a teliat premedikovaných glukánom a infikovaných (□) – Percentages of circulating T lymphocytes (A) and B lymphocytes (B) after experimental IBR infection in infected calves (▨) and in calves premedicated with glucane and then infected (□)
 ↓ = infekcia – infection
 párový *t*-test – paired *t*-test
 + = $P < 0,05$; * = $P < 0,01$
 Studentov *t*-test – Student's *t*-test
 x = $P < 0,05$
 os x = deň po IBR infekcii –
 x-axis = day after IBR infection



Všetky teľatá boli pred započatím experimentu bez sérových BHV-1 protilátok. Vírusová infekcia nevyvolala tvorbu merateľného množstva protilátok do 7. dňa PI.



2. Titer sérum-neutralizačných anti-IBR vírusových protilátok po experimentálnej IBR infekcii u teliat len infikovaných (x) a teliat premedikovaných glukánom a infikovaných (•) – The titer of serum-neutralizing anti-IBR virus antibodies after experimental IBR infection in calves only infected (x) and in calves premedicated with glucane and then infected (•)

↓ = infekcia – infection

os x = týždeň po IBR infekcii – x-axis = week after IBR infection

Ich dynamika v ďalšom období sledovania preukázala rovnaký priebeh u oboch skupín teliat s dosiahnutím maxima v 28. deň PI. U teliat ošetrovaných glukánom bol vývoj titra protilátok výraznejší do 14. dňa PI, čo však v porovnaní s teliatami kontrolnej skupiny nebolo štatisticky preukázané ($P > 0,05$). V 28. dni PI hladina sérových IBR protilátok bola u sledovaných skupín zvierat takmer zhodná; v 16. týždni PI poklesla do titrov 1 : 32, resp. 1 : 35 (obr. 2).

Po experimentálnej infekcii vírusom IBR došlo k vzplanutiu ochorenia u všetkých sledovaných teliat, s prejavom zvýšenej telesnej teploty (nad 40 °C, s maximom v 2. - 5. deň po infekcii), klinických príznakov (vrcholili na 6. - 7. deň po infekcii) a exkrécie vírusu IBR na nosnej sliznici, čo dokumentuje, že prezentované výsledky o zastúpení cirkulujúcich T a B lymfocytov a anti-IBR protilátok boli zaznamenané u teliat s prebiehajúcou infekciou IBR.

DISKUSIA

Častou hematologickou zmenou pri BHV-1 infekcii je lymfopénia (C u m - m i n s a R o s e n q u i s t, 1979; B a b i u k a i., 1985 a ďalší). Lymfopénia časovo korešponduje s nástupom a trvaním horúčky (G r i e b e l a. i., 1987/88a, b). V našom experimente takáto časová zhoda medzi maximom telesnej teploty a minimom percenta cirkulujúcich T lymfocytov bola zaznamenaná medzi 3. - 5. dňom po infekcii. Aj keď dynamika cirkulujúcich T lymfocytov u nami sledovaných skupín teliat mala podobný priebeh, nástup ich redukcie v krvi bol miernejší u teliat ošetrovaných glukánom, čo možno vysvetliť jeho potencujúcim účinkom na zastúpenie tejto populácie lymfocytov (O l s t a d a S e l j e l i d, 1980; B e n k o v á a i., 1992; P a u l f k, 1992). Pretože Z e l a r n e y a B e l d e n (1988) zistili, že u hovädzieho dobytku disponujú helper funkciou prevažne T lymfocyty tvoriace roztety s AET opracovanými erytrocytami, nami preukázaný miernejší pokles cirkulujúcich T lymfocytov u teliat ošetrovaných glukánom by mohol byť odzrkadlením vzostupu počtu buniek tejto subpopulácie lymfocytov. V porovnaní s T bunkovej

populácii sme pri B lymfocytoch zaznamenali pri sledovaných skupinách teliat nárast ich percenta v 2. - 4. dni infekcie. O alterovanom zastúpení T buniek pri BHV-1 infekcii referujú aj G r i e b e l a i. (1987/88a). Títo autori však zdôrazňujú, že percentuálne zvýšenie B lymfocytov je len relatívnym, sekundárnym odrazom deplécie T lymfocytov. Na základe diskutovaných poznatkov je preto možno konštatovať, že zmeny v percentuálnom zastúpení cirkulujúcich B lymfocytov je pri IBR infekcii potrebné interpretovať obozretné.

Humorálna protilátková odpoveď je diagnostickým ukazovateľom prebiehajúcej infekcie, alebo vakcinačnej efektívnosti (Z a j a c a Ž u f f a, 1988 a ďalší. Všetky nami sledované teľatá pred zaradením do experimentu boli bez sérových BHV-1 protilátok. Na experimentálnu infekciu vírusom IBR odpovedali tvorbou sérových protilátok až medzi prvým a druhým týždňom po infekcii. Chýbanie anamnestickej imunitnej odpovede naznačuje, že teľatá neboli predtým v kontakte s vírusom IBR (S h r o y e r a E a s t e r d a y, 1968). Dynamika sérových anti-IBR protilátok preukázala u oboch nami sledovaných skupín teliat zhodný priebeh, s výraznejším nástupom odozvy u teliat, ktorým bol aplikovaný glukán; rozdiel v titri protilátok (v 2. týždni po infekcii) však nebol štatisticky preukazný ($P > 0,05$). Podobný trend, s maximálnym titrom sérových protilátok v 3., resp. 4. týždni po experimentálnej infekcii vírusom IBR bol zaznamenaný aj v iných prácach (G e r b e r a i., 1978; Ž u f f a a i., 1986; S t r a u b a M a w h i n n e y, 1988).

Sledovanie vplyvu premedikačného použitia fungálneho glukánu na dynamiku percentuálneho zastúpenia cirkulujúcich T a B lymfocytov a sérových anti-IBR protilátok u teliat experimentálne infikovaných vírusom IBR je v tejto práci pôvodné.

Aj keď pri použití uvedeného glukánu nedošlo k výraznejšiemu ovplyvneniu vírusom indukovanej alterácie cirkulujúcich T lymfocytov (okrem prvých 2 dní po infekcii) dynamiky a intenzity humorálnej protilátkovej odpovede v porovnaní ku kontrolným teľatám, preukázané zistenia sú prínosom v poznávaní účinku fungálneho glukánu (u teliat ojedinele testovaný preparát) pri IBR infekcii o hovädzieho dobytká (literárne údaje zatiaľ postrádame).

Vychádzajúc z týchto poznatkov bude pri ďalších sledovaniach podobného zamerania potrebné riešiť časovú a dávkovú schému aplikácie glukánu a zamerať sa na hodnotenie aj funkčnej aktivity cirkulujúcich T a B lymfocytov.

L i t e r a t ú r a

- BABIUK, L. A. - BIELEFELDT OHMANN, H. - FIGGORD, G. - CZARNIECKI, C. W. - SCIALLI, V. T. - HAMILTON, B. B.: Effect of bovine alfa₁ interferon on bovine herpesvirus type 1 - induced respiratory disease. *J. Gen. Virol.*, 66, 1985, s. 2383-2394.
- BENKOVÁ, M. - BOROŠKOVÁ, Z. - ŠOLTÝS, J. - DUBAJ, J. - SZECHÉNYI, Š.: Effect of glucan preparation on immunocompetent cells and phagocytic ability of blood leukocytes in experimental ascariasis of pigs. *Veter. Parasit.*, 41, 1992, s. 157-166.
- BIANCO, C. - PATRICK, R. - NUSSENZWEIG, V.: A population of lymphocytes bearing a membrane receptors for antigen-antibody-complement complex. I. Separation and characterization. *J. exp. med.*, 132, 1970, s. 702-720.

CUMMINS, J. M. - ROSENQUIST, B. D.: Leukocyte changes and interferon production in calves injected with hydrocortisone and infected with infectious bovine rhinotracheitis virus. *Amer. J. veter. Res.*, 40, 1979, s. 238-240.

DILUZIO, N. R.: Update on the immunomodulating activities of glucans. *Springer Leuvin. Immunopathol.*, 8, 1985, s. 387-400.

FILION, L. G. - MCGUIRE, R. L. - BABIUK, L. A.: Nonspecific suppressive effect of bovine herpesvirus type 1 on bovine leukocyte function. *Infect. and Immun.*, 42, 1983, s. 106-112.

GERBER, J. D. - MARRON, A. E. - KUCERA, C. J.: Local and systemic cellular and antibody immune responses of cattle to infectious bovine rhinotracheitis virus vaccines administered intranasally or intramuscularly. *Amer. J. veter. Res.*, 39, 1978, s. 753-760.

GRIEBEL, P. J. - QUALTIERE, L. - DAVIS, W. C. - LAWMAN, M. J. P. - BABIUK, L. A.: Bovine peripheral blood leukocyte subpopulation dynamics following a primary bovine herpesvirus-1 infection. *Viral Immunol.*, 1, 1987/88a, s. 267-286.

GRIEBEL, P. J. - QUALTIERE, L. - DAVIS, W. C. - GEE, A. - BIELEFELDT OHMANN, H. - LAWMAN, M. J. P. - BABIUK, L. A.: T lymphocyte population dynamics and function following a primary bovine herpesvirus type-1 infection. *Viral Immunol.*, 1, 1987/88b, s. 287-304.

HÚSKA, M. - ŠVRČEK, Š. - PAULÍK, Š. - BENÍŠEK, Z. - ĐUROVE, A. - ZÁVADOVÁ, J. - ŠŮLIOVÁ, J.: Vplyv imunomodulácie glukánmi na antirabickú imunitu. In: *Imunol. Zprav.*, VI, 1991, s. 44.

MCGUIRE, R. L. - BABIUK, L. A.: Evidence for defective neutrophil function in lungs of calves exposed to infectious bovine rhinotracheitis virus. *Veter. Immunol. Immunopath.*, 5, 1984, s. 259-271.

MUNEER, M. A. - FARAH, I. O. - NEWMAN, J. A. - GOYAL, S. M.: Immunosuppression in animals. *Brit. veter. J.*, 144, 1988, s. 288-300.

OLSTAD, R. - SELJELID, R.: The cellular reaction in normal and tumor-bearing mice following intraperitoneal glucan injection. *Acta path. microbiol. scand., Ser., C*, 88, 1980, s. 97-102.

PAUL, P. S. - SENOGLES, D. R. - MUSCOPLAT, C. C. - JOHNSON, D. W.: Enumeration of T cells, B cells and monocytes in the peripheral blood of normal and lymphocytotic cattle. *Clin. exp. Immunol.*, 35, 1979, s. 306-316.

PAULÍK, Š.: Vybrané ukazovatele imunologického profilu a imunomodulácia pri tetatách. [Habilitationárna práca.] Univerzita veterinárskeho lekárstva. Košice 1992, 246 s.

PAULÍK, Š. - BAJOVÁ, V. - MOJŽISOVÁ, J.: Vplyv aplikácie nerozpustného fungálneho glukánu na úroveň oneskorenej kožnej precitlivlosti a fagocytánu aktivitu krvných leukocytov u teliat. *Veter. Med. (Praha)*, 37, 1992a, s. 577-585.

PAULÍK, Š. - ŠVRČEK, Š. - BENÍŠEK, Z. - HÚSKA, M. - ĐUROVE, A.: Využitie kožného testu pre hodnotenie aktuálnej úrovne celúľovej imunity a jej úrovne po experimentálnej aplikácii glukánu a levamizolu u výkrmových býčkov. *Veter. Med. (Praha)*, 37, 1992b, s. 203-212.

POLÁČEK, M.: Základy biometrie pre veterinárnych lekárov. Bratislava, Príroda 1984, 100 s.

POSPÍŠIL, I.: Infekčná boviná rinotracheitída a infekčná pustulárna vulvovaginitída. In: SLANIŠA a i.: *Zdravie a produkcia teliat*. Bratislava, Príroda 1991, s. 277-280.

SHROYER, E. L. - EASTERDAY, B. C.: Studies on the pathogenesis of infectious bovine rhinotracheitis following aerosol exposure. *Cornell Veter.*, 58, 1968, s. 442-461.

STRAUB, O. C. - MAWHINNEY, I. C.: Vaccination to protect calves against infectious bovine rhinotracheitis. *Veter. Rec.*, 122, 1988, s. 407-411.

ZAJAC, J. - ŽUFFA, A.: Vyhodnotenie imunoenzymatickej reakcie pri kvantifikovaní protilátok proti vírusu infekčnej bovinnej rinotracheitídy. *Veter. Med. (Praha)*, 33, 1988, s. 643-650.

ZELERNEY, P. T. - BELDEN, E. L.: Bovine interleukin-2: production by an E-rosette-defined lymphocyte subpopulation. *Veter. Immunol. Immunopath.*, 18, 1988, s. 297-305.

ŽUFFA, A. - BRÁNYIK, A. - ČERNÍK, K. - SALAJ, J.: Protection against experimental infection of calves vaccinated intranasally by three attenuated strains of IBR virus. *Zbl. Veter.-Med., R. B.*, 29, 1982, s. 413-425.

ŽUFFA, A. - ZAJAC, J. - ŽUFFA, T.: Porovnanie imunizačnej účinnosti sunbjednotkovej a vírusovej inaktivovanej plejovej vakcíny proti infekčnej rinotracheitíde hovädzieho dobytku. *Veter. Med. (Praha)*, 31, 1986, s. 209-218.

Došlo 7. 12. 1992

PAULÍK, Š. - LEVKUTOVÁ, M. - BAJOVÁ, V. - BENKO, G. - HARVAN, M. (University of Veterinary Medicine, Košice; State Veterinary Institute, Košice):

The effect of primary BHV-1 infection on dynamics of T and B lymphocytes of peripheral blood and on the level of specific serum antibodies in glucane premedicated calves.

Vet. Med. - Czech, 18, 1993 (8) : 477-483.

In the present study we investigated the dynamics of circulating T and B lymphocytes and serum specific antibodies in calves experimentally infected with IBR virus (I group) and in calves administered glucane (seven days before infection) and the infected (GI group). The percentages of T and B lymphocytes in the peripheral blood were determined from analyses by rosette methods; the titer of serum anti-IBR antibodies was determined by virus-neutralizing test on cell cultures. The dynamics of the percentage of circulating T lymphocytes showed a similar decreasing trend in both groups, with significant values on days 3 to 5 after infection (AI). In comparison with the calves of I group, the outset of T cell reduction was found to be less pronounced (within the first two days after infection), with a statistically significant difference on day 2 AI ($P < 0.05$), Fig. 1. A decrease in the percentage of T lymphocytes was related to an increase in the percentage of circulating B lymphocytes, with maximum on days 3 and 4 AI ($P < 0.05$), Fig. 1. All the calves before experiment beginning were free of serum anti-BHV 1 antibodies. They started responding to the experimental infection with IBR virus by production of serum antibodies between week 1 and 2 AI. The dynamics of serum anti-IBR antibodies showed an identical course in both experimental groups, with the more pronounced outset ($P > 0.05$) of immunological response in the calves of GI group (Fig. 2). In general it can be stated that the premedication with fungal glucane did not contribute to a greater extent to modulation of IBR-virus caused reduction in the T lymphocyte percentage in blood and in the intensity of humoral IBR antibody response in comparison with control calves.

calves; IBR infection; percentage of circulating T and B lymphocytes; titer of serum anti-IBR antibodies; glucane; immunomodulation

Contact Address:

MVDr. Štefan Paulík, CSc., Univerzita veterinárskeho lekárstva, Komenského 73,
041 81 Košice, Slovak Republic
Tel. 095 3211-15, fax 095 767675

INSTITUTE OF AGRICULTURAL AND FOOD INFORMATION
Slezská 7 CS 120 56 Praha 2 Czech Republic
Fax: (00422) 25 70 90

In this institute scientific journals dealing with the problems of agriculture and related sciences are published on behalf of the Academy of Agricultural Sciences. The periodicals are published in the Czech or Slovak languages with long summaries in English or in English language with summaries in Czech or Slovak.

Subscription to these journals should be sent to the above-mentioned address.

Periodical	Number of	
	issues per year	pages
Rostlinná výroba (Plant Production)	12	96
Veterinární medicína (Veterinary Medicine)	12	64
Živočišná výroba (Animal Production)	12	96
Zemědělská ekonomika (Agricultural Economics)	12	96
Lesnictví (Forestry)	12	96
Zemědělská technika (Agricultural Engineering)	4	80
Ochrana rostlin (Plant Protection)	4	80
Genetika a šlechtění (Genetics and Plant Breeding)	4	80
Zahradnictví (Horticultural Science)	4	80
Potravinářské vědy (Food Sciences)	6	80

VLIV PŘÍDAVKU AMP-50 NA UŽITKOVOST, VYBRANÉ HEMATOLOGICKÉ A BIOCHEMICKÉ PARAMETRY A STRAVITELNOST ŽIVIN U TELAT V MLÉČNÉM VÝKRMU

V. Skřivanová¹, J. Šimůnek², M. Marounek², M. Kuboušková¹

¹Výzkumný ústav živočišné výroby, Praha - Uhřetěves

²Ústav živočišné fyziologie a genetiky AV ČR, Praha - Uhřetěves

Cílem práce bylo zjistit vliv biostimulátoru AMP-50 na parametry užítkovosti a konverze živin, hodnoty stravitelnosti a hematologických a biochemických parametrů u 14 telat plemene černostrakatého nížinného (N) krmených mléčnou krmnou směsí (MKS) Biosan ve vzestupné dávce 10 - 15 l denně. Podávání AMP-50 v dávce 1 ml na 100 kg ž. hm. a den zvýšilo průměrné denní přírůstky živé hmotnosti telat za celé období výkrmu o 9,1 %. Spotřeba živin na kg přírůstku byla u pokusných zvířat nižší, rozdíly nebyly signifikantní, podobně tomu bylo u výše koeficientů stravitelnosti. Hodnoty bachorové tekutiny dokumentují normální průběh bachorové fermentace. Proti očekávání těkavé mastné kyseliny (TMK) odvozené z metabolismu aminokyselin (AK) (izomáselná a izovalerová) nebyly AK doplňkem ovlivněny. V průběhu celé testace byla u obou skupin zjištěna nižší koncentrace hemoglobinu (54,4 - 62,3 g/l), přičemž hodnoty hematokritu i počet erytrocytů se pohybovaly ve fyziologickém rozmezí. Podobně hladiny sledovaných transamináz (ALT a AST) se u obou skupin pohybovaly v rozmezí referenčních hodnot. Aplikace preparátu AMP-50 nealterovala zdravotní stav zvířat.

tele; mléčný výkrm; biostimulátor; užítkovost; hematologické a biochemické parametry; stravitelnost; bachorové parametry

Je známo, že optimalizací aminokyselinové výživy je možno docílit podstatného omezení exkrece dusíku. U monogastričních zvířat bylo zjištěno, že u směsí doplněných limitujícími aminokyselinami je možno snížit obsah N-látek asi o 15 %, aniž dojde k poklesu retence dusíku. Omezení exkrece dusíku hospodářskými zvířaty současně představuje faktor zlepšující životní prostředí omezením dusíkové zátěže.

Při odchovu telat byla sledována široká škála biochemických a fyziologických parametrů. Poměrně málo je dostupných údajů pro oblast mléčného výkrmu telat, zejména z hlediska využití N-látek. Náhradou mléčného proteinu jiným zdrojem bílkovin v odchovu telat se zabývali G u i l l o t e a u aj. (1981), enzymové aktivity v trávicím traktu sledovali G u i l l o t e a u aj. (1985). Enzymatické aktivity u vybraných enzymů a některé ukazatele minerálního a tukového metabolismu sledovali v mléčném výkrmu K u r s a a K r o u p o v á (1979). Vliv mléčných diet s různým obsahem N-látek v mléčném výkrmu telat byl detailněji popsán autory S k ř i v a n o v á aj. (1992). Autoři se zaměřili na užítkovost, stravitelnost živin, hematologické a biochemické parametry krve a bachorové tekutiny. Vliv přídatku

sušeného odstředěného mléka k plnotučnému mléku ve výkrmu telat sledovali B o u c h a r d aj. (1980). Naproti tomu M o r a n aj. (1988) ve svých pokusech nahrazovali protein mléčné náhražky a plnotučného mléka sojovou moukou.

Na základě série pokusů na telatech s cílem ověřit produkční účinnost krmných směsí pro odchov telat s přidavkem biostimulátoru na bázi AK AMP-50 provedených na pracovištích ÚKZUZ Praha byl biostimulátor AMP-50 registrován pod registračním číslem 10/14.

Cílem této práce bylo zjistit vliv doplňku AMP-50 na parametry užitkovosti a konverze živin, stravitelnost a na hodnoty vybraných hematologických a biochemických parametrů u telat v mléčném výkrmu. Předmětem sledování nebylo zjistit přesný mechanismus účinku, tj. souvislost mezi složením preparátu a jeho stimulačním působením z důvodu omezených technických možností pracoviště.

MATERIÁL A METODY

V bilančním experimentu byla srovnávána kontrolní skupina krmená konvenční MKS Biosan se skupinou pokusnou, u níž byla stejná dieta doplněna o komerční aminokyselinový preparát AMP-50 fy Jaminex (Jablonec nad Nisou).

Biostimulátor AMP-50 obsahuje široké spektrum volných AK. V roztoku o koncentraci 3 286 mg/l uvádí výrobce toto složení:

kyselina asparagová 654,0 mg, kyselina glutamová 214,0 mg, hydroxyprolin 325,0 mg, serin 140,0 mg, glycin 785,0 mg, alanin 365,0 mg, prolin 305,0 mg, valin 38,0 mg, methionin 18,0 mg, arginin 29,0 mg, phenylalanin 160,0 mg, leucin 50,0 mg, izoleucin 110,0 mg, lyzin 191,0 mg.

Do pokusu bylo zařazeno 14 býčků plemene N, nakoupených prostřednictvím Svazu chovatelů černostrakatého skotu ČR v ZD Měřín. Pokus se uskutečnil ve fyziologické stáji VÚŽV v Uhřetěvsi v období od března do června 1992.

Telata byla rozdělena do dvou skupin po sedmi zvířatech. Průměrný věk telat při zahájení experimentu byl ve skupině kontrolní i pokusné 28 dní, průměrná hmotnost byla 53,4 kg a 54,9 kg.

Mléčný výkrm byl proveden na bázi standardní mléčné krmné směsi Biosan. Krmná dávka:

věk telat (týdny)	mléko (l)	Biosan B (kg)	voda (l)
3	6 (plnotučné)		
4	8 (plnotučné)		
5	10	1,25	8,75
6	12	1,35	10,65
7 - 8	14	1,75	12,25
9	15	1,95	13,05
10	15	2,15	12,85
11 - 12	15	2,50	12,50
14 - 16	15	2,75	12,25

Denní dávka AMP-50 byla měněna na základě týdenního vážení telat a byla stanovena pro každé zvíře individuálně (1 ml AMP-50/100 kg ž.h.). Při stanovení dávky jsme vycházeli z doporučení výrobce.

Po přisunu telat do fyziologické stáje byla telata vyšetřena veterinárním lékařem a za dva dny byly odebrány vzorky krve a plošně byl aplikován Axetocal inj. v dávce 5 ml/ks. Zdravotní stav telat byl sledován denně.

Vzorky krve byly odebírány z v. *jugularis* před ranním krmením. Termíny odběrů byly před zahájením experimentu ve 4 týdnech věku a dále v 6, 10 a 14 týdnech. V krvi byly stanoveny hodnoty hemoglobinu, hematokritu, celkové bílkoviny, koncentrace močoviny, cholesterolu, aktivity aminotransferáz ALT a AST, nárazníková kapacita, fosfor a hořčík podle H o m o l k y (1972) nebo pomocí Lachema testů, vápník a železo v séru byly stanoveny absorpční spektrofotometrií (model SP-9-800, Pye Unicam, Cambridge, Velká Británie).

Na všech telatech byly v průběhu experimentu provedeny tři indikátorové bilance pomocí Cr_2O_3 , a to v průměrném věku telat 6, 11 a 15 týdnů. Byly vypočteny koeficienty stravitelnosti sušiny, N-látek, organické hmoty, tuků a popelovin.

V průběhu experimentu jsme třikrát odebrali sondou bachorovou tekutinu, v 3, 9 a 13 týdnech věku. V bachorové tekutině bylo ihned po odebrání změřeno pH a dále byl stanoven potenciometricky elektrodou Radelkis amoniakální dusík. Těkavé mastné kyseliny byly stanoveny plynovou chromatografií na přístroji Chrom 5.

I. Průměrné přírůstky telat v g na kus a den po aplikaci AMP-50 – Average weight gains of calves (g) per head/day after AMP-50 supplement administration

		I	II	III	Celkem ³
Kontrola ¹	průměr ⁴	738	875	.22	912
	s_x	40	28	73	50
Pokus ²	průměr	857	935	1224	1005
	s_x	48	30	24	16
Celkem ³	průměr	798	905	1173	959
	s_x	36	22	40	28

Vysvětlivky pro tab. I - VIII – Explanatory notes to Tabs. I - VIII:

I = období první fáze výkrmu – first phase of fattening

II = období výskytu chřipkových a průjmových onemocnění – occurrence of respiratory diseases and diarrhoea

III = období hlavní fáze výkrmu – principal phase of fattening

K = kontrola – control

P = pokus – experiment

¹control, ²experiment, ³total average

II. Spotřeba živin u telat v mléčném výkrmu po aplikaci AMP-50 na 1 kg přírůstku – Nutrient consumption in calves on milk replacer diet after administration of AMP-50 supplement, related to 1 kg weight gain

Ukazatel ¹		I		II		III	
		K	P	K	P	K	P
Sušina ² (kg)	průměr ⁸	1,54	1,34	1,55	1,53	2,07	1,89
	s _x	0,10	0,07	0,05	0,05	0,14	0,04
NL ³ (kg)	průměr	0,36	0,31	0,36	0,35	0,48	0,44
	s _x	0,02	0,02	0,01	0,01	0,03	0,01
BNLV ⁴ (kg)	průměr	0,78	0,68	0,79	0,78	1,06	0,96
	s _x	0,04	0,03	0,03	0,02	0,07	0,02
ŠJ ⁵	průměr	1,59	1,39	1,60	1,58	1,78	1,64
	s _x	0,10	0,07	0,05	0,05	0,09	0,06
Tuk ⁶ (kg)	průměr	0,30	0,26	0,30	0,30	0,40	0,37
	s _x	0,02	0,01	0,01	0,01	0,03	0,01
Popel ⁷ (kg)	průměr	0,10	0,09	0,10	0,10	0,13	0,12
	s _x	0,01	0	0	0	0,01	0

¹parameter, ²dry matter, ³crude protein, ⁴nitrogen-free extract, ⁵starch units, ⁶fat, ⁷ash, ⁸average

III. Koeficienty stravitelnosti telat po aplikaci AMP-50 – Digestibility coefficients in calves after administration of AMP-50 supplement

Ukazatel ¹		I		II		III	
		K	P	K	P	K	P
Sušina ²	průměr ⁷	95,9	97,6	99,0	98,0	97,5	97,4
	s _x	1,5	0,6	0,2	14,9	0,2	0,1
NL ³	průměr	74,2	84,7	93,4	89,2	86,1	85,8
	s _x	1,4	4,3	0,5	13,6	1,6	1,2
Tuk ⁴	průměr	85,6	87,4	93,5	94,8	85,7	90,0
	s _x	2,2	3,2	1,7	14,5	2,5	2,0
Popel ⁵	průměr	47,4	75,8	81,9	66,0	68,5	61,2
	s _x	1,8	6,9	2,2	10,7	3,2	5,6
Organická hmota ⁶	průměr	80,9	90,3	89,6	94,6	87,8	94,0
	s _x	1,4	2,6	3,6	2,0	4,3	1,8

For 1 - 3 see Tab. I; ⁴fat, ⁵ash, ⁶organic matter, ⁷average

IV. Parametry bachorové tekutiny telat v mléčném výkrmu po aplikaci AMP-50 – The parameters of rumen fluid in calves on milk replacer diet after administration of AMP-50 supplement

Ukazatel ¹		I		II		III	
		K	P	K	P	K	P
pH	průměr ¹⁰	5,72	5,96	6,73	7,05	6,66	7,05
	s _x	0,41	0,31	0,12	0,21	0,17	0,15
TMK ² (mmol/l)	průměr	41,05	48,56	41,53	31,34	19,15	20,85
	s _x	7,90	4,30	9,10	5,71	4,00	2,85
Kyselina octová ³ (mmol%)	průměr	62,21	57,25	62,69	69,29	65,01	66,46
	s _x	1,74	1,86	3,25	2,46	1,82	3,67
Kyselina propionová ⁴ (mmol%)	průměr	28,80	31,28	22,87	19,08	23,83	22,29
	s _x	4,49	1,24	1,89	1,06	1,59	4,24
Kyselina máselná ⁵ (mmol%)	průměr	5,56	6,56	5,96	3,83	2,30	4,70
	s _x	1,20	0,62	1,52	1,61	1,06	1,87
Kyselina izomáselná ⁶ (mmol%)	průměr	0	0	4,33	4,64	6,44	3,78
	s _x	0	0	0,60	0,32	1,90	0,90
Kyselina valerová ⁷ (mmol%)	průměr	1,07	1,87	1,32	0,97	0,53	0,91
	s _x	0,30	0,54	0,29	0,41	0,25	0,29
Kyselina izovalerová ⁸ (mmol%)	průměr	2,36	3,04	2,82	2,18	1,90	1,86
	s _x	0,50	0,71	0,37	0,48	0,46	0,61
Kyselina octová ³ / Kyselina propionová ⁴ (mol/mol)	průměr	1,83	1,85	2,90	3,72	2,79	4,21
	s _x	0,36	0,11	0,34	0,30	0,17	0,19
Čpavek ⁹ (mgN/l)	průměr	10,16	9,71	16,09	15,41	7,86	6,47
	s _x	2,99	2,57	4,97	3,84	0,82	0,95
NGGR (mol/mol)	průměr	2,52	2,21	3,28	3,98	2,93	4,54
	s _x	0,12	0,12	0,30	0,28	0,21	1,27

NGGR = non-glukogenic/glukogenic ratio of VFA

¹parameter, ²volatile fatty acids, ³acetate, ⁴propionate, ⁵butyrate, ⁶isobutyrate, ⁷valerate, ⁸isovalerate, ⁹ammonia, ¹⁰average

Poměr neglukogenních a glukogenních TMK byl vypočítán podle vzorce (Jensen, 1975):

$$NGGR = (A + 2B + V) / (P + V)$$

kde: A - acétát
B - butyrát
V - valerát
P - propionát

V. Hematologické parametry krve telat po aplikaci AMP-50 – Haematological parameters of the blood of calves after AMP-50 administration

Věk (týdny) ¹	Skupina ²		Hemoglobin ⁴ (g/l)	Hematokrit ⁵ (l/l)	Erythrocyty (.10 ⁻¹²)	Leukocyty ⁷ (.10 ⁻⁹)
2	K	průměr ³	55,78	0,32	8,75	14,50
		s _x	3,57	0,02	0,66	3,25
	P	průměr	61,77	0,36	8,21	10,02
		s _x	3,80	0,03	0,83	1,15
6	K	průměr	59,85	0,35	8,75	11,03
		s _x	3,28	0,02	0,60	0,83
	P	průměr	56,93	0,34	8,21	9,48
		s _x	3,17	0,02	0,83	0,87
10	K	průměr	54,38	0,37	9,07	5,28
		s _x	2,69	0,02	0,49	1,48
	P	průměr	58,16	0,37	9,35	5,02
		s _x	3,27	0,02	0,38	1,28
14	K	průměr	61,22	0,35	6,82	7,77
		s _x	2,80	0,02	0,84	1,74
	P	průměr	62,28	0,34	8,91	8,13
		s _x	2,67	0,01	0,39	0,77

¹age (weeks), ²group, ³average, ⁴haemoglobin, ⁵haematocrit, ⁶erythrocytes, ⁷leucocytes

VÝSLEDKY A DISKUSE

UŽITKOVOST TELAT

Telata byla jednou týdně vážena, třikrát v průběhu experimentu byly provedeny bilance, spotřeba krmiva byla evidována denně. V tab. I jsou uvedeny průměrné denní přírůstky živé hmotnosti telat, rozdělené do třech období: I. = první fáze výkrmu, kdy byl průměrný přírůstek u kontrolní skupiny 0,738 kg a u skupiny pokusné 0,798 kg. II. = období výskytu chřipkových a průjmových onemocnění: u kontroly 0,875 kg a u pokusné skupiny 0,935 kg. III. = hlavní fáze výkrmu: u kontroly 1,122 kg a u pokusné skupiny 1,173 kg. Za celé období výkrmu je to pak u kontrolní skupiny 0,912 kg a u pokusné 1,005 kg. Z přehledu je patrný pozitivní efekt podávání preparátu ve všech fázích výkrmu. Nejvyšší rozdíl byl zjištěn v první fázi výkrmu + 119 g. S těmito údaji úzce koresponduje i spotřeba krmiva na kg živé hmotnosti, která byla v prvním období nižší o 206 g, ve druhém a třetím období bylo snížení nepatrné (21 a 20 g). Těmito hodnotám odpovídá i spotřeba živin (tab. II).

VI. Differenciální rozpočet krve telat v mléčném výkrmu po aplikaci AMP-50 – Differential blood counting in calves on milk replacer diet after AMP-50 administration

Věk ¹ (týdny)	Skupina ²		Týčinky ⁴	Segmenty ⁵	Eosinofily ⁶	Bazofily ⁷	Lymfocyty ⁸	Monocyty ⁹
2	K	průměr ³	0,50	20,50	0,50	0	78,50	0
		s_x	0,20	5,87	0,46	0	6,39	0
	P	průměr	0	23,17	0	0	76,83	0
		s_x	0	2,64	0	0	2,64	0
6	K	průměr	5,33	19,50	0,50	0	73,50	0,67
		s_x	1,82	5,28	0,46	0	5,88	0,38
	P	průměr	3,67	12,83	0,67	0,17	79,00	0,33
		s_x	1,48	2,86	0,19	0,15	3,37	0,19
10	K	průměr	1,00	23,00	3,00	0	72,7	0,33
		s_x	0,58	6,19	1,84	0	6,75	0,19
	P	průměr	1,00	15,32	1,67	0	82,00	0,33
		s_x	0,58	2,88	0,69	0	3,37	0,30
14	K	průměr	0,80	59,20	2,40	0	67,40	0
		s_x	0,40	3,48	0,76	0	3,39	0
	P	průměr	0	20,79	3,17	1,00	67,67	0
		s_x	0	8,12	1,09	0,91	9,30	0

For 1 - 3 see Tab. V; ⁴rods, ⁵segments, ⁶eosinophils, ⁷basophils, ⁸lymphocytes, ⁹monocytes

Při zjišťování stravitelnosti živin vyjádřené koeficienty stravitelnosti sušiny, organické hmoty, N-látek, tuku a popelovin nebyly zjištěny významné rozdíly (tab. III). Zjištěné hodnoty jsou v souladu s našimi údaji u telat v mléčném výkrmu (M a r o u n e k a j., 1992).

PARAMETRY BACHOROVÉ TEKUTINY

Výsledky uvedené v tab. IV ukazují, že rozdíly mezi kontrolní a pokusnou skupinou jsou poměrně malé, i když některé z nich jsou signifikantní. Hodnoty parametrů bachorové tekutiny dokumentují normální průběh bachorové fermentace. Podíl na tomto stavu měl zřejmě omezený příjem slámy z podestýlky.

Proti očekávání TMK odvozené z metabolismu AK (izomáselná a izovalerová) nebyly AMP-50 ovlivněny. Je možné, že přírůstek AK v doplňku je příliš nízký na

VII. Biochemické parametry krve a séra telat po aplikaci AMP-50 v mléčném výkrmu – Biochemical parameters of blood and serum in calves on milk replacer diet after AMP-50 administration

Věk ¹ (týdny)	Skupina ²		Celkové ⁴ bílkoviny (g/l)	Močovina ⁵ (mmol/l)	Cholesterol ⁶ (mmol/l)	ALT (μkat/l)	AST (μkat/l)	Standardní bikarbonát (mmol/l)
2	K	průměr ³	46,4	2,29	1,97	0,05	0,27	14,5
		s _x	2,38	0,26	0,12	0,02	0,02	2,12
	P	průměr	51,5	2,09	2,05	0,05	0,31	14,33
		s _x	2,81	0,26	0,16	0,02	0,04	0,61
6	K	průměr	55,73	3,18	1,15	0,33	0,49	20,17
		s _x	0,90	0,13	0,06	0,19	0,18	0,72
	P	průměr	57,20	3,22	1,19	0,14	0,31	16,00
		s _x	1,69	0,34	0,08	0,11	0,14	0,94
10	K	průměr	59,82	3,10	1,49	0,43	0,59	9,83
		s _x	1,81	0,10	0,19	0,22	0,20	1,66
	P	průměr	60,23	2,80	1,73	0,11	0,32	14,17
		s _x	2,33	0,17	0,29	0,06	0,06	3,14
14	K	průměr	58,02	2,86	2,22	0,14	0,62	14,83
		s _x	1,43	0,14	0,11	0,05	0,09	1,36
	P	průměr	50,00	2,70	2,48	0,13	0,51	14,83
		s _x	8,18	0,19	0,18	0,08	0,08	1,13

For 1 - 3 see Tab. V; ⁴total proteins, ⁵urea, ⁶cholesterol, ⁷standard bicarbonate

to, aby hladiny izokyselin byly zvýšeny. Nabízí se však také jiné možné vysvětlení nízkou deaminační aktivitou bachorového obsahu telat při mléčném výkrmu. Rovněž lze v této souvislosti uvést, že řada aminokyselin je v bachorovém obsahu degradována jen velmi málo (Lewis a Emery, 1962) a dostává se tudíž až do duodena.

ZDRAVOTNÍ STAV TELAT A KREVŇÍ PARAMETRY

Pro komplexní posouzení zdravotního stavu a metabolického profilu zvířat zařazených do experimentu byly v průběhu celého experimentu pravidelně odebrány vzorky krve.

Analýzy jsme zaměřili na hematologické parametry: stanovení hemoglobinu, hematokritu, počtu erytrocytů a leukocytů (tab. V) a diferenciálního rozpočtu leuko-

VIII. Obsah vápníku, fosforu, hořčíku a železa v krevním séru telat po aplikaci AMP-50 v mléčném výkrmu – The content of calcium, phosphorus, magnesium and iron in the blood serum of calves on milk replacer diet after AMP-50 administration

Věk (týdny) ¹	Skupina ²		Ca	P	Mg	Fe
			mmol/l			
2	K	průměr ³	1,88	5,52	0,61	24,98
		s_x	0,13	3,10	0,04	3,01
	P	průměr	1,44	2,43	0,59	23,87
		s_x	0,26	0,17	0,02	1,52
6	K	průměr	1,87	2,76	0,56	13,22
		s_x	0,13	0,10	0,05	1,38
	P	průměr	2,39	2,91	0,67	12,55
		s_x	0,07	0,10	0,04	1,71
10	K	průměr	2,18	3,32	0,63	33,35
		s_x	0,10	0,11	0,08	4,06
	P	průměr	2,20	3,09	0,75	39,37
		s_x	0,11	0,04	0,01	3,52
14	K	průměr	2,73	2,88	0,60	35,82
		s_x	0,20	0,06	0,03	5,31
	P	průměr	2,92	2,90	0,69	40,18
		s_x	0,05	0,05	0,02	5,83

For 1 - 3 see Tab. V

cytů (tab. VI). Dále byly stanoveny biochemické parametry krve a séra celkové bílkoviny, močovina, glukóza, cholesterol, aminotransferázy a nárazníková kapacita krve (tab. VII), sérový vápník, fosfor a železo (tab. VIII).

Z nálezů hematologických a biochemických parametrů vyplývá, že v průběhu celého sledování nebyly zaznamenány významné rozdíly mezi kontrolní a pokusnou skupinou telat, způsobené podáváním aminokyselinového preparátu AMP-50.

Z hodnot uvedených v tab. V je zřejmá nižší hladina hemoglobinu u obou sledovaných skupin v průběhu celé testace, přičemž hematokrit i počet erytrocytů se pohybovaly ve fyziologickém rozmezí.

Zdravotní stav telat lze hodnotit jako uspokojivý, s výjimkou 6. - 8. týdne věku, kdy byla většina zvířat postižena respiračním onemocněním komplikovaným průjmy. Odrazem toho jsou i zvýšené hladiny lymfocytů v druhém období pokusu. Rovněž celý biochemický profil v tomto období naznačuje mírnou metabolickou acidózu, projevující se nižší koncentrací standardního bikarbonátu (tab. VII) a sní-

ženou hladinou sérového kalcia (tab. VIII). Tento stav dáváme do souvislosti se ztrátou tekutin a elektrolytů v průběhu průjmových onemocnění. Naproti tomu hladiny sledovaných transamináz (ALT a AST) se u obou skupin zvířat pohybovaly v rozmezí referenčních hodnot.

Hladiny cholesterolu u obou skupin lze z hlediska běžně uváděných referenčních hodnot (Slanina aj., 1979) považovat za nízké, ale podle našich výsledků (Skřivanová aj., 1988, 1989, 1991) tyto hodnoty odpovídají způsobu odchovu v našich podmínkách.

Literatura

- BOUCHARD, R. - LACHANCE, B. - ROY, G.: Addition of dry skim milk to whole milk in vealer rations. *Can. J. anim. Sci.*, 60, 1980, č. 2, s. 535-537.
- 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.
- GUILLOTEAU, P. - CORRIG, T. - TOULLEC, R. - GUILHERMENT, R.: Enzyme potentialities of the abomasum and pancreas of the calf. II. Effect of weaning and feeding a liquid supplement to ruminant animals. *Reprod. Nutr. Dev.*, 25, 1985, s. 481-493.
- GUILLOTEAU, P. - TOULLEC, R. - PATUREAU - MIRAND, P. - PRUGNAUD, J.: Importance of the abomasum in digestion in the preruminant calf. *Reprod. Nutr. Dev.*, 21, 1981, s. 885-899.
- HOMOLKA, J.: Klinické a biochemické vyšetřovací metody. 3. vyd. Praha, Avicenum 1973.
- Jednotné biochemické metodiky zařazené do souborů metabolického testu SVS MZVŽ, 1979.
- JENSEN, K.: Ammonia, pH and volatile fatty acids in the bovine rumen after feeding whit hay. *Acta veter. scand.*, 16, 1975, s. 258-268.
- KURSA, J. - KROUPOVÁ, V.: Metabolický profil telat na mléčném výkrmu Biosanem s přídavkem vitamínu E. *Biol. chem. Veter. (Praha)*, 1979, s. 199-206.
- LEWIS, T.R. - EMERY, R.S.: Relative deamination rates of amino acids by rumen microorganisms. *J. Dairy Sci.*, 45, 1962, s. 765-768.
- MAROUNEK, M. - SKŘIVANOVÁ, V. - MACHAŇOVÁ, L. - MARKALOUS, E.: Hmotnostní přírůstky, konverze živin, stravitelnost složek krmiva a bachorové parametry u telat v mléčném výkrmu. *Živoč. Vyr.*, 37, 1992, s. 547-554.
- MORAN, J. R. - GAUNT, G. - SINCLAIR, A. J.: Growth, carcass and meat quality in veal calves fed diets based on whole milk or milk replacers. *Proc. Austral. Soc. anim. Prod.*, 17, 1988, s. 254-257.
- SKŘIVANOVÁ, V. - SAMEK, M.: Observation of the temperature and acidity effects of the milk beverage on clinical and biochemical values in the calf blood. In: *Proceedings VI World Conference on Animal Production (WAAP)*. Helsinki, 1988, s. 631.
- SKŘIVANOVÁ, V. - MACHAŇOVÁ, L. - SVOBODA, T.: Vliv biotechnologických úprav MKS na hematologické a biochemické parametry a užitkovost telat. *Veter. Med.*, 34, 1989, č. 10, s. 577-583.
- SKŘIVANOVÁ, V. - MACHAŇOVÁ, L. - SVOBODA, T.: Variantní systémy mléčného výkrmu telat. *DZZ VÚŽV Uhřetěves*, 1991, s. 230.
- SLANINA, L. - BESEDA, I. - LEHOCKÝ, J. - SOKOL, J. - a kol.: Metabolický profil hovězího dobytka ve vztahu k zdraví a užitkovosti. *SVS MZVŽ SSR, Košice*, 1979, s. 150.

Došlo 15. 3. 1993

SKŘIVANOVÁ, V. - ŠIMŮNEK, J. - MAROUNEK, M. - KUBOUŠKOVÁ, M. (Research Institute of Animal Production, Praha-Uhřetěves; Institute of Animal Physiology and Genetics, Czech Academy of Sciences, Praha):

Effect of amino acid supplement AMP-50 on performance, blood and biochemical parameters and digestibility of nutrients in veal calves.

Vet.Med. - Czech, 38, 1993 (8) : 485-495.

The aim of this work was to estimate the effect of an AMP-50 amino acid supplement (Jaminex, Jablonec nad Nisou, Czech Republic) on performance, conversion of nutrients, rumen, blood and biochemical parameters in veal calves. This supplement contains 3.3 g of free amino acids per 1 l.

Fourteen male calves (Black Pied), four weeks of age at the beginning of the trial used were. The average live weight of calves in the control and experimental group was 53.4 and 54.9 kg, resp. All calves received a commercial milk replacer Biosan. Calves of the experimental group received 1 ml of AMP-50 per 100 kg of live weight (according to the manufacturer's instruction). The amino acid supplement insignificantly increased daily weight gains by 9.1 % on average (Tab. I). Experimental calves consumed less nutrients per 1 kg of weight gain (Tab. II), the differences were not however significant. Digestibilities of nutrients were insignificantly higher in the experimental group (Tab. III).

Rumen parameters are presented in Tab. IV. Concentrations of isobutyric and isovaleric acid were similar in both groups. The amount of amino acids in the supplement was probably too low to increase the levels of amino acid-derived VFA in rumen fluid. In addition to this, the deaminase activity of rumen content of veal calves seems to be rather low. There were no large differences in blood and biochemical parameters (presented in Tab. V) between the control and experimental group. Tab. V documents the high level of hemoglobin in both groups and normal values of hematocrit and number of erythrocytes.

Health of calves was satisfactory, except 6th - 8th week of age. In this period calves suffered from diarrhoea and respiratory diseases. High numbers of leucocytes reflect these problems (Tab. VI). Lower levels of standard bicarbonate (16.0 ± 0.9 vs. 20.2 ± 0.7 mmol/l) and serum calcium (1.87 ± 0.13 vs. 2.39 ± 0.07 mg/l) indicate subacute metabolic acidosis (Tab. VIII). These changes may be related to dehydration caused by diarrhoea. On the other hand, only normal values of transaminases (ALT and AST) were found. There was no relationship between the AMP-50 supplementation and health of calves.

veal calves; feed supplement; performance; metabolism

Contact Address:

Ing. Věra Skřivanová, CSc., Výzkumný ústav živočišné výroby, 104 00 Praha-Uhřetěves, Czech Republic
Tel. 02 750221, fax 02 750690

**Slovenská akadémia pôdohospodárskych vied
Komisia genetiky, šľachtenia a chovu**

**Česká akademie zemědělských věd
Komise genetiky, šlechtění a chovu**

**Vysoká škola poľnohospodárska v Nitre
Agronomická fakulta**

usporiadajú v dňoch 6. až 8. septembra 1993 na Vysokej škole poľnohospodárskej v Nitre

XVI. DNI GENETIKY hospodárskych zvierat

XVI. Dni genetiky hospodárskych zvierat sú pokračovaním tradičných stretnutí vedeckých pracovníkov zo Slovenskej republiky a Českej republiky. Vytvárajú príležitosť pre prezentáciu prác a diskusie v oblastiach:

1. Molekulárna genetika, imunogenetika, biochemická genetika, cyto-genetika.
2. Genetika populácií kvalitatívnych znakov a kvantitatívnych vlastností.
3. Genetika v šľachtení zvierat.
4. Genetika vo výučbe.

DYNAMIKA ZMĚN POLOHY KALIBRAČNÍ PŘÍMKY PŘI STANOVENÍ POČTU SOMATICKÝCH BUNĚK PŘÍSTROJEM FOSSOMATIC ZA RŮZNÝCH HLADIN DISKRIMINACE

O. Hanuš, A. Ponížil, J. Kopecký, B. Gabriel, R. Jedelská

Výzkumný ústav pro chov skotu, Rapotín

Jako potřebná se ukázala analýzy vztahu přímé a nepřímé metody stanovení počtu somatických buněk (PSB) ve vzorcích mléka syrových (S) a pasterovaných (P). Bylo hledáno vysvětlení projev, kdy přístroje Fossomatic (F) „shodně“ mezi sebou v měření kontrolních P vzorků mohou vykazat zřetelné rozdíly v určení PSB S mléka. Byly analyzovány identické vzorky S a P na PSB přístrojem Fossomatic 90 (Foss Electric, Dánsko) při různých hladinách diskriminace (DL) a výsledky konfrontovány s referenční metodou přímého mikroskopického vyšetření (MM). Vzorky měřené na přístroji byly 24 h uloženy při teplotě 4 °C nekonzervované (N) nebo konzervované K₂Cr₂O₇ (D) a bronopolem (BSMT). Z výsledků vyplývá, že pro S konzervované vzorky BSMT a D lze považovat polohy DL = 1,0 - 1,5 za prahové (optimální), DL < 1,0 za podprahové a DL > 1,5 za nadprahové. Nižší práh by platil pro vzorky N a zcela odlišné prahy pro vzorky P. Značný obor DL Fossomaticu ve vzorcích P odpovídá s minimálními změnami výsledkům MM pro identické vzorky, zatímco u vzorků S lze uvést jen úzký obor DL (1,0 - 1,5). Ve všech variantách konzervace je patrný plynulý nárůst ve sklonu regresních přímek S a nárůst k 1,0 z podprahové polohy a pak kolísání kolem 1,0 v polohách prahových a nadprahových pro přímku P. Pasterace mění oproti vzorkům syrovým polohu a tvar rozložení a také počet parazitních a polohu a tvar rozložení buněčných impulsů z hlediska výšky impulsu fluorescence. Relativní vztahy a tendence ve výsledcích na rozdíl od absolutních hodnot, které platí pouze pro použitý přístroj Fossomatic, lze pravděpodobně považovat za obecně platné. V případě vynucené potřeby korekce DL, tzn. rekalibrace např. z důvodu opravy přístroje F v základních funkčních částech nebo z jiných důvodů, je třeba pro udržení provozní jistoty provést korekci proti MM na podkladě výsledků F v S mléce, které je normálně rutinně měřeno. Nelze provést korekci vůči MM na podkladě výsledku F v P mléce.

mléko syrové; mléko pasterované; počet somatických buněk; Fossomatic; hladina diskriminace; impuls fluorescence; rozložení; kalibrační přímka; sklon; práh; parazitní impuls; buněčný impuls; mikroskopická metoda

Jako potřebná se ukázala analýza vztahu referenční - přímé a přístrojové - nepřímé metody stanovení počtu somatických buněk (PSB) ve vzorcích mléka syrových a pasterovaných. Byla hledána odpověď na otázku, co může být důvodem, že přístroje Fossomatic „shodně“ mezi sebou v měření kontrolních pasterovaných vzorků mohou vykazat zřetelné rozdíly v určení PSB syrového mléka. Sledování může být

užitečné a výsledky zohlednitelné při návrzích kontrolních systémů a seřizovacích a korekčních postupů ke stanovení PSB metodou Fossomatic (F). Může rovněž přispět k objasnění některých prakticky pozorovaných jevů ve výsledcích PSB při kontrole přístrojů.

Vzhledem k tomu, že podrobnější literární přehled je uveden v dřívějších sděleních (Genčurová aj., 1993; Hanuš aj., 1993a, b) je zde shrnut pouze rámcový výčet prací se související tematikou. Užití pasterovaných standardních vzorků mléka ke kontrole stability kalibrace přístrojového stanovení PSB rozpracovali Szijarto a Barnum (1984) a Lintner aj., (1984). Cílem pasturace byla především inaktivace přirozené mikroflóry mléka a denaturace enzymů tak, aby bylo zamezeno rozkladu složek mléka a lýze, resp. autolýze vlastních somatických buněk. Tak je vytvořen předpoklad pro časovou stabilitu standard. Vlastními teoretickými problémy, postupem a způsobem hodnocení výsledků kalibrace pro metodu Fossomatic a nepřímé přístrojové postupy vůbec se zabývali Grappin a Jeunet (1974, 1975) a Grappin (1985). Mezilaboratorní a mezipřístrojové srovnání a posouzení přesnosti analýz na PSB provedli Blahová a Ryšánek (1984), Vines aj. (1986), Arndt aj. (1991) a Coleman a Moss (1989). Další konfrontace mezi různými metodami stanovení PSB publikovali Škarda aj. (1986), Ryšánek a Nytra (1988), Hoare aj. (1982), Miller aj. (1986), Hanuš aj. (1992a). Způsoby konzervace a její vlivy na stanovení PSB uvedli Ardö (1982), Grappin a Jeunet (1974, 1975), Kroger (1985), Ryšánek a Nytra (1990) a Hanuš aj. (1992b). Významně vyšší registrované PSB přístrojem F ve vzorcích mléka tepelně ošetřených oproti syrovým jako důsledek zvýšení fluorescenční odezvy buněčných jader, zaznamenali Spinell (cit. Ardö, 1982), Miller aj. (1986), Genčurová aj. (1993) a Hanuš aj. (1993a, b). Posledně uvedené sdělení také dokládá, že rozdíl v PSB přímou mikroskopickou metodou (MM) mezi vzorky syrovými (S) a pasterovanými (P) je nepatrný a nevýznamný.

MATERIÁL A METODY

Postup pokusu je podrobněji uveden v předcházejícím sdělení (Hanus aj., 1993b) a zde je shrnut pouze zkráceně. Při různých hladinách diskriminace ($DL = 0,4; 1,0; 1,5; 2; 3; 4$) přístroje Fossomatic 90 (Foss Electric, Dánsko) bylo vždy duplicitně měřeno deset vzorků kravského mléka syrových a identických pasterovaných (teplota 82°C , doba náběhu teploty asi 15 min). Rozdíl oproti postupu autorů Szijarto a Barnum (1984) spočíval v technologii pasturace, kdy uvedení autoři použili průtočného pastéru s krátkodobým záhřevem na 80°C . Obě varianty vzorků, S i P, byly měřeny nekonzervované (N) a konzervované tabletami $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ (D) a bronopolu (BSMT). Vzorky byly od odběru do analýzy uloženy 24 h při teplotě 4°C a pokryly obor PSB od 112 do $721 \cdot 10^3/\text{ml}$ ($\bar{x}_a \pm s_x = 329 \pm 212 \cdot 10^3/\text{ml}$). Všechny zde uvedené údaje o hodnotě DL se přirozeně vztahují výhradně k použitému přístroji. Vzorky S, D byly rovněž vyšetřeny přímou mikroskopickou metodou (MM) podle ON 57 0532. Výsledky byly vyhodnoceny metodou lineární regrese a párovým t -testem.

VÝSLEDKY A DISKUSE

Konkrétní výsledky jiných prací k přímému srovnání se zde uvedeným pojetím v dostupné literatuře nebyly nalezeny. Při konfrontaci výsledků MM s výsledky F při různých hladinách diskriminace (tab. III), je možné odečíst pro vzorky konzervované $K_2Cr_2O_7$ optimální práh v hodnotě $DL = 1,0$ (S) a $4,0$ (P) - přesně $0,98$ a $3,90$ (H a n u š aj., 1993b). Dále bude pracováno pouze s výsledky přímo změřenými, tzn. $DL = 1,0$ a $4,0$. Výrobce (Foss Electric) určil pro použitý přístroj v souladu s MM práh $DL = 1,4$ (certifikát). Pokud jde o další způsoby konzervace (N a BSMT), platily by hodnoty prahu poněkud odlišné (tab. I a II). Lze říci, že optimální hodnota prahu kolísá od $0,98$ do $1,5$ pro použitý přístroj. Proto za polohu podprahovou bude považováno dále $DL < 1,0$, polohy prahové $DL = 1,0 - 1,5$ a nadprahové $DL > 1,5$. Z tab. I, II a III je zřejmé, že nejvyšší počty parazitních impulsů (řádek 2; $DL = 0,4$; $\bar{x}_d$ mezi F a MM) byly nalezeny jak u vzorků S tak P pro variantu BSMT (tab. II) a nejnižší pro N (tab. I). Zřetelně vyšší počty parazitních impulsů byly pro vzorky P oproti S. Je pravděpodobné, že v případě měření po 48 h by byly počty zachycených parazitních impulsů zčásti odlišné absolutně, ale shodné tendenčně, na což je možné usuzovat podle dřívějších výsledků (G e n č u r o v á aj., 1992; H a n u š aj., 1993a).

Jaké byly číselné vztahy mezi hodnotami průměrů přímé mikroskopie a přístroje Fossomatic za různých podmínek lze vyčíst z tab. I, II a III. Hodnoty směrodatných odchylek průměrných diferencí (s_d) mezi F a MM pro syrové vzorky mléka byly ve všech variantách pro prahové DL (tab. I, II a III) nižší, než jak uvádějí Grappin a Jeunet (1974). Rozdíl lze vysvětlit použitým rozsahem PSB v testovaných vzorcích, kdy v citované práci byly použity i vzorky s PSB kolem $2000 \cdot 10^3/\text{ml}$. Uvedení autoři dále požadují, aby po procesu kalibrace F byl průměr měření na přístroji rovný nebo velmi blízký průměru referenční metody při všech v úvahu přicházejících hladinách PSB. V této souvislosti však lze nyní, s odstupem času konstatovat, že nejdůležitější je shoda metody referenční s instrumentální v hodnotách PSB do 500 resp. $1000 \cdot 10^3/\text{ml}$. O zpeněžení mléka rozhodují totiž hodnoty PSB 300 a 500 (ČSN 57 0529) 400 (norma ES; B e r g m a n n, 1988) maximálně $750 \cdot 10^3/\text{ml}$ (některé normy USA). U mléka individuálních krav při podezření na mastitidu a případně selekci pro přeléčení při stání nasucho pak hodnoty 228 , 250 , 283 a $300 \cdot 10^3/\text{ml}$ (D o h o o aj., 1981; A n d r e w s aj., 1983; R e n e a u, 1986; Š k a r d o v á aj., 1984). Proto je možné doporučit v případě kalibrace F vzorky s hodnotami PSB do $1000 \cdot 10^3/\text{ml}$, neboť případná chyba referenční metody při PSB výrazně nad $1000 \cdot 10^3/\text{ml}$ by mohla zřetelně zhoršit přesnost odečtu přístroje v hodnotách důležitých pro zpeněžování mléka. Přitom absolutní přesnost odečtu MM klesá při velkých PSB a tak pravděpodobnost chyby vzrůstá. Naopak i určité „větší“ rozdíly mezi metodou referenční a instrumentální v hodnotách PSB nad $1000 \cdot 10^3/\text{ml}$ jsou prakticky bez vlivu na změnu závěru z hlediska zpeněžování mléka i posouzení zdravotního stavu vemene krávy. Hodnoty směrodatných odchylek průměrných diferencí (s_d) mezi F a MM (tab. I, II a III) pro pasterované vzorky byly výrazně nižší než pro syrové u varianty N (tab. I) v prahových a nadprahových

I. Dynamika změn kalibračních rovnic při stanovení počtu somatických buněk ($\text{PSB} \cdot 10^3/\text{ml}$) přístrojem Fossomatic (F) ve vztahu k přímé mikroskopické metodě (MM) při různých hladinách diskriminace (DL) ve vzorcích mléka syrových (S) a pasteurovaných (P). Chemicky nekonzervované vzorky – Dynamics of variations of calibration equations at determination of somatic cell counts ($\text{PSB} \cdot 10^3/\text{ml}$) by a Fossomatic apparatus (F) in relation to direct microscopic method (MM) with various discriminator levels (DL) in raw milk samples (S) and pasteurized milk samples (P). Chemically unpreserved samples

Pořadové číslo ¹	Metoda ²	DL	Vzorky ³	PSB $\bar{x} \pm s_x$	PSB; Di = F - MM $\bar{x}_d \pm s_d$	Kalibrační rovnice ⁴ F : MM	r	PSB; Di = $F_S - F_P$ $\bar{x}_d \pm s_d$	Rovnice lineární regrese ⁵ $F_S : F_P$	r
1	MM		S	342 ± 214		$y = 0 + Lx^a$				
2	F	0,4	S	350 ± 208	8 ⁿ ± 47	$y = -10,00 + 1,004x$	0,975 ^{***}	-45 ⁿ ± 64	$y = -19,17 + 1,183x$	0,979 ^{***}
			P	395 ± 251	53 ^{**} ± 45	$y = 6,90 + 0,847x$	0,994 ^{***}			
3	F	1,0	S	317 ± 170	-25 ⁿ ± 71	$y = -42,68 + 1,214x$	0,959 ^{***}	-59 [*] ± 81	$y = -33,09 + 1,293x$	0,960 ^{***}
			P	376 ± 228	34 ^{***} ± 15	$y = -11,85 + 0,939x$	0,999 ^{***}			
4	F	1,5	S	313 ± 167	-29 ⁿ ± 78	$y = -39,15 + 1,217x$	0,947 ^{***}	-38 ⁿ ± 75	$y = -33,71 + 1,231x$	0,955 ^{***}
			P	351 ± 215	9 ⁿ ± 16	$y = -7,72 + 0,994x$	0,999 ^{***}			
5	F	2,0	S	291 ± 158	-51 ⁿ ± 76	$y = -37,13 + 1,302x$	0,960 ^{***}	-58 [*] ± 81	$y = -37,24 + 1,328x$	0,958 ^{***}
			P	349 ± 219	7 [*] ± 10	$y = 0,44 + 0,977x$	0,999 ^{***}			
6	F	3,0	S	258 ± 127	-84 [*] ± 104	$y = -66,41 + 1,581x$	0,940 ^{***}	-89 [*] ± 107	$y = -66,12 + 1,601x$	0,939 ^{***}
			P	347 ± 217	5 [*] ± 8	$y = -0,76 + 0,986x$	0,999 ^{***}			
7	F	4,0	S	219 ± 108	-123 [*] ± 119	$y = -65,55 + 1,857x$	0,938 ^{***}	-120 ^{**} ± 104	$y = -50,75 + 1,777x$	0,953 ^{***}
			P	339 ± 202	-3 ⁿ ± 28	$y = -15,95 + 1,055x$	0,993 ^{***}			

¹ordinal number, ²method, ³samples, ⁴calibration equation, ⁵linear regression equation

Vysvětlivky pro tab. I - III – Explanatory notes to Tabs. I - III:

Di = difference; $\bar{x}$ = aritmetický průměr; s_x = směrodatná odchylka; $\bar{x}_d$ = průměrná difference; s_d = směrodatná odchylka difference; r = korelační koeficient; a = ideální kalibrační rovnice; n = nevýznamné – Di = difference; $\bar{x}$ = arithmetical mean; s_x = standard deviation; $\bar{x}_d$ = mean difference; s_d = standard deviation of the difference; r = correlation coefficient; a = ideal calibration equation; n = insignificant

II. Dynamika změn kalibračních rovnic při stanovení počtu somatických buněk ($\text{PSB} \cdot 10^3/\text{ml}$) přístrojem Fossomatic (F) ve vztahu k přímé mikroskopické metodě (MM) při různých hladinách diskriminace (DL) ve vzorcích mléka syrových (S) a pasteurovaných (P). Vzorky konzervované bronopolem – Dynamics of variations of calibration equations at determination of somatic cell counts ($\text{PSB} \cdot 10^3/\text{ml}$) by a Fossomatic apparatus (F) in relation to direct microscopic method (MM) with various discriminator levels (DL) in raw milk samples (S) and pasteurized milk samples (P). Samples preserved with bronopol

Pořadové číslo	Metoda	DL	Vzorky	PSB $\bar{x} \pm s_x$	PSB; $D_i = F - MM$ $\bar{x}_d \pm s_d$	Kalibrační rovnice ⁴ $F : MM$	r	PSB; $D_i = F_S - F_P$ $\bar{x}_d \pm s_d$	Rovnice lineární regrese ⁵ $F_S : F_P$	r
1	MM		S	342 ± 214		$y = 0 + 1x^A$				
2	F	0,4	S	382 ± 246	40 ^{**} ± 35	$y = 9,79 + 0,869x$	0,998 ^{***}	-28 [*] ± 36	$y = 42,91 + 0,960x$	0,989 ^{***}
			P	410 ± 239	68 ^{***} ± 37	$y = -23,05 + 0,890x$	0,993 ^{***}			
3	F	1,0	S	344 ± 209	2 ⁿ ± 10	$y = -10,73 + 1,025x$	0,999 ^{***}	-29 ^{***} ± 15	$y = 8,61 + 1,060x$	0,999 ^{***}
			P	373 ± 221	31 ^{***} ± 14	$y = -18,54 + 0,966x$	0,999 ^{***}			
4	F	1,5	S	333 ± 209	-9 ⁿ ± 14	$y = 0,87 + 1,024x$	0,998 ^{***}	-20 ^{**} ± 16	$y = 7,18 + 1,039x$	0,998 ^{***}
			P	353 ± 217	11 ^{**} ± 9	$y = -5,93 + 0,985x$	0,999 ^{***}			
5	F	2,0	S	315 ± 195	-27 ^{**} ± 24	$y = -3,10 + 1,096x$	0,998 ^{***}	-44 ^{**} ± 33	$y = 0,90 + 1,138x$	0,997 ^{***}
			P	359 ± 223	17 [*] ± 19	$y = -2,53 + 0,959x$	0,997 ^{***}			
6	F	3,0	S	307 ± 198	-35 ^{**} ± 28	$y = 12,84 + 1,072x$	0,993 ^{***}	-35 ^{**} ± 28	$y = 19,79 + 1,052x$	0,992 ^{***}
			P	342 ± 210	0 ⁿ ± 15	$y = -6,15 + 1,016x$	0,998 ^{***}			
7	F	4,0	S	249 ± 148	-93 ^{**} ± 72	$y = -15,37 + 1,433x$	0,987 ^{***}	-90 ^{**} ± 74	$y = -24,18 + 1,455x$	0,990 ^{***}
			P	339 ± 217	-3 ⁿ ± 15	$y = 8,31 + 0,985x$	0,998 ^{***}			

For 1 - 5 see Tab. I

III. Dynamika změn kalibračních rovnic při stanovení počtu somatických buněk ($\text{PSB} \cdot 10^3/\text{ml}$) přístrojem Fossomatic (F) ve vztahu k přímé mikroskopické metodě (MM) při různých hladinách diskriminace (DL) ve vzorcích mléka syrových (S) a pasterovaných (P). Všechny vzorky konzervované $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ – Dynamics of variations of calibration equations at determination of somatic cell counts ($\text{PSB} \cdot 10^3/\text{ml}$) by a Fossomatic apparatus (F) in relation to direct microscopic method (MM) with various discriminator levels (DL) in raw milk samples (S) and pasteurized milk samples (P). All samples preserved with $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$

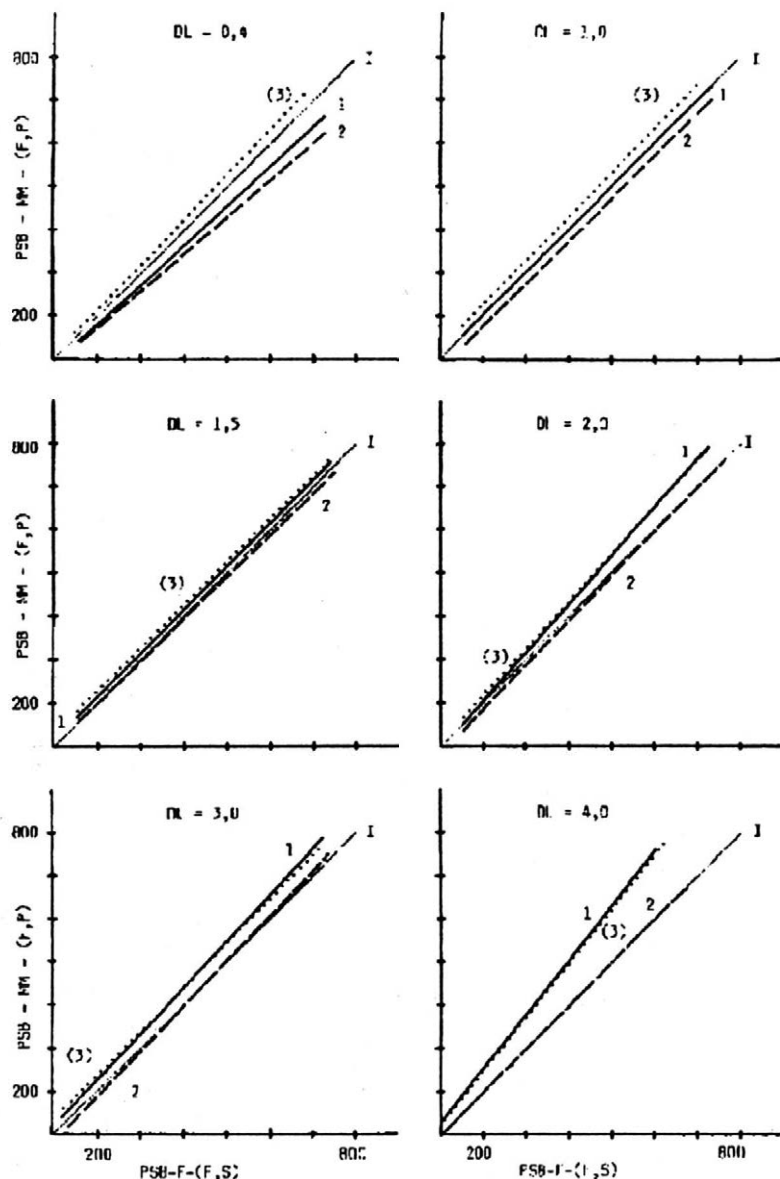
Pořadové číslo	Metoda	DL	Vzorky	PSB $\bar{x} \pm s_x$	PSB; $D_i = F - MM$ $\bar{x}_d \pm s_d$	Kalibrační rovnice ⁴ $F : MM$	r	PSB; $D_i = F_S - F_P$ $\bar{x}_d \pm s_d$	Rovnice lineární regrese ⁵ $F_S : F_P$	r
1	MM		S	342 ± 214		$y = 0 + 1x^a$				
2	F	0,4	S	376 ± 232	$34^{**} \pm 24$	$y = -4,28 + 0,919x$	$0,998^{***}$	$-24^* \pm 32$	$y = 2,00 + 1,057x$	$0,993^{***}$
			P	400 ± 247	$58^{**} \pm 40$	$y = -2,71 + 0,862x$	$0,995^{***}$			
3	F	1,0	S	340 ± 213	$-2^n \pm 22$	$y = 2,20 + 0,999x$	$0,995^{***}$	$-29^{**} \pm 22$	$y = 26,84 + 1,007x$	$0,995^{***}$
			P	369 ± 216	$27^{***} \pm 18$	$y = -23,18 + 0,988x$	$0,996^{***}$			
4	F	1,5	S	328 ± 212	$-14^n \pm 21$	$y = 11,12 + 1,007x$	$0,995^{***}$	$-24^{**} \pm 21$	$y = 20,91 + 1,009x$	$0,995^{***}$
			P	352 ± 215	$10^* \pm 15$	$y = -8,99 + 0,996x$	$0,998^{***}$			
5	F	2,0	S	322 ± 191	$-20^n \pm 29$	$y = -17,98 + 1,116x$	$0,996^{***}$	$-26^* \pm 30$	$y = -7,33 + 1,102x$	$0,994^{***}$
			P	489 ± 212	$6^n \pm 18$	$y = -8,59 + 1,008x$	$0,996^{***}$			
6	F	3,0	S	309 ± 195	$-33^* \pm 36$	$y = 5,92 + 1,088x$	$0,989^{***}$	$-38^{**} \pm 27$	$y = 28,51 + 1,031x$	$0,992^{***}$
			P	347 ± 203	$5^n \pm 25$	$y = -23,07 + 1,052x$	$0,994^{***}$			
7	F	4,0	S	270 ± 169	$-72^{***} \pm 47$	$y = 0,98 + 1,261x$	$0,997^{***}$	$-70^{**} \pm 47$	$y = 1,37 + 1,255x$	$0,996^{***}$
			P	340 ± 214	$-2^n \pm 16$	$y = 0,75 + 1,001x$	$0,997^{***}$			

For 1 - 5 see Tab. I

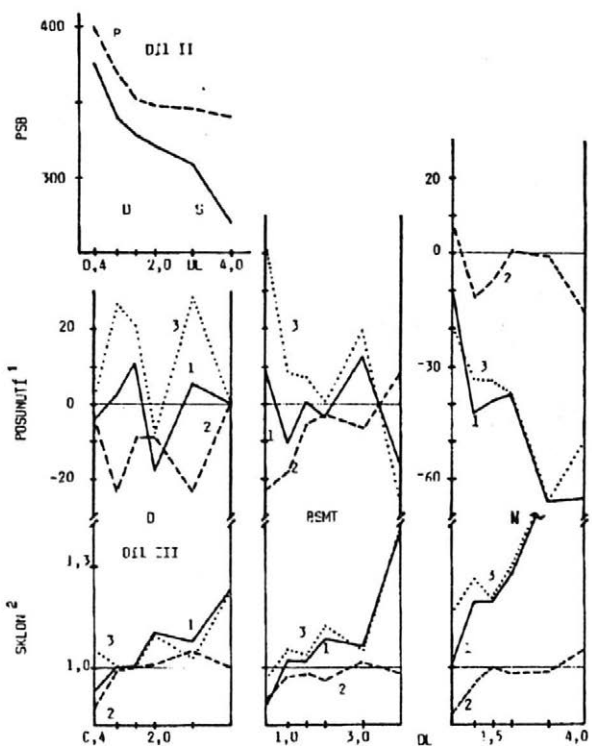
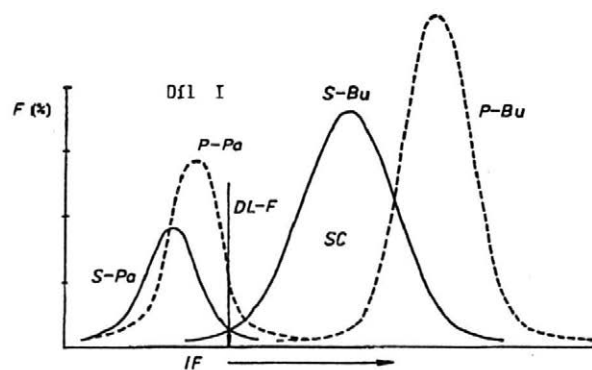
polohách DL. Pro hodnotu podprahovou byla s_d u varianty N mezi vzorky pasterovanými a syrovými srovnatelná. Hodnoty s_d rozdílů mezi F a MM ve variantách BSMT a D (tab. II a III) byly mezi vzorky pasterovanými a syrovými srovnatelné v polohách DL podprahové, prahových i nadprahových, pouze při DL = 4,0 jsou zřetelně vyšší pro syrové vzorky. Hodnoty s_d rozdílů mezi vzorky S a P uvnitř vyšetření F byly zřetelně vyšší u varianty N pro všechny DL (tab. I) a dále u variant BSMT a D (tab. II a III) pro DL = 4,0. Naopak byly nižší a vzájemně podobné ve variantách BSMT a D (tab. II a III) pro polohy podprahovou, prahové a nižší nadprahové. Je logické, že hodnoty s_d obecně vzrůstají s odchýlením sklonu příslušných regresních a kalibračních přímek od ideální hodnoty 1.

Obr. 1 graficky znázorňuje změny v poloze regresních přímek výsledků MM a F za různých DL uvnitř D vůči ideální kalibrační přímce. Bylo použito uspořádání F = „nezávisle proměnná“ (osa x) a MM = „závisle proměnná“ (osa y) - (G r a p p i n , 1985). Pro vzorky S je poloha přímky (1) nejbližší přímce ideální (I) v prahových polohách DL, pro vzorky P (2) pouze s malými odchylkami při DL 1,5 - 4,0. Proto ve stejných polohách DL (1,5 - 4,0) kopíruje poloha regresní přímky mezi vzorky S a P (uvnitř F (3)) polohu regresní přímky syrových vzorků (1). Je evidentní (obr. 1), že poměrně značný obor DL Fossomaticu (přibližně 1,0 ale zvláště 1,5 - 4,0) ve vzorcích pasterovaných odpovídá s minimálními změnami mikroskopickému vyšetření identických vzorků, zatímco u syrových lze uvést jen úzký obor DL (1,0 - 1,5).

Dynamika změn polohy regresních přímek z hlediska jejich parametrů je zobrazena v obr. 2. Fázování některých částí v obr. 2 (II a III k I) je pouze empiricko-graficky odhadnuto podle dřívějších výsledků (H a n u š a j., 1993a, b). Toto nafázování je jen přibližné už také proto, že horní část (I) obr. 2 je jen pokusem o hypotetické znázornění poměrů rozložení ve výšce parazitních a buněčných fluorescenčních impulsů před a po pasteraci identických vzorků, které je postavené na základě konfrontace výsledků více jiných prací (G r a p p i n a J e u n e t , 1974, 1975; S h e l d r a k e a j., 1977; A r d ö , 1982; H o a r e a j., 1982; L i n t n e r a j., 1984; S z i j a r t o a B a r n u m , 1984; M i l l e r a j., 1986; Š k a r d a a j., 1989) a vlastních pozorování (G e n ě u r o v á a j., 1993; H a n u š a j., 1993a, b). Naopak nafázování spodních částí (II k III) obr. 2 je provedeno přesně podle skutečně naměřených hodnot. Předpokládejme dva vzorky S mléka s různým absolutním PSB (např. 200 a 800.10³/ml) a se stejným, resp. lépe „přibližně podobným“, neboť vliv mastitidy podle její formy a intenzity může být zdrojem změn, tvarem a polohou frekvenčního rozložení výšky buněčných impulsů fluorescence na přístroji Fossomatic. Zvýšíme-li DL z optimální polohy shodné s výsledky MM (DL při které PSB pro F $\equiv$ MM) tak, aby bylo odstúpněno např. 20 % impulsů (nadprahová poloha), pak odečet PSB klesne asi o 40 a 160.10³/ml, což nalezne odezvu především ve změně sklonu regresní přímky vztahu mezi F a MM. Je to patrné především z dynamiky změn polohy regresní přímky mezi F a MM pro syrové mléko podle DL v tab. I, II, III a v obr. 1 (přímky 1) a obr. 2 (díl III, křivky 1), kdy sklon téměř plynule vzrůstá. Rovněž ze stejného důvodu roste sklon k hodnotě 1,0 opouští-li DL oblast rozložení parazitních impulsů (obr. 2, díl I) z podprahové polohy k prahové - tab. II a III pro vzorky S i P, obr. 1 (přímky 1 a 2) a obr. 2 (díl III, křivky



1. Dynamika změn polohy přímky vztahu mezi počtem somatických buněk ($\text{PSB} \cdot 10^3/\text{ml}$) stanoveným přímou mikroskopickou metodou (MM) a Fossomaticem (F) ve vzorcích syrových (1) a pasterovaných (2) a Fossomaticem ve vzorcích syrových a pasterovaných navzájem (F, S; F, P; /3/) proti ideální kalibrační přímce (I) při různých hladinách diskriminace (DL). Symbolika platí také pro obr. 2 – Dynamics of variations of the setup of the line for a relationship between somatic cell counts ($\text{SCC} \cdot 10^3/\text{ml}$) determined by a direct microscopic method (MM) and by a Fossomatic apparatus (F) in raw samples (1) and in pasteurized samples (2), and by a Fossomatic apparatus in both raw and pasteurized samples (F, R; F, P; /3/), against an ideal calibration line (I) at various discriminator levels (DL). The symbols also apply to Fig. 2



2. Změny parametrů regresních přímek (díl III; 1, 2, 3 vysvětlivky u obr. 1) a polohy prahových křivek vzorků syrových (S) a pasteurovaných (P; díl II) podle hodnot hladiny diskriminace (DL) u vzorků konzervovaných $K_2Cr_2O_7$ (D), bronopolem (BSMT) a nekonzervovaných (N), přibližně fázované (pouze pro D) k hypotetickému náznaku poměrů (četností = F; díl I) ve výšce fluorescenčních impulsů (IF) mezi impulsy parazitními (Pa) a buněčnými (Bu), kde SC je plocha vymezující na ose IF „obor snížené citlivosti metody vůči změnám v registrovaném PSB z pasteurovaného mléka“ a DL-F je optimální práh přístroje Fossomatic – Variations of the parameters of regression lines (section III; 1, 2, 3 explanatory notes in Fig. 1) and of the setup of threshold lines of raw (S) samples and pasteurized samples (P; section II) according to the values of discriminator level (DL) in samples preserved with $K_2Cr_2O_7$ (D), bronopol (BSMT) and in unpasteurized samples (N), phased approximately (only for D) for the hypothetical situation (frequencies = F; section I) in the height of fluorescence impulses (IF) between parasitic impulses (Pa) and cell impulses (Bu) where SC is an area representing on IF axis „the field of reduced sensitivity of the method with respect to variations in PSB readings for pasteurized milk“ and DL-F is the optimum threshold of Fossomatic apparatus
¹slope, ²intercept

1 a 2, D a BSMT). Logicky v případě nízkého výskytu parazitních impulsů (tab. I; řádek 2, S) vzrůstá sklon přímo od hodnoty 1,0 (obr. 2; díl III, N, 1). V obr. 2 je vidět, že zatímco se vzrůstem DL ve všech variantách konzervace není v posunutí (díl III) regresních přímek žádná zřetelná tendence, tak naopak ve sklonu je patrný plynulý nárůst pro křivky 1 a 3 (syrové F : MM a uvnitř F pak S : P) a nárůst k 1,0 z podprahové polohy a pak kolísání kolem 1,0 v polohách prahových a nadprahových.

vých pro křivku 2 (pasterované F : MM); viz také obr. 1 a tab. I, II a III. Vše co doposud bylo konstatováno v podstatě podporuje zobrazení I v obr. 2. To naznačuje, že pasterace, resp. silnější tepelné ošetření vzorků mění oproti vzorkům syrovým polohu a tvar rozložení a také počet parazitních a polohu a tvar rozložení buněčných impulsů z hlediska výšky impulsu fluorescence zhruba zobrazeným způsobem, tzn., že zvyšuje barvitelnost buněčných jader a také některých bakterií (parazitní impulsy) - H a n u š aj. (1993a, b). V předcházejícím příspěvku byla rovněž diskutována možnost orientačně odhadnout optimální polohu DL (práh) ze vzájemného průběhu prahových křivek identických vzorků S a P. Bylo naznačeno, že tato poloha může být před zlomem v poklesu prahové křivky P (obr. 2, díl II). Ze srovnání dynamiky změn polohy regresní přímky mezi S a P uvnitř F s rostoucí DL (tab. I, II a III; obr. 1 (3); obr. 2, díl III, 3) nelze pro tento návrh učinit žádné další zpřesňující doporučení. Je možné pouze uvést, že sklon přímek byl nejbližší 1,0 u konzervovaných vzorků (BSMT a D; obr. 2, díl III, 3) při prahové poloze DL. Poloha regresní přímky se tak zřetelněji liší od ideální v nadprahových polohách DL, zvláště v důsledku změny sklonu (obr. 1, (3)).

Z výsledků vyplývá, že v případě vynucené potřeby korekce DL, tzn. rekalibrace např. z důvodu opravy přístroje F v základních funkčních částech nebo z jiných důvodů, je třeba pro udržení provozní jistoty této velmi přesné metody stanovení PSB provést korekci proti MM na podkladě výsledků F v syrovém mléce, které je normálně rutinně měřeno. Nelze provést korekci vůči MM na podkladě výsledku F v pasterovaném mléce. L i n t n e r aj. (1984) a S z i j a r t o a B a r n u m (1984) kontrolovali přístroje vzorky P v čase bez změny DL. Avšak v případě potřeby změny DL neposkytují vzorky P při měření na F korektní informaci pro optimální polohu DL.

Přirozeně získané výsledky platí pro použitý přístroj Fossomatic 90 a absolutní hodnoty DL s jím odpovídajícími PSB jiných přístrojů by byly odlišné, ale relativní vztahy a tendence zjištěné ve výsledcích je logicky možné považovat za obecně platné. Nelze nikterak říci, že uvedené výsledky jsou bezprostředně prakticky použitelné v procesu kalibrace a kontroly přístrojů Fossomatic, nicméně mohou přispět k objasnění s těmito procesy souvisejících praktických jevů i rozporů a usnadnit tak posuzování správnosti funkce přístrojů a jejich výsledků v odhadu počtu somatických buněk.

L i t e r a t u r a

- ANDREWS, R. J. - KITCHEN, B. J. - KWEE, W. S. - DUNCALFE, F.: Relationship between individual cow somatic cell counts and the mastitis infection status of the udder. *Austral. J. Dairy Techn.*, 1983, s. 71-74.
- ARDÖ, I.: Bronopol as a preservative in milk samples for the determination of cell content using Fossomatic. *Milchwissenschaft*, 37, 1982, č. 3, s. 139-142.
- ARNDT, G. - WEISS, H. - UBBEN, E. H.: Der Gehalt somatischer Zellen in der Rohmilch: Beiträge zu Messung, Interpretation und praktischer Bedeutung für Milchqualität und Mastitisbekämpfung. I. Statistische Verfahren zur Beurteilung der Datenqualität von Ringversuchsergebnissen, dargestellt

am Beispiel der Zählung somatischer Zellen in Milch. Kieler milchwirtsch. Forsch. - Ber., 43, 1991, s. 167-178.

BERGMANN, J.: Zellzahlbestimmung für jede Kuh hilft Kosten sparen. Aus den Arbeiten des Landeskontrollverbandes Schleswig-Holstein e. V., Kiel 1988, č. 31, s. 27-45.

BLAHOVÁ, I. - RYŠÁNEK, D.: Shoda a opakovatelnost elektronického stanovení počtu somatických buněk mléka v diagnostických laboratořích. Veter. Med. (Praha), 29, 1984, č. 5, s. 257-262.

COLEMAN, D. A. - MOSS, B. R.: Effects of several factors on quantification of fat, protein and somatic cells in milk. J. Dairy Sci., 72, 1989, s. 3295-3303.

ČSN 57 0529. Syrové kravské mléko. 1986.

DOHOO, I. R. - MEEK, A. H. - MARTIN, S. W. - BARNUM, D. A.: Use of total and differential somatic cell counts from composite milk samples to detect mastitis in individual cows. Can. J. comp. Med., 45, 1981, s. 8-14.

GENČUROVÁ, V. - HANUŠ, O. - KOPECKÝ, J. - JEDELSKÁ, R.: Vliv ošetření vzorků mléka před měřením na odečet počtu somatických buněk přístrojem Fossomatic. Živoč. Výr., 38, 1993, s. 555-565.

GRAPPIN, R.: Definition and evaluation of the overall accuracy of indirect methods of milk analysis - application to calibration procedure and quality control in dairy laboratory. Bull. IDF, Doc. 208, IDF Provisional Standard 128, 185, s. 3-12.

GRAPPIN, R. - JEUNET, R.: Premiers essais de l'appareil „Fossomatic“ pour la détermination automatique du nombre de cellules du lait. Le lait, 54, 1974, č. 539-540, s. 627-644.

GRAPPIN, R. - JEUNET, R.: Conditions d'utilisation des méthodes automatiques de dénombrement des cellules du lait: étalonnage et conservation des échantillons de lait. Le lait, 55, 1975, č. 549-550, s. 650-668.

HANUŠ, O. - ŽVÁČKOVÁ, I. - GENČUROVÁ, V.: Příspěvek k problematice praktických možností stanovení počtu somatických buněk v mléce. Veterinářství, 42, 1992a, č. 9, s. 343-345.

HANUŠ, O. - GENČUROVÁ, V. - GABRIEL, B. - ŽVÁČKOVÁ, I.: Srovnání účinnosti konzervačního přípravku Milkofix s tradičními konzervačními prostředky pro účely stanovení počtu somatických buněk ve vzorcích mléka fluoro-opto-elektronickou metodou. Veter. Med. (Praha), 37, 1992b, s. 91-99.

HANUŠ, O. - GENČUROVÁ, V. - KOPECKÝ, J. - GABRIEL, B.: Vliv změny úrovně diskriminace fluoro-optoelektronického stanovení počtu somatických buněk na výsledky ve vzorcích syrového a pasterovaného mléka. Živoč. Výr., 38, 1993a, s. 443-455.

HANUŠ, O. - GENČUROVÁ, V. - GABRIEL, B. - KOPECKÝ, J. - JEDELSKÁ, R.: Kalibrace a kontrola přesnosti stanovení počtu somatických buněk v mléce krav metodou Fossomatic. Živoč. Výr., 38, 1993b, v tisku.

HOARE, R. J. T. - NICHOLLS, P. J. - SHELDRAKE, R. F.: Investigations into falsely elevated somatic cell counts of bulked herd milk. J. Dairy Res., 49, 1982, s. 559-565.

KROGER, M.: Milk sample preservation. J. Dairy Sci., 68, 1985, s. 783-787.

LINTNER, T. J. - HEALD, C. W. - EBERHART, R. J.: Somatic cell reference samples for calibration of milk somatic cell counting methods. J. Fd Prot., 47, 1984, s. 694-696.

MILLER, R. H. - PAAPE, M. J. - ACTON, J. C.: Comparison of milk somatic cell counts by Coulter and Fossomatic counters. J. Dairy Sci., 69, 1986, s. 1942-1946.

ON 58 0532 Stanovení počtu somatických buněk v mléce. 1988.

RENEAU, J. K.: Effective use of dairy herd improvement somatic cell counts in mastitis control. J. Dairy Sci., 69, 1986, s. 1708-1720.

RYŠÁNEK, D. - NYTRA, J.: Konfrontace výsledků stanovení počtu somatických buněk přístroji Coulter, Fossomatic a přímou mikroskopickou metodou. Veter. Med. (Praha), 33, 1988, s. 393-399.

RYŠÁNEK, D. - NYTRA, J.: Konzervace vzorků a počet somatických buněk mléka. *Živoč. Výr.*, 35, 1990, s. 977-986.

SHELDRAKE, R. F. - HOARE, R. J. T. - WOODHOUSE, V. E. - MCGREGOR, G. D.: Cell volume to aid analysis and technique of somatic cell counts in milk. *J. Dairy Sci.*, 60, 1977, s. 882-888.

SZIJARTO, L. F. - BARNUM, D. A.: Preparation, use and evaluation of standards developed for simultaneous monitoring of Coulter and Fossomatic electronic cell counting instruments in Ontario. *J. Fd Prot.*, 47, 1984, s. 227-231.

ŠKARDA, J. - HEMROVÁ-ŠEDINOVÁ, V. - MIKULÁŠ, I. - URBANOVÁ, E. - ŠKARDOVÁ, O.: Metody stanovení počtu somatických buněk v mléce dojníc. *Živoč. Výr.*, 34, 1989, s. 323-332.

ŠKARDOVÁ, O. - ŠEDINOVÁ, V. - ŠKARDA, J. - URBANOVÁ, E. - BÍLEK, J.: Metody diagnostiky subklinických mastitid v programu tlumení mastitid dojníc. *Veter. Med. (Praha)*, 29, 1984, s. 65-77.

VINES, D. T. - JENNY, B. F. - WRIGHT, R. E. - GRIMES, L. W.: Variation in milk fat, protein and somatic cell count from four dairy herd improvement laboratories. *J. Dairy Sci.*, 69, 1986, s. 2219-2223.

Došlo 4. 3. 1993

HANUŠ, O. - PONÍŽIL, A. - KOPECKÝ, J. - GABRIEL, B. - JEDELSKÁ, R. (Research Institute for Cattle Breeding, Rapotín):

Dynamics of variations of calibration line setups at determination of somatic cell counts on Fossomatic apparatus with various discriminator levels.

Vet. Med. - Czech, 18, 1993 (8) : 497-509.

Analysis of the relationship between direct and indirect method of determination of somatic cell counts (SCC) in samples of raw milk (R) and pasteurized milk (P) has turned out necessary. A Fossomatic method is probably the most widespread and the most precise method of SCC determination all the world round used for the purposes of payments for milk. We tried to find an explanation to the fact that Fossomatic (F) apparatuses „identical“ with each other in readings of control P samples may show clearly different readings of SCC determination in R milk. The results can help to elucidate some factually observed phenomena in SCC readings at apparatus checks. Lintner et al. (1984) and Szijarto and Barnum (1984) used the system of apparatus SCC determination checks by means of control P samples. Such a control was applied in time, but most probably not to adjustment of the apparatus discriminator level. Identical samples of R and P milk as for SCC were analyzed on a Fossomatic 90 apparatus (Foss Electric, Denmark) at various discriminator levels (DL), and the results were confronted with a reference procedure of direct microscopical method (MM). The samples analyzed on the apparatus were stored for 24 hours at 4 °C and they were either unpreserved (U) or preserved with $K_2Cr_2O_7$ (D) or with bronopol (BSMT). The results in Tabs. II and III and in Fig. 1 show that the setups DL = 1.0 - 1.5 can be taken as threshold (optimum) for R samples preserved with BSMT and D, DL < 1.0 as underthreshold and DL > 1.5 as suprathreshold. DL setup determined in a certificate for the given apparatus is 1.4. The lower threshold value would apply to U sample (Tab. I), while quite different thresholds would apply to P samples (Tabs. I, II, III). The values of standard deviations of the mean differences (s_d) between F and MM readings of both R and P samples, and between

F, R readings and F, P readings (Tabs. I, II, III), logically increase in general with departures of the slope of respective regression and calibration lines from the ideal value 1. The large Fossomatic range of DL (Fig. 1; approximately 1.0, but particularly 1.5 - 4.0) in P samples corresponds with minimum changes to MM readings for identical samples, while in R samples the range of DL is only small (1.0 - 1.5). Certain numbers of parasitic impulses were found both in R and P samples with a decreasing trend for BSMT, D and U. Clearly higher numbers of parasitic impulses were found for P samples in comparison with R samples. It is logical that with the low occurrence of parasitic impulses the slope of regression line between F and MM is increasing from the value 1.0 while with the higher occurrence it has first to reach the value 1.0 (Tabs. I, II, III; Figs. 1 and 2). For all preservation treatments there is a continuous growth of slope regression lines 1 (R) and 3 (Figs. 1 and 2, section III), and growth to 1.0 from the underthreshold setup followed by oscillation around 1.0 in the threshold and suprathreshold setups for line 2 (P; Figs. 1 and 2, section III). Everything that has been said supports a hypothetical illustration in Fig. 2 - section I, when in comparison with raw samples pasteurization changes the setup and distribution as well as the number of parasitic impulses, and the setup and distribution of cell impulses with respect to the height of fluorescence impulse. It increases staining ability of cellular nuclei and also of some bacteria (parasitic impulses). The relative relationships and trends of the readings can be taken as valid in general unlike the absolute values which hold good only for the used Fossomatic apparatus. In case DL adjustment is needful, that means re-calibration is needful, e.g. due to the repair of F apparatus in its basic functional components or due to other reasons, maintenance of apparatus reliability requires an adjustment against MM readings on the basis of F readings for R milk which undergoes normal routine measurements. This adjustment against MM readings cannot be made on the basis of F readings in P milk.

raw milk; pasteurized milk; somatic cell counts; Fossomatic; discriminator level; fluorescence impulse; distribution; calibration; line slope; threshold; parasitic impulse; cell impulse; microscopic method

Contact Address:

Ing. Oto H a n u š , Výzkumný ústav pro chov skotu, 788 13 Rapotín, Czech Republic
Tel. 0649 4101, fax 0649 5702

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

Výsledky

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

Diskuse

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

Poděkování

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



**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

Tančin V., Harcek L., Brouček J., Uhrinčat' M., Mihina Š.: Zmeny hladiny oxytocínu a kortizolu u prvôstok po prechode z 21-dňového cicania teľatami na strojové dojenie – Variations of oxytocin and cortisol concentrations in first-calvers after their transition to machine milking following 21-day calf sucking	449
Slanina L., Nagy O., Šedovič M., Kaderiak J.: Experimentálna paroxyzmálna hemoglobínúria teliat a jej dosah na hematologický a acidobázický profil – Experimental paroxysmal haemoglobinuria in calves and its effect on blood and acid-base indices	459
Šedovič M., Nagy O., Slanina L.: Experimentálna paroxyzmálna hemoglobínúria teliat a vybrané biochemické ukazovatele v krvi a moči – Experimental paroxysmal haemoglobinuria in calves and selected biochemical indices in the blood and urine	467
Paulík Š., Levkutová M., Bajová V., Benko G., Harvan M.: Efekt primárnej BHV-1 infekcie na dynamiku T a B lymfocytov periférnej krvi a hladinu špecifických sérových protilátok u teliat ošetrovaných glukánom – The effect of primary BHV-1 infection on dynamics of T and B lymphocytes of peripheral blood and on the level of specific serum antibodies in glucane premedicated calves	477
Skřivanová V., Šimůnek J., Marounek M., Kuboušková M.: Vliv přísavky AMP-50 na užitkovost, vybrané hematologické a biochemické parametry a stravitelnost živin u telat v mléčném výkrmu – Effect of amino acid supplement AMP-50 on performance, blood and biochemical parameters and digestibility of nutrients in veal calves	485
Hanuš O., Ponížil A., Kopecký J., Gabriel B., Jedelská R.: Dynamika změn polohy kalibrační přímky při stanovení počtu somatických buněk přístrojem Fossomatic za různých hladin diskriminace – Dynamics of variations of calibration line setups at determination of somatic cell counts on Fossomatic apparatus with various discriminator levels	497

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: ÚZPI Praha ● © Ústav zemědělských a potravinářských informací, Praha 1993

Rozšiřuje PNS a. s. Informace o předplatném podá a objednávky přijímá každá administrace PNS, doručovatel tisku a Administrace centralizovaného tisku, Hvoždanská 5-7, 149 00 Praha 4-Roztyly.