

ÚSTAV ZEMĚDĚLSKÝCH A POTRAVINÁŘSKÝCH
INFORMACÍ

VETERINÁRNÍ MEDICÍNA

10

ROČNÍK 38 (LXVI)
LÉTA 1993
ISSN 0375-8427

ČESKÁ AKADEMIE ZEMĚDĚLSKÝCH VĚD
SLOVENSKÁ AKADEMIA PŮDOHOSPODÁRSKÝCH 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 , DrSc., University of Veterinary and Pharmaceutical Sciences, Brno, Czech Republic

Doc. MVDr. Ivan R o s i v a l , CSc., University of 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

PRESTUP DUSIČNANOV A DUSITANOV DO MLIEKA DOJNÍC CESTOU TRÁVIAČEHO TRAKTU

M. Baranová, P. Maľa, O. Burdová

Univerzita veterinárskeho lekárstva, Košice

Zvýšené koncentrácie dusičnanov v mlieku nielenže spôsobujú jeho zdravotnú závažnosť ako suroviny určenej pre výrobu kojeneckej a detskej výživy, ale vyvolávajú tiež mnoho problémov pri technologickom spracovávaní mlieka. V práci sme sledovali prestup dusičnanov a dusitanov do mlieka dojníc po dusičnanovej záťaži. Skupine šiestich dojníc plemena slovenské strakaté v Experimentálnom veterinárnom stredisku Zemplinská Teplica sme v asi dvojtýždňových intervaloch jednorázovo perorálne aplikovali 150; 75; 37,5; 18,75 a 9,5 g KNO_3 vo vodnom roztoku 2 hodiny pred večerným dojením. Obsah reziduí dusičnanov a dusitanov sme sledovali v individuálnych vzorkách mlieka, ktoré sme získali ručným dojením 2, 14, 26, 38 a 50 h po aplikácii príslušného množstva KNO_3 . Po perorálnej aplikácii KNO_3 dojniciam došlo k zreteľnému zvýšeniu obsahu dusičnanov v mlieku v závislosti od aplikovaného KNO_3 . Priemerná hodnota reziduálneho dusičnanu v mlieku 2 h po podaní 150 g KNO_3 bola 35,60 mg NO_3/l . Zvýšené hladiny reziduálneho dusičnanu v mlieku sme zistili aj 38 h po aplikácii KNO_3 . Po 50 h obsah dusičnanov v mlieku bol takmer zhodný s obsahom, ktorý sme stanovili v mlieku pokusných dojníc z ranného pôdoja v deň podania 150 g KNO_3 , ktoré sme brali ako kontrolné vzorky. Podobné výsledky sme dosiahli aj pri ostatných aplikovaných množstvách KNO_3 . Hodnoty reziduálneho dusitanu ani v jednej vzorke nepresiahli 0,05 mg NaNO_2/l . V sledovaných vzorkách mlieka sme stanovili aj kysaciu aktivitu jogurtovým testom, titračnú a aktívnu kyslosť mlieka. Aktívna kyslosť mlieka nebola ovplyvnená aplikovaným množstvom KNO_3 . Titračná kyslosť po aplikácii 150 a 75 g KNO_3 bola nižšia ako to vyžaduje ČSN 57 0529 pre surové kravské mlieko (6,2 - 8,0 °SH). Aplikované množstvá KNO_3 nespôsobili zníženie hodnoty jogurtového testu pod 25 °SH.

dojnice; mlieko; dusičnany; dusitany; aktívna kyslosť mlieka; titračná kyslosť mlieka; kysacia aktivita mlieka; jogurtový test

Dusičnany, pre živočíchy toxická forma inak nepoškoditeľného biogénneho prvku, sú dnes najrozšírenejšou cudzorodou látkou sprevádzajúcou potraviny a suroviny rastlinného a živočíšneho pôvodu. Problematika dusičnanov v životnom prostredí úzko súvisí s chemizáciou poľnohospodárstva, predovšetkým intenzívnym hnojením dusíkatými hnojivami, následnou kumuláciou dusičnanov v rastlinnom materiáli a kontamináciou povrchovej a spodnej vody.

Hygienici upozornili na zdravotné riziko požitia dusičnanov prvýkrát v roku 1945, kedy C o m l y (1945 - cit. Š i n d e l á ř o v á, 1986) vysvetlil vznik alimentárnej kojeneckej methemoglobínémie pôsobením dusičnanov z pitnej vody.

Z hľadiska ľudskej výživy, ako zdroj dusičnanov a dusitanov, sú sledované najmä rôzne druhy zeleniny (Prugar a Prugarová, 1985), mäso a mäsové výrobky (Wirth, 1985; Dubravický a Ivanová, 1986; Pleva a i., 1990; Baranová a i., 1991) a pitná voda (Rupčíková a Kaláč, 1987). V posledných rokoch viacerí autori venovali pozornosť zaťaženiu obyvateľstva dusičnanmi a dusitanmi prostredníctvom konzumácie mlieka a mliečnych výrobkov (Vilnerová, 1982; Jacková a i., 1989; Jirásková a Žilková, 1989) a iné. Staršie pramene uvádzajú prítomnosť dusičnanov a dusitanov v mlieku len ako dôkaz jeho zvodnenia, novšie sa zaoberajú prestupom dusičnanov a dusitanov z krmiva do telových tekutín a mlieka dojnic.

Dlhodobá zvýšená dusíkatá záťaž dojnic z krmiva a napájacej vody sa môže negatívne prejavovať nielen na ich zdravotnom stave, znížením prírastkov hmotnosti, poklese dojivosti, znížením obsahu tuku v mlieku, poruchami plodnosti, nižším využitím jódu v štítnej žľaze, zhoršením konverzie (Slanina a i., 1985; Skřiváněk, 1987), ale aj na kvalite a zdravotnej nezávadnosti mlieka ako suroviny určenej pre výrobu kojeneckej a detskej výživy (Podhorský, 1983). Šidlovská a (1986) udáva, že obsah dusičnanov v mlieku sa pohybuje v rozmedzí 0,5 - 5 mg/l a môže dosiahnuť až 50 mg. Krelowská-Kalás (1989) vo svojej štúdii zistila, že intenzita dusíkatého hnojenia rastlín má podstatný vplyv na množstvo dusičnanov a dusitanov v mlieku.

Cieľom našej práce bolo overenie prestupu dusičnanov a dusitanov do mlieka dojnic ktorým sme v asi dvojtýždňových intervaloch jednorázovo perorálne aplikovali 150; 75; 37,5; 18,75 a 9,5 g KNO_3 vo vodnom roztoku.

MATERIÁL A METÓDY

Do experimentu sme zaradili 6 dojnic plemena slovenské strakaté v EVS Zemplinská Teplica. Pred začatím pokusu sme odobrali vzorky používaných krmív a napájacej vody, ako aj individuálne vzorky mlieka, ktoré sme vyšetrili na prítomnosť dusičnanov a dusitanov.

Na stanovenie dusičnanov vo vode sme použili fotometrickú metódu, ktorú uvádza ČSN 83 0520, časť 24. Dusitany vo vode sme stanovili podľa ČSN 83 0520 časť 23. Obsah dusičnanov v krmive sme stanovili na digitálnom pH-metri OP 2111 Radelkis metódou dusičnanovej iónselektívnej elektródy Crytur 07-15 (Javorský a Krečner, 1987). Hladiny dusičnanov a dusitanov v mlieku sme stanovili modifikovanou metódou IDF a ISO pre mlieko a mliečne výrobky (Cvák a i., 1985).

Cieľom experimentu bolo sledovanie prestupu dusičnanov a dusitanov do mlieka dojnic po dusičnanovej záťaži. Vybraným dojniciam sme perorálne aplikovali 150 g KNO_3 na jednu dojnicu vo forme vodného roztoku 2 h pred večerným dojením a sledovali obsah reziduí dusičnanov a dusitanov v mlieku, ktoré sme získali ručným dojením pokusných dojnic 2, 14, 26, 38 a 50 h po aplikácii KNO_3 .

Pri druhej aplikácii, ktorú sme vykonali po dvoch týždňoch 2 h pred večerným dojením sme aplikáciu dávku znížili na 75 g KNO_3 .

Aplikačnú dávku KNO_3 vo vodnom roztoku sme ďalej v dvojtyždňových intervaloch znižovali na 37,5; 18,75 a 9,5 g, pričom sme sledovali obsah dusičnanov a dusitanov v mlieku ako pri aplikácii 150 g KNO_3 .

V odobratých vzorkách mlieka sme súčasne stanovili aktívnu kyslosť kompaktným pH metrom CARDY, titračnú kyslosť metódou podľa Soxhlet-Henkela a kysaciu aktivitu jogurtovým testom. Vzorky mlieka získané ručným dojením pokusných dojníc z ranného pôdoja v deň aplikácie príslušnej dávky KNO_3 slúžili ako kontrola.

VÝSLEDKY

Stanovením obsahu dusičnanov a dusitanov v krmive a napájacej vode sme zistili, že záťaž organizmu dojníc nadmerným prívodom dusičnanov z použitého krmiva a vody nehrozí. Hladina dusičnanov v krmive bola veľmi nízka - 17,52 mg NO_3^-/kg vzhľadom na najvyššie povolené množstvá týchto látok v krmivách (5000 mg). Rovnako aj obsah dusičnanov v napájacej vode 11,49 mg NO_3^-/l vyhovoval požiadavkám ČSN 75 111 pre pitnú vodu, ktorá uvádza maximálnu prípustnú hodnotu pre dusičnany 50 mg NO_3^-/l . Obsah dusitanov vo vode bol nulový.

Po perorálnej aplikácii KNO_3 dojniciam došlo k zreteľnému zvýšeniu obsahu dusičnanov v mlieku v závislosti od množstva aplikovaného KNO_3 (tab. I). Priemerná hodnota reziduálneho dusičnanu v mlieku 2 h po podaní 150 g KNO_3 bola 34,60 mg NO_3^-/l , čo predstavuje až 42,7-násobné zvýšenie oproti obsahu dusičnanov 0,81 mg v mlieku z ranného pôdoja v deň aplikácie KNO_3 . Zvýšené hladiny reziduálneho dusičnanu v mlieku sme zistili aj 38 h po aplikácii KNO_3 . Po 50 h obsah dusičnanov v mlieku bol takmer zhodný s obsahom, ktorý sme stanovili v mlieku pokusných dojníc z ranného pôdoja v deň podania 150 g KNO_3 , ktoré sme brali ako kontrolné vzorky. Podobné výsledky sme dosiahli aj pri ostatných aplikovaných množstvách KNO_3 . Hodnoty reziduálneho dusitanu ani v jednej vzorke nepresiahli 0,05 mg NaNO_2/l .

Okrem reziduálneho dusičnanu a dusitanu v sledovaných vzorkách mlieka sme stanovili aj kysaciu aktivitu jogurtovým testom, titračnú a aktívnu kyslosť. V tab. II sú uvedené hodnoty reziduálneho dusičnanu v mlieku, kysacej aktivity mlieka vyjadrenej jogurtovým testom, titračnej a aktívnej kyslosti mlieka 2 h po aplikácii jednotlivých aplikačných dávok KNO_3 . Tab. III udáva priemerné hodnoty reziduálneho dusičnanu v mlieku, kysacej aktivity, titračnej a aktívnej kyslosti mlieka 2, 14, 26, 38 a 50 h po aplikácii 150 g KNO_3 dojniciam.

Z tab. II je zrejmé, že aktívna kyslosť mlieka (pH) sa pohybovala v povolenom rozpätí (6,4 - 6,8), nebola ovplyvnená aplikovaným množstvom KNO_3 v perorálnom podaní.

Titračná kyslosť ($^{\circ}\text{SH}$) je nižšia pri dávke 150 a 75 g KNO_3 , pri ostatných dávkach sa neodchyľuje od hodnôt požadovaných ČSN 57 0529 na surové kravské mlieko (6,2 - 8,0 $^{\circ}\text{SH}$).

Výsledky jogurtového testu pri všetkých dávkach KNO_3 sa pohybujú v norme, pri nami zvolených aplikovaných množstvách nebola zaznamenaná výraznejšia inhibícia jogurtového testu.

I. Priemerné hodnoty reziduálneho dusičnanu v mlieku ($\text{mg NO}_3^-/\text{l}$), kysacej aktivity mlieka vyjadrenej jogurtovým testom (SH/JTI), titračnej kyslosti ($^\circ\text{SH}$) a aktívnej kyslosti mlieka (pH) 2 h po aplikácii 150; 75; 37,5; 18,75 a 9,5 g KNO_3 – Average values of residual nitrate in milk ($\text{mg NO}_3^-/\text{l}$), fermented activity of milk expressed by yoghurt test (SH/JTI), titrable acidity ($^\circ\text{SH}$) and active acidity of milk (pH) 2 hours after application of KNO_3 in the doses as follows: 150; 75; 37,5; 18,75; and 9.5 g

Množstvo aplikovaného KNO_3 ¹ (g)	n	$\text{mg NO}_3^-/\text{l}$		SH/JTI		$^\circ\text{SH}$		pH	
		x	sd	x	sd	x	sd	x	sd
150,00	6	34,60	10,12	26,62	0,61	5,12	2,24	6,80	0,30
75,00	6	15,60	2,51	26,15	0,31	6,10	1,37	6,68	0,22
37,50	6	9,76	1,07	27,12	0,97	6,32	1,00	6,56	0,13
18,75	6	4,48	1,14	27,16	0,29	6,44	0,88	6,53	0,10
9,50	6	3,36	1,93	27,37	0,41	6,30	0,66	6,62	0,16

¹ amount of KNO_3 applied

II. Priemerné hodnoty reziduálneho dusičnanu v mlieku ($\text{mg NO}_3^-/\text{l}$), kysacej aktivity mlieka vyjadrenej jogurtovým testom (SH/JTI), titračnej kyslosti ($^\circ\text{SH}$) a aktívnej kyslosti mlieka (pH) 2, 14, 26, 38, 50 h po aplikácii 150 g KNO_3 – Average values of residual nitrate in milk ($\text{mg NO}_3^-/\text{l}$), fermented activity of milk expressed by yoghurt test (SH/JTI), titrable acidity ($^\circ\text{SH}$) and active acidity of milk (pH) 2, 14, 26, 38, 50 hours after application of 150 g of KNO_3

Čas (h) po aplikácii 150 g KNO_3 ¹	n	$\text{mg NO}_3^-/\text{l}$		SH/JTI		$^\circ\text{SH}$		pH	
		x	sd	x	sd	x	sd	x	sd
2	6	34,60	10,12	26,62	0,61	5,12	2,24	6,80	0,30
14	6	15,49	3,37	26,68	0,56	5,14	1,54	6,81	0,26
26	6	14,92	3,72	27,08	1,47	6,04	1,04	6,72	0,17
38	6	5,62	2,00	27,34	1,92	6,16	1,17	6,72	0,20
50	6	0,96	0,30	27,76	1,42	6,15	1,20	6,72	0,18

¹ time (hours) after application of 150 g of KNO_3

III. Priemerné hodnoty reziduálnych dusičnanov vo vzorkách mlieka ($\text{mg NO}_3/\text{l}$), odobratých pred a po aplikácii príslušného množstva KNO_3 dojniciam – Average values of residual nitrates in milk samples ($\text{mg NO}_3/\text{l}$) taken before and after application of appropriate amount of KNO_3 to dairy cows

Čas (h) po aplikácii KNO ₃ ¹	n	Aplikovaný KNO ₃ (g/dojnica) ²									
		150		75		37,5		18,75		9,5	
		mg NO ₃ ⁻ /l									
		<i>x</i>	<i>sd</i>	<i>x</i>	<i>sd</i>	<i>x</i>	<i>sd</i>	<i>x</i>	<i>sd</i>	<i>x</i>	<i>sd</i>
2	6	34,60	10,12	15,60	2,51	9,76	3,99	4,48	1,14	3,36	1,93
14	6	30,82	3,38	9,74	4,85	5,08	2,12	3,37	1,10	3,31	0,83
26	6	14,92	3,72	3,82	0,89	1,97	0,56	2,44	1,67	2,60	0,49
38	6	5,62	2,00	1,59	0,38	1,57	0,13	1,87	0,37	1,81	0,25
50	6	0,96	0,31	0,96	0,31	1,18	0,23	1,62	0,12	1,81	0,25
Kontrola ³	6	0,81	0,18	0,96	0,36	1,01	0,70	1,43	0,23	1,62	0,12

¹time (hours) after application of KNO_3 , ²applied KNO_3 (g/dairy cow), ³control

O niečo výraznejšie sa na sledovaných hodnotách prejavil časový interval po aplikácii, ako vidieť z tab. III. Pri pH mlieka sme nezaznamenali výraznejšie zmeny. Titračná kyslosť pri aplikácii 150 g KNO_3 je vo všetkých časových intervaloch nižšia, pričom výrazné zníženie $^{\circ}\text{SH}$ je po 2 a 14 h od aplikácie.

Jogurtový test sa pohyboval na úrovni 26,62 resp. 27,76 $^{\circ}\text{SH}$, teda možno konštatovať, že dávka 150 g KNO_3 na dojnica *per os* nespôsobila zníženie hodnoty jogurtového testu pod 25 $^{\circ}\text{SH}$.

DISKUSIA

Po grafickom znázornení vzájomnej závislosti obsahu reziduálneho dusičnanu v mlieku od množstva aplikovaného dusičnanu, dostali sme lineárnu závislosť, ktorá jasne ukazuje, že obsah dusičnanov v mlieku úzko súvisí s jeho obsahom v krmive. Rovnaký názor vyslovujú aj autori Kühnert a Fusch (1983), keď zistili, že po zvýšenom príjme dusičnanov krmnou dávkou sa zvýšil tiež obsah dusičnanov v mlieku. Podľa týchto autorov spôsobuje denný príjem 15 g $\text{NO}_3/100$ kg živej hmotnosti dojnic zvýšenie obsahu dusičnanov až na 25 $\text{mg NO}_3/\text{l}$ mlieka. V našom prípade pri jednorázovej perorálnej aplikácii 150 g KNO_3 dojniciam došlo k zvýšeniu obsahu dusičnanov v mlieku na 34,60 $\text{mg NO}_3/\text{l}$.

Pri perorálnej aplikácii 9,5 g KNO_3 dojniciam, čo je bežný obsah dusičnanov v kŕmnej dávke dojníč, priemerná hodnota reziduálneho dusičnanu v mlieku bola 3,36 mg NO_3^-/l . Tieto výsledky sú v súlade s výsledkami Jiráskovej a Žilkovej (1989), ktoré zistili priemerný obsah NaNO_3 vo vzorkách mlieka od jednotlivých dojníč 3,94 mg/l. Rovnako aj Luf a Brandl (1986), ktorí sledovali dusičnany a dusitaný v mlieku a mliečnych výrobkoch, zistili maximálnu hodnotu dusičnanov 4,59 mg/l. Na druhej strane Podhorský (1984) udáva, že do celodennej produkcie mlieka prechádza 3 až 5 % dusičnanov z ich celkového denného príjmu organizmu dojníč. V kritických obdobiach, akým je obdobie prechodu zo zimného na letné kŕmenie pri zvýšenom množstve dusičnanov v napájacej vode sa dostáva do litra mlieka 20 - 80 mg oxidovaných dusíkatých látok. V extrémnych prípadoch uvádza Podhorský (1983) hodnoty dusičnanov až 40 mg na liter.

Nami získané výsledky sledovania prestupu dusičnanov a dusitanov do mlieka dojníč súhlasne s viacerými citovanými autormi poukazujú na to, že obsah reziduálnych dusičnanov v mlieku závisí od množstva prijatých dusičnanov kŕmnou dávkou. Pri bežných podmienkach kŕmenia, hladiny reziduálneho dusičnanu v mlieku vyhovujú Hygienickým požiadavkám na cudzorodé látky aj pre detskú výživu, ktoré požadujú maximálny obsah 15 mg NaNO_3/kg alebo ako NO_3^- 10,5 mg/kg.

Iná situácia však môže nastať pri skŕmovaní nekvalitnej siláže a senáže (Polanský a i., 1986) s vysokým obsahom dusičnanov, kedy pri dlhodobej záťaži sa hodnoty reziduálneho dusičnanu v mlieku môžu výrazne zvýšiť. Zvýšené koncentrácie dusičnanov v mlieku nielenže spôsobujú jeho zdravotnú závadnosť, ale vyvolávajú tiež mnoho problémov pri technologickom spracovávaní mlieka. Svojím inhibičným pôsobením proti celej rade oxidoredukčných enzýmov bránia prirodzenému kysnutiu mlieka a naopak podporujú rozvoj nežiadúcich druhov mikroorganizmov (Podhorský, 1984). Hoci priemerný denný príjem dusičnanov z mlieka u dospelého človeka v Československu predstavoval len 0,2 % z ich celkového denného príjmu 150 mg (Vilnerová, 1982), skutočnosť, že prítomnosť dusičnanov v mlieku je úmerná množstvu dusičnanov prijatých kŕmivom treba mať na zreteli a nemožno ju podceňovať. Mlieko, ako základný zdroj kojeneckej a detskej výživy, pri zvýšenom obsahu dusičnanov môže byť príčinou ochorenia - methemoglobínémie u dojčiat a tiež tu rezonuje otázka tvorby nitrozamínov, ktorým sa pripisuje kancerogénne, teratogénne a mutagénne pôsobenie.

Literatúra

- BARANOVÁ, M. - SIKLENKA, P. - PLEVA, J. - JACKOVÁ, A.: Problematika dusičnanov a dusitanov vo výžive králikov. Zbor ved. Prác Úst. exp. veter. Med. Košice, VII, 1991, s. 165.
- COMLY, H., 1954. In: ŠINDELÁŘOVÁ, J.: Dusičnany a dusitaný ve výživě. Život. Prostředie, XX, 1986, s. 35-37.
- CVAK, Z. - BARTULÍKOVÁ, M. - ČERNÝ, I.: Stanovení obsahu dusičnanů a dusitanů v mléce a mlékárenských výrobcích z hlediska mezinárodní normalizace. Acta hyg. epidem. mikrobiol. (Praha), 1985, č. 2, s. 24-33.

- DUBRAVICKÝ, J. - IVANOVÁ, O.: Dusičnany a dusitaný pri solení mäsa. *Výživa a zdravie*, 31, 1986, s. 11-13.
- JACKOVÁ, A. - PLEVA, J. - BARANOVÁ, M. - SIKLENKA, P.: Reziduá dusičnanov a dusitanov v mlieku. In: Zbor. Ref. Hygiena alimentorum X., Štrbské Pleso, 1989, s. 136-138.
- JAVORSKÝ - KREČNER: Chemické rozborý v zemědělských laboratořích. 2. díl. Praha, 1987, s. 192-198.
- JIRÁSKOVÁ, M. - ŽILKOVÁ, M.: Stanovení dusičnanů v mléce a mléčných výrobcích v letech 1985 a 1986. *Veterinářství*, 39, 1989, s. 565.
- KRELOWKSA-KALAS, M.: Vplyv diferencovaného hnojenia na obsah dusitanov a dusičnanov v mlieku. *Náš chov*, 1989, č. 2, s. 69-70.
- KÜNHERT, M. - FUCHS, V.: Zur Wirkstoffbelastung der Einfluss auf das Nutztier und der Menschen. *Mh. Veter. - Med. (Jena)*, 38, 1983, s. 1-4.
- LUF, W. - BRANDL, E.: Die Aufnahme von Nitrat und Nitrit bei Konsum von Milch und Milchprodukten. *Ernähr./Nutr.*, 10, 1986, s. 683-688.
- PLEVA, J. - JACKOVÁ, A. - BARANOVÁ, M. - MALA, P. - SIKLENKA, P.: Vplyv dusičnanov a dusitanov na kvalitu mlieka. *Veterinářství*, 40, 1990, s. 519-520.
- PODHORSKÝ, M.: Kvalita mléka syrového ve vztahu k vyššímu příjmu dusičnanů a dusitanů dojnicemi. In: Sbor. Ref. Problematika prvovýroby mléka VIII, Praha, 1983.
- PODHORSKÝ, M.: Prokysávací schopnosti mléka ve vztahu ke zvýšenému obsahu dusičnanů a dusitanů ve výživě dojníc. Příloha časopisu *Náš chov*, 1984, č. 2, s. 3-4.
- POLANSKÝ, J. - KALÁČ, P. - ČERMÁK, B. - FLÍŽEK, V.: Obsah dusičnanů v mléce při zkrmování nekvalitních silážovaných krmiv. In: Sbor. Ref. XIII. celostátního semináře o jakosti potravin a potravinových surovin živočišného původu, Bmo, 1986, s. 10.
- PRUGAR, J. - PRUGAROVÁ, A.: Dusičnany v zelenine. Bratislava, *Príroda* 1985.
- RUPČÍKOVÁ, P. - KALÁČ, J.: Niektoré poznatky zo sledovania dusičnanov a dusitanov v požívatínach a v pitných vodách SSR. Zbor. Cudzorodé látky v požívatínach, 1989, s. 132-134.
- SKŘIVÁNEK, M.: Škodlivý účinek dusičnanů na zdraví skotu. *Náš chov*, 1987, č. 2, s. 81-83.
- SLANINA, L. a kol.: Klinická diagnostika vnitřních chorob hospodářských zvířat. Bratislava, *Príroda* 1985.
- ŠIDLOVSKAJA, V. P.: Soderžaniye nitratov a nitritov v moloche i suchich moločnykh produktach. *Moloč. Prom.*, 1986, č. 1, s. 29-31.
- VILNEROVÁ, D.: Sledování obsahu dusičnanů ve vybraných zemědělských produktech. *Českoslov. Hyg.*, 27, 1982, s. 543-546.
- WIRTH, F.: Pökeln aus heutiger Sicht. *Schweiz. Arch. Tierheilkde*, 127, 1985, s. 109-127.

Došlo 17. 5. 1993

BARANOVÁ, M. - MALA, P. - BURDOVÁ, O. (University of Veterinary Medicine, Košice):
The transfer of nitrates and nitrites into milk of dairy cows through digestive system.
Vet. Med. - Czech, 38, 1993 (10): 581-588.

Increased nitrate concentrations in milk are not only dangerous to human health as the milk is the material for production of baby and infant food, but they cause also many problems in technological milk processing. The study was aimed at the transfer of nitrates and nitrites into milk of dairy cows following nitrate loading. An experiment included

6 dairy cows of the Slovakian Spotted breed at the Experimental Veterinary Centre at Zemplínska Teplica. Prior to start of the experiment samples of feedstuffs and feed water, milk were taken and examined for the presence of nitrates and nitrites. KNO_3 in water solution was applied to selected dairy cows in two-week intervals in single peroral doses of 150; 75; 37.5; 18.75 and 9.5 g two hours before evening milking. Nitrate and nitrite residue contents were studied in individual milk samples obtained from manual milking 2, 14, 26, 38 and 50 hours after application of appropriate KNO_3 amount. Following the peroral application of KNO_3 to dairy cows, a marked increase in nitrate content in milk appeared in dependence on applied KNO_3 (Tab. I). Average value of residual nitrate in milk two hours after administration of 150 g of KNO_3 was 34.60 mg of NO_3^-/l . Increased levels of residual nitrate in milk were found also 38 hours after KNO_3 application. Nitrate content in milk after 50 hours was almost identical with that that was determined in milk of experimental cows from morning milking on the day of administration of 150 g of KNO_3 , considered as the control samples. The values of residual nitrate exceeded 0.05 mg neither in single sample of NaNO_2/l . The fermented activity by youghurt test, titrable acidity and active acidity of milk (Tabs. II and III) were determined in milk samples under study. Active acidity of milk was not affected by KNO_3 applied. Titrable acidity after administration of 150 and 75 g of KNO_3 , as required by the Czechoslovak Standard ČSN 57 0529 for fresh cow milk (6.2 - 8.0 °SH). Applied amounts of KNO_3 did not result in the drop of the value of youghurt test below 25 °SH.

nitrates; nitrites; milk; dairy cows; active acidity of milk; titrable acidity of milk; fermented activity of milk; youghurt test

Contact Address:

RNDr. Mária Baranová, Univerzita veterinárskeho lekárstva, Komenského 73,
041 81 Košice, Slovak Republic
Tel. 095 32111-15, fax 095 767675

PODIEL ANAERÓBOV NA OCHORENÍ *DERMATITIS DIGITALIS ET INTERDIGITALIS* U HOVÄDZIEHO DOBYTKA

I. Koniarová¹, A. Orsag², V. Ledecký²

¹Ústav experimentálnej veterinárnej medicíny, Košice

²Univerzita veterinárskeho lekárstva, Košice

Spolu bolo vyšetrených 52 vzoriek tkanív a sterov paznehtovej škáry postihnutých zvierat. Na základe mikrobiologického vyšetrenia bolo diagnostikovaných 11 kmeňov striktna anaeróbných baktérií. Jednalo sa o druhy *Peptococcus asacharolyticus*, *Pc. sacharolyticus*, *Peptostreptococcus anaerobius*, *Bacteroides asacharolyticus* a *B. melaninogenicus*. Ostatné izoláty boli zaradené do rodov *Bacteroides*, *Fusobacterium*, *Streptococcus* a *Clostridium*. U uvedených kmeňov sme sledovali ich biochemické, morfológické a enzymatické vlastnosti. Metódou kapilárnej izotachofórey sme hodnotili produkciu unikavých mastných kyselín pri fermentácii glukózy. Kvalitatívne bola posúdená aj antibiotikorezistencia izolátov. Získané výsledky ukázali, že etiológia uvedeného ochorenia úzko súvisí s výskytom anaeróbov, pričom najzávažnejší etiologický efekt majú zástupcovia rodov *Bacteroides* a *Fusobacterium*.

dermatitis digitalis; frekvencia výskytu; *Peptococcus* sp.; *Peptostreptococcus* sp.; *Bacteroides* sp.; *Fusobacterium* sp.; *Streptococcus* sp.; *Clostridium* sp.; unikavé mastné kyseliny; antibiotikorezistencia

Dermatitis digitalis et interdigitalis predstavuje závažné ochorenie hovädzieho dobytká z hľadiska následných ekonomických strát. U postihnutých zvierat je sprievodným javom nechutenstvo, čo sa u mäsových plemien, ktoré uvedeným ochorením trpia najčastejšie, prejavuje na znížených prírastkoch. U hovädzieho dobytká mliečneho typu ide predovšetkým o zníženie mliečnej produkcie. V chovateľsky vyspelých európskych krajinách toto ochorenie postihuje až 60 % chovov (Whitaker a i., 1983). V prípade recidív digitálnych lézií môže dôjsť k úhynu zvierat.

Otázky etiológie tohto ochorenia neboli doteraz uspokojivo doriešené. Brunner a i. (1988) udáva, že ochorenie je spojené s výskytom anaeróbných pôvodcov. Našou snahou bolo zaplniť „biele miesta“ v etiológii tejto chorobnej jednotky, potvrdiť a rozšíriť údaje o podiele anaeróbov na *dermatitis digitalis et interdigitalis* u hovädzieho dobytká

Za týmto účelom bolo v roku 1991 a 1992 na piatich farmách štyroch okresov (Košice-vidiek, Veľký Krtíš, Nitra, Trebišov) klinicky na pohybové ústrojenstvo vyšetrených celkom 2030 dojníc.

MATERIÁL A METÓDA

MATERIÁL PRE MIKROBIOLOGICKÉ VYŠETRENIE

Ako materiál pre mikrobiologické vyšetrenie boli použité excízie a stery z postihnutého tkaniva paznehtovej škáry dojnice. Vek dojnice bol od 3 do 5 rokov. Jednalo sa o plemeno slovenské strakaté, plemeno čiernostrakaté nížinné a krížanky rôzneho druhu. Dojnice boli ustajnené priväzovacím spôsobom v dobrých zoonygienických podmienkach.

SPRACOVANIE VZORIEK

Odobrané vzorky boli v anaeróbnom prostredí urýchlene prepravené do laboratória. Tu boli za anaeróbných podmienok vyriedené v dilučnom roztoku nasledovného zloženia: roztok minerálie I 7,5 %, roztok minerálie II 7,5 %, roztok rezazurínu 0,1 %, cysteín 0,05 %, hydrouhličitan sodný 0,4 % doplnené do 100 ml destilovanou vodou. Vyriedené vzorky boli vysievané na kultivačné médiá do fliaš podľa Blacka v ochrannej atmosfére kyslíčnika uhličitého.

POUŽITÉ KULTIVAČNÉ MÉDIÁ

Ako neselektívne médiá sme použili VL agar, VL bujón, PY médium s 1% prídavkom cukrov pre stanovenie fermentačných vlastností a PY bujón pre izotachoforetické stanovenie UMK.

Zo selektívnych médií sme pracovali s VL agarom s prídavkom vankomycínu 7,5 µg/ml pre izoláciu gram-negatívnych mikroorganizmov a s VL agarom s 0,25% prídavkom fenetylalkoholu pre selektívnu izoláciu gram-negatívnych a gram-pozitívnych baktérií.

SPÔSOBY KULTIVÁCIE

Pre zabezpečenie anaeróbných podmienok sme použili kultiváciu vo fľašiach podľa Blacka, ktoré sú naplnené atmosférou oxidu uhličitého zbaveného stôp kyslíka a anaeróbne uzavreté gumennou zátkou. Je to modifikovaná roll-tube metóda podľa H u n g a t a (1969). Tekuté médiá boli preredukované oxidom uhličitým a anaeróbne uzavreté do fliaš alebo skúmaviek s atmosférou oxidu uhličitého. Vzorky boli zvyčajne kultivované pri teplote 38 °C po dobu piatich dní.

IDENTIFIKÁCIA ISOLÁTOV

Identifikáciu izolátov sme uskutočňovali na základe nasledovných kritérií:

- vzhľad kolónií pri raste na pevnom médiu
- mikroskopické vyšetrenie po ofarbení preparátov podľa Grama
- určenie respiračného typu baktérie podľa rastu na VL alebo krvnom agare v prítomnosti vzduchu
- testovanie biochemických vlastností (fermentácia cukrov, enzymatické vlastnosti)
- izotachoforetické stanovenie produktov fermentácie glukózy

TESTOVANIE CITLIVOSTI NA ANTIBIOTIKÁ

Antibiotikorezistencia bola hodnotená u anaeróbných izolátov podľa rastu v rade tekutých živných médií s prídavkom antibiotík vo forme antibiotických diskov.

VÝSLEDKY

Výskyt ochorenia *dermatitis digitalis* sme zaznamenali na všetkých vyšetrovaných farmách s frekvenciou výskytu od 3,2 % (farma Cabaj) do 7,8 % (farma Hutník).

Z celkového počtu vyšetrených dojníc (2030) bolo krívajúcich dojníc 268 (13,8 %), z toho *dermatitis digitalis* bola u 107 kusov (5,5 %).

Z 52 vyšetrených vzoriek tkanív a sterov paznechtovej škráry postihnutých zvierat bolo izolovaných 33 kmeňov aeróbných z ktorých 11 bolo *Escherichia coli* a 11 kmeňov anaeróbných. Naše sledovania boli zamerané na hodnotenie podielu anaeróbov na tomto ochorení, preto sme sa v ďalšej práci venovali len anaeróbnym izolátom. Po všestrannom preskúmaní biochemických, morfológických a enzymatických vlastností (tab. I) sme diagnostikovali päť druhov: *Peptococcus asacharolyticus*, *Pc. sacharolyticus*, *Peptostreptococcus anaerobius*, *Bacteroides asacharolyticus* a *B. melaninogenicus*. Ostatné kmene boli zaradené do rodov *Bacteroides*, *Fusobacterium*, *Streptococcus* a *Clostridium*.

U izolovaných anaeróbov bola testovaná aj citlivosť na pôsobenie antibiotík (oxymykoin, erytromycín, streptomycín, penicilín, tetracyklín, ampicilín a chloramfenikol) - tab. II.

Produkcia unikavých masných kyselín z glukózy je uvedená v tab. III.

V jednotlivých vzorkách sa uvedené kmene vyskytovali ako asociácia mikroorganizmov. Anaeróbne rody *Bacteroides* a *Fusobacterium* sa vyskytovali v 52 % vyšetovaných vzoriek (*Bacteroides* sp. 25 %, *Fusobacterium* sp. 12 % a spoločne 15 %). Ostatné anaeróby sa vyskytovali ako zmiešaná sprievodná mikroflóra.

Snaha o presné kvantitatívne vyhodnotenie mikrobiologického vyšetrenia bola úspešná len v štyroch prípadoch. Výsledky potvrdili najhojnejší výskyt rodu *Bacteroides* - v počtoch $2 \cdot 10^3$ až $7 \cdot 10^5$ v 1 g homogenizovaného nekrotického tkaniva.

Kontrolné vyšetrenia klinicky zdravých zvierat boli negatívne.

DISKUSIA

Ochorenie *dermatitis digitalis et interdigitalis* je jedným z ochorení pohybového aparátu hovädzieho dobytku, ktorého etiológia nie je úplne jasná, aj keď bola preukázaná jeho súvislosť s výskytom anaeróbov. Brunner a i. (1989) popísali pri tejto chorobe jednotku výskytu anaeróbných rodov *Bacteroides*, *Peptostreptococcus*, *Peptococcus*, *Fusobacterium* a *Clostridium*. Naše výsledky sú v súlade s týmito údajmi, avšak zachytili sme aj rod *Streptococcus*. Čo sa týka rozdielov v druhovom zastúpení uvedenými autormi nebol izolovaný druh zastúpení uvedenými autormi nebol izolovaný *Pc. asacharolyticus*, ktorý bol vykultivovaný z našich vzoriek.

I. Biochemické vlastnosti anaeróbných kmeňov izolovaných z *dermatitis digitalis et interdigitalis* u hovädzieho dobytku – Biochemical properties of anaerobic strains isolated from *dermatitis digitalis et interdigitalis* in cattle

¹ Kmeň	² Glukóza	³ Laktóza	⁴ Maltóza	⁵ Mantóza	⁶ Rafinóza	⁷ Riboza	⁸ Škrob	⁹ Sacharóza	¹⁰ Xylóza	¹¹ Indol	¹² NO ₃	¹³ Želatína	¹⁴ Kataláza	¹⁵ Mlieko	¹⁶ Hemolýza	¹⁶ Pohyb
1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-
2	a	-	-	-	-	-	-	-	a	-	-	+	+	-	-	-
3	a	-	-	-	-	-	-	-	a	-	-	-	-	-	-	-
4	a	-	-	-	-	a	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+
6	-	-	-	a	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	+
7	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	c	-	-
8	a	a	a	a	a	a	a	a	-	-	-	+	-	c	-	-
9	-	-	a	-	-	a	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-
10	-	-	-	-	a	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-
11	a	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	c	+	+

- = cukor nefermentuje – no sugar fermentation

+ = cukor fermentuje – sugar fermentation

a = cukor fermentuje – sugar fermentation

c = koagulace – coagulation

¹strain, ²glucose, ³lactose, ⁴maltose, ⁵mannose, ⁶rafinase, ⁷ribose, ⁸starch, ⁹sucrose, ¹⁰xylose,

¹¹indole, ¹²gelatin, ¹³catalase, ¹⁴milk, ¹⁵haemolysis, ¹⁶motion

Vysvetlivky pre Tab. I - III – Explanatory notes to Tabs. I - III:

1 - *Peptococcus asacharolyticus*

7 - *Bacteroides asacharolyticus*

2 - *Peptostreptococcus anaerobius*

8 - *Bacteroides melaninogenicus*

3 - *Peptococcus sacharolyticus*

9 - *Bacteroides* sp.

4 - *Streptococcus* sp.

10 - *Bacteroides* sp.

5 - *Fusobacterium* sp.

11 - *Clostridium* sp.

6 - *Fusobacterium* sp.

Doteraz publikované kvalitatívne údaje sme doplnili o sledovania asociácie mikroorganizmov ako celku so zreteľom na frekvenciu a čiastočne aj kvantitu vyskytovaných rodov. Naše výsledky ukazujú, že etiológia *dermatitis digitalis et interdigitalis* je úzko spätá s výskytom anaeróbov. Podľa frekvencie výskytu jednotlivých rodov usudzujeme, že najväčší vplyv na výskyt tohto ochorenia majú zástupcovia rodov *Bacteroides* a *Fusobacterium*, ktorých výskyt bol zaznamenaný v nadpolo-

II. Citlivosť na antibiotiká anaeróbných kmeňov z *dermatitis digitalis et interdigitalis* – Sensitivity to antibiotics of anaerobic strains from *dermatitis digitalis et interdigitalis*

Kmeň ¹	OX	ER	STM	PNC	TTC	AMP	CH
1	-	+	-	-	+	-	+
2	-	+	-	-	+	+	+
3	+	+	+	-	+	-	+
4	+	+	-	-	+	+	+
5	-	+	+	-	+	+	+
7	+	+	+	-	+	+	-
8	-	+	-	-	+	+	+
9	+	+	-	-	+	-	+
10	+	+	-	-	+	+	+
11	+	+	-	-	+	+	+

- = kmene rezistentné – resistant strains

+ = kmene citlivé – sensitive strains

OX = oxymykoin – oxymykoin

ER = erytromycín – erythromycin

STM = streptomycín – streptomycin

PNC = penicilín – penicillin

TTC = tetracyklín – tetracycline

AMP = ampicilín – ampicillin

CH = chloramfenikol – chloramphenicol

¹ strain

vičnej väčšine vzoriek. Posúdenie etiologického významu ostatných mikroorganizmov je skresľované ich nepravidelným výskytom, skôr vo forme sprievodnej mikroflóry v asociácii s bakteroidmi a fusobaktériami.

Keďže kvantitatívne vyšetrenie bolo vykonané len u rodu *Bacteroides* a na nereprezentatívnom počte vzoriek, môžeme získané údaje považovať za orientačné, ale nie je možné ich generalizovať. Všetky kvantitatívne i kvalitatívne výsledky sú objektívne, pretože u zvierat, od ktorých boli vzorky odoberané neboli vykonávané žiadne preventívne ani terapeutické zásahy, teda ovplyvnenie mikrobiologického obrazu vplyvom antibiotík alebo chemoterapeutík môžeme vylúčiť.

Izolovaný *Bacteroides melaninogenicus* je považovaný za mikroorganizmus, ktorý sa vyskytuje zvyčajne v asociácii s inými baktériami a preto jeho hodnotenie ako etiologického agens je veľmi komplikované (B i b e r s t e i n a i., 1968).

Experimentálnym dôkazom významu anaeróbov v etiológii ochorení pohybového aparátu dobytky sú výsledky uverejnené autormi C l a r k a i. (1985), ktorí

III. Produkcia UMK pri fermentácii glukózy u izolovaných anaeróbov z *dermatitis digitalis et interdigitalis* u hovädzieho dobytku – Volatile fatty acids production in fermentation of glucose in isolated anaerobes from *dermatitis digitalis et interdigitalis*

Kmeň ¹	Produkcia UMK ² (mol%)					
	A	B	F	L	P	S
1	60	38	2	-	-	-
2	80	2	-	8	5	5
3	34	-	66	-	-	-
4	12	-	5	79	-	4
5	20	72	-	-	8	-
6	15	66	2	4	12	1
7	52	32	9	4	-	3
8	56	41	-	-	3	-
9	40	-	-	-	26	30
10	37	-	13	25	-	25
11	40	41	7	-	12	-

A = kyselina octová – acetic acid

B = kyselina maslová – butyric acid

F = kyselina mravčia – formic acid

L = kyselina mliečna – lactic acid

P = kyselina propionová – propionic acid

S = kyselina jantarová – succinic acid

¹strain, ²volatile fatty acids production

injikovali hovädziemu dobytku do digitálnej artérie *Fusobacterium necrophorum* a *Bacteroides melaninogenicus* a potvrdili hypotézu, že tieto dva mikroorganizmy môžu synergicky spôsobiť interdigitálnu nekrobacilózu.

Na základe našich výsledkov a praktických skúseností sa domnievame, že uplatnenie anaeróbov a vyvolanie patologických zmien je podmienené predispozičnými faktormi zahrňujúcimi hostiteľa a faktory prostredia vrátane činnosti aeróbných mikroorganizmov. Dokázaná prítomnosť bohatej zmesnej aeróbnej a anaeróbnej mikrofóry nasvedčuje tomu, že tieto skupiny môžu spolupôsobiť v bakteriálnych synergických interakciách. Podobné interakcie boli dokázané medzi *Escherichia coli* a *Bacteroides fragilis* (F i n e g o l d , 1974). Obdobný symbiotický vzťah popísali aj S u t t e r a i . (1980) medzi *Bacteroides melaninogenicus* a baktériami produkujúcimi vitamín K. Experimentálna práca si vyžiada u bežne izolovaných anaeróbov určiť ich vzťah k aeróbnym baktériám, predovšetkým k *Escherichia coli*, ktorá zrejme v prvých štádiách ochorenia zohráva kľúčovú úlohu. Jednou

z možností symbiózy môže byť prvotné osídľovanie tkaniva aeróbami a vytvorenie anaeróbných podmienok ideálnych pre kolonizovanie anaeróbami.

Mechanizmus, ktorým anaeróbne patogény spôsobujú ochorenia nebol doteraz dostatočne objasnený. I n g h a m a i. (1977) popísali inhibíciu fagocytózy striktnými anaeróbmi. A d a m u a S p e r r y (1981) sledovali účinky *Bacteroides* sp. na chemotaxiu neutrofilov. R o b e r t s (1977) považuje za významný jav poskytovania rastových faktorov anaeróbami pre virulentnejšie baktérie.

Všeobecná úroveň antibiotikorezistencie u izolovaných kmeňov bola podobná ako u iných klinických izolátov zvierat. Vysoká rezistencia *Bacteroides* sp. voči penicilínu súvisí s produkciou penicilínázy týmto rodom (P i n k u s a i., 1968).

Kvalitatívne a kvantitatívne zhodnotenie anaeróbov je metodicky vysoko náročné. Izotachoforetické vyšetrenie produkcie unikavých mastných kyselín značne urýchlilo diagnostiku kmeňov a zvýšilo úroveň jej hodnovernosti.

Významnou úlohou do budúcnosti v tejto oblasti bude zhodnotiť získané anaeróby z hľadiska ich patogenetických vlastností, vzájomných vzťahov a koexistencie s aeróbami a získané poznatky využiť pri vývoji vhodných foriem prevencie.

Literatúra

ADAMU, S. A. - SPERRY, J.E.: Polymorphonuclear neutrophil chemotaxis induced and inhibited by *Bacteroides* spp. Infect. and Immun., 33, 1981, s. 806-810.

BIBERSTEIN, E. L. - KNIGHT, H. D. - ENGLAND, K.: *Bacteroides melaninogenicus* in diseases of domestic animals. J. Amer. Veter. med. Assoc., 153, 1968, s. 1045-1049.

BRUNNER, F. - ZECCONI, A. - MORTELLARO, C. M. - MARCA, G. - RUFFO, G.: Isolamento e identificazione di germi anaerobi da lesioni digitali dei bovini da latte. Arch. veter. Ital., 40, 1989, s. 185-189.

CLARK, B. L. - STEWART, D. J. - EMERY, D. L.: The role of *Fusobacterium necrophorum* and *Bacteroides melaninogenicus* in the aetiology of interdigital necrobacillosis in cattle. Austral. veter. J., 62, 1985, s.47-49.

FINEGOLD, S. M.: Intraabdominal and perineal infections. In: PHILLIPS, I. - SUSSAN, M. (eds): Infection with nonsporing anaerobic bacteria. London Churchill, Livingstone 1974.

HUNGATE, R. E.: A roll tube method for cultivation of strict anaerobes. In: NORCIS, J. R. - RIBBONS, D. W. (eds): Methods in microbiology. London, New York, Academic Press 1969.

INGHAM, H. R. - SISSON, P. R. - THARAGONNET, D. - SELKON, J. B. - CODD, A. A.: Inhibition of phagocytosis *in vitro* by obligate anaerobes. Lancet, 1977, s. 1252-1254.

PINKUS, G. - VETO, G. - BRAUDE, A. I.: *Bacteroides* penicillinase. J. Bact., 96, 1968, s. 1437-1438.

ROBERTS, D. S.: The pathogenic synergy of *Fusiformis necrophorus* and *Corynebacterium pyogenes* II. The response of *Fusiformis necrophorus* to a filtrable product of *Corynebacterium pyogenes*. Brit. J. exp. Path., 48, 1967, s. 674-679.

SUTTER, V. L. - CITRON, D. M. - FINEGOLD, S. M.: Wadsworth anaerobic bacteriology manual. 3rd ed., St. Luis, CV Mosby Company 1980.

WHITAKER, D. A. - KELLY, J. M. - SMITH, E. J.: Incidence of lameness in dairy cows. Veter. Rec., 113, 1983, s. 60.

Došlo 26. 4. 1993

The role of anaerobes in the occurrence of *dermatitis digitalis et interdigitalis* in cattle.
Vet. Med. - Czech, 38, 1993 (10): 589-596.

Altogether 52 tissue samples and swabs from the corium of the claw of diseased cattle were investigated. Microbiological examinations revealed the presence of 11 strictly anaerobic bacterial strains that belonged to the species *Peptococcus asacharolyticus*, *Pc. sacharolyticus*, *Peptostreptococcus anaerobius*, *Bacteriodes asacharolyticus* and *B. melaninogenicus*. The remaining isolates were classified as *Bacteroides*, *Fusobacterium*, *Streptococcus* and *Clostridium*.

In the above-mentioned strains observations of their biochemical, morphological and enzymatic properties (Tab. I) were carried out. Their resistance to antibiotics was evaluated from the qualitative viewpoint (Tab. II). Capillary isotachopheresis was used to determine the amounts of volatile fatty acids that developed during glucose fermentation (Tab. III).

In the single clinical samples the above-mentioned strains occurred as association of microorganism. The anaerobic genera *Bacteroides* and *Fusobacterium* were found in 52 % of the samples (*Bacteriodes* sp. and *Fusobacterium* sp. were recorded in 25 % and 12 % of the samples, respectively, whereas in 15 % of the samples both species occurred).

According to our results the etiology of *dermatitis digitalis et interdigitalis* is closely connected with the incidence of anaerobes. Of the latter, those belonging to the genera *Bacteroides* and *Fusobacterium* are of major importance.

dermatitis digitalis; frequency of incidence; *Peptococcus* sp.; *Peptostreptococcus* sp.; *Bacteriodes* sp.; *Fusobacterium* sp.; *Streptococcus* sp.; *Chostridium* sp.; volatile fatty acids; resistance to antibiotics

Contact Address:

MVDr. Iveta Koniarová, CSc., Ústav experimentálnej veterinárnej medicíny, Hlinkova 1/A, 040 01 Košice, Slovak Republic
Tel. 095 32011, fax 095 31853

SUPLEMENTÁCIA ZINKU, SELÉNU A MEDI CESTOU ČEPCO-BACHOROVÝCH PELIET A JEJ VPLYV NA ÚROVEŇ CELULÁRNEJ A HUMORÁLNEJ ODPOVEDE U OVIEC

J. Bیرهš¹, A. Michna¹, P. Bartko¹, J. Pistl¹, Z. Juhásová²

¹Univerzita veterinárskeho lekárstva, Košice

²Ústav experimentálnej veterinárnej medicíny, Košice

Experimentálne sme overili na 12 bahniciach plemena merino účinnosť suplementácie Zn, Se a Cu cestou čepco-bachorových peliet a jej vplyv na úroveň celulárnej a humorálnej odpovede. Najvyšší nárast zinkémie (80 %) sme v porovnaní s východiskovými hodnotami zaznamenali u bahníc so zinkovými bolusmi už v 1. mesiaci po podaní. Signifikantný rozdiel v hladinách Zn v krvnom sére sme medzi skupinou ošetrovanou zinkovými peletami a kontrolnými zvieratmi pozorovali v 1. mesiaci po podaní ($P < 0,01$). Štatisticky významný rozdiel v obsahu Se v krvnom sére medzi skupinou oviec so selénovými bolusmi a kontrolnými bahnicami pretrvával na hladine významnosti $P < 0,05$ v 1. a 2. mesiaci experimentu. Intraruminálna aplikácia bolusov obsahujúcich Cu signifikantne zvýšila kuprémiu ošetrovaných bahníc oproti kontrolným v 4. a 7. mesiaci experimentu ($P < 0,05$). Najvyššiu albuminémiu mali v priebehu sledovania ovce po suplementácii Zn. Tendencia vyššej imunoglobulinémie v 4., 6. a 7. mesiaci experimentu bola u zvierat, ktorým sme aplikovali bolusy so Se a Cu. Percento fagocytytujúcich buniek (FB), index fagocytárnej aktivity (IFA) a migračný index polyklonálnej aktivácie lymfocytov sa suplementáciou Zn, Se alebo Cu oproti kontrolným zvieratám signifikantne nezmenil. Nárast indexu metabolického vzplanutia bol preukazný oproti kontrolným zvieratám u oviec po podaní bolusov s obsahom Zn ($P < 0,05$). Dosiahnuté výsledky potvrdzujú efektívnosť testovaných čepco-bachorových bolusov pre dlhodobú suplementáciu Zn, Se a Cu s pozitívnym ovplyvnením imunitnej odpovede oviec.

ovce; suplementácia; zinok; selén; meď; čepco-bachorové pelety; imunita

Karencie Zn, Se a Cu sú u prežúvavcov v našich chovateľských podmienkach najrozšírenejšími. Nedostatok Zn postihuje v subklinickej forme 30 - 40 % všetkých kategórií hovädzieho dobytku a oviec (Bیرهš a i., 1990; Bیرهš, 1991). Deficiencia Zn je spojená s nedostatočným využitím krmiva, nízkymi produkčnými ukazovateľmi a narušenou obranyschopnosťou (Murray a i., 1983; Fitzgerald a i., 1986; Illek, 1987; Sankoh a Boila, 1987). Najcharakteristickejšia je parakeratóza, ktorej podstatou je postupná intracelulárna edematizácia a vytrácanie sa bunkových zoskupení v *stratum spinosum*, redukcia buniek a nedostatočné formovanie keratohyalínu v *stratum granulosum*, retencia jadier a nadmerná tvorba zrohovateľného viacvrstvého keratínu v *stratum corneum*

(Mullowney a Baldwin, 1984; Giunta ai., 1988). Pri Zn dominujú sekundárne deficiencie, kde príčinou nízkej využiteľnosti Zn z tráviaceho traktu je narušený zdravotný stav zvierat, prítomnosť antagonisticky pôsobiacich látok v krmive ako i forma Zn obsiahnutá v krmive (Mahmoud ai., 1983; Wapnir ai., 1983; Laman 1984).

Nedostatkom Se najčastejšie trpia jahňatá, teľatá a kozľatá, u ktorých sa manifestuje ako nutričná svalová dystrofia (Eicken ai., 1992; Allen ai., 1992; Kennedy a Rice 1992). Neadekvátny príjem Se u ostatných vekových kategórií prežúvavcov vyvoláva poruchy reprodukčného cyklu, narušenie celkového metabolizmu a zlyhanie predovšetkým bunkou sprostredkovanej imunity (Ullrey 1992; Cao ai., 1992). Popri primárnom nedostatku Se vystupujú v niektorých oblastiach dôsledkom nárastu koncentrácie Hg, As, Cd a S v potravinovom reťazci jeho sekundárne karence (Chowdhury a Chandra, 1987; Břeš ai., 1991a, b, c).

Deficiencia Cu je spojená s narušením mitochondriálnych systémov cytochrom c oxidázy a superoxid dismutázy, ktoré majú bezprostredný vzťah k tvorbe kolagenu a udržiavaniu svalovej a cievnej integrity (Bode ai., 1992; Nelson ai., 1992). Zvieratá s nedostatočným príjmom Cu dosahujú nižšie produkčné a reprodukčné ukazovatele a majú porušenie krvotvorby a obranné reakcie (Babu a Failla, 1990; Lynch a Klevey, 1992). V našich chovateľských podmienkach karencia Cu častejšie postihuje hovädzí dobytok ako malé prežúvavce.

Z uvedeného vyplýva potreba suplementácie Zn, Cu a Se u prežúvavcov. Dosiaľ sa využíva niekoľko foriem suplementácie týchto mikroprvkov, pričom sa vyžaduje podávať ich v ľahko prijateľnej forme a vhodným spôsobom aplikácie tak, aby sa zabezpečil kontinuálny prísun účinnej látky v optimálnom množstve (Břeš ai., 1991a, b, c; Allen a Mallison, 1983). Použitie vhodnej aplikácie stopových prvkov závisí od formy karencie, rýchlosti obnovenia zásobenia organizmu daným mikroelementom, veku a produkčnom využití zvierat a v neposlednej miere aj na zdravotnom stave a plemennej príslušnosti (Břeš, 1991; Laman ai., 1993).

Cieľom sledovania bolo overiť účinnosť čepco-bachorových peliet s obsahom Zn, Se a Cu a ich vplyv na vybrané ukazovatele imunitného profilu.

MATERIÁL A METÓDY

V experimente bolo zaradených 12 bahníc plemena merino vo veku dvoch rokov. Trom bahniciam boli na konci novembra intraruminálne aplikované pelety s obsahom Zn, ďalším trom pelety s obsahom Se a trom bahniciam pelety s obsahom Cu. Tri bahnice slúžili ako kontrolné.

Testované bolusy mali tvar valca s dĺžkou 70 mm a šírkou 20 mm. Hmotnosť zinok obsahujúcich bolusov sa pohybovala od 10,1934 do 10,752 g. Množstvo elementárneho Zn v samotnom boluse bolo 3 g. Pelety s obsahom Se mali hmotnosť od 6,7026 do 6,8861 g s množstvom Se 0,523 g v zlúčenine seleničitanu sodného. Množstvo Cu v peletách vo forme práškovej medi bolo 1,5 g a celková hmotnosť

peliet s Cu bola 7,7380 až 8,4040 g. U všetkých troch nami vyrobených druhov peliet bolo nosnou látkou fosfátové sklo.

Krv sme odobrali z v. *jugularis* od všetkých sledovaných oviec pred podaním bolusov, potom 1., 2., 3., 4., 6. a 7. mesiac po aplikácii. V krvnom sére metódou atómovej absorpčnej spektrofotometrie za použitia plameňovej techniky sme na prístroji Perkin Elmer 1100 stanovili koncentráciu Zn, Se a Cu. Celkové imunoglobulíny (IgC) sme stanovili v krvnom sére turbidimetricky (McEwana i., 1970), albumín (ALB) fluorometricky na prístroji JASCO FP 550 a celkové bielkoviny (CB) Biola testom (Lachema Brno). Testovanie fagocytózy sme robili podľa Tomana a Pšikala (1985). Fagocytárnu aktivitu (FA) sme vyjadrili ako percento fagocytujúcich buniek (neutrofil, eozinofil a monocyt). Index fagocytárnej aktivity (IFA) sa rovná podiel partikul pohltenými bunkami z počtu potenciálnych fagocytov. Za fagocytujúcu bunku sme považovali bunku s minimálne tromi pohltenými partikulami. Migračno-inhibičný test (MIT) sme robili podľa Bendixena a i. (1976). Samotnú izoláciu leukocytov sme robili metódou podľa Karlsona a Kaneka (1973). Pre hodnotenie MIT sme použili kritéria podľa Wilsona a i. (1982). Stanovenie tetrazolium-reduktázovej aktivity fagocytov (INT-test) sme robili postupom podľa Lokaja a Obůrkovej (1975).

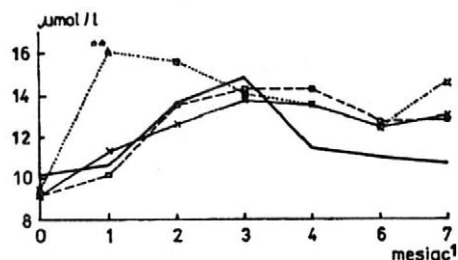
Výsledky analýz sú uvedené v grafoch. Porovnanie výsledkov analýz medzi jednotlivými skupinami zvierat sme robili Studentovým *t*-testom.

Krmná dávka u všetkých zvierat pozostávala z lúčneho sena (1,5 kg/kus/deň), krmnej repy (2 kg/kus/deň) a krmnej zmesi BAK (0,3 kg/kus/deň). K vode mali zvieratá voľný prístup.

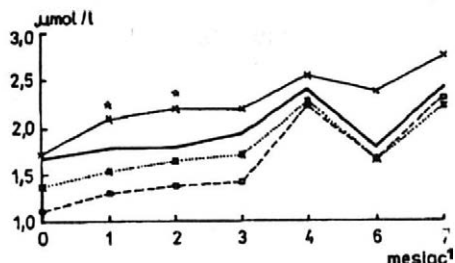
VÝSLEDKY

Dynamika Zn v krvnom sére sledovaných oviec je uvedená v obr. 1. Hladina Zn v krvnom sére oviec vo všetkých skupinách indikovala pred aplikáciou peliet hypozinkémiu (rozptyl hodnôt $9,17 \pm 0,62$ až $10,16 \pm 2,15$ $\mu\text{mol/l}$). Najvyšší nárast zinkémie (80 %) sme v porovnaní s východiskovými hodnotami zaznamenali u bahníc so zinkovými bolusmi už v 1. mesiaci po podaní. V ďalšom období sledovania koncentrácie Zn u tejto skupiny zvierat sa výrazne nemenila a kolísala v rámci referenčného rozpätia. Signifikančný rozdiel v hladinách Zn sme medzi skupinou ošetrovanou zinkovými peletami a kontrolnými zvieratmi pozorovali v 1. mesiaci po podaní ($P < 0,01$). Zinkémia u bahníc s peletami s obsahom Se a Cu bola počas experimentu na spodnej hranici fyziologických hodnôt.

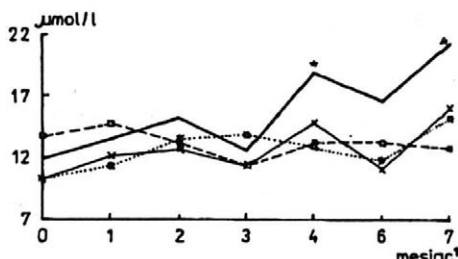
Koncentrácia Se v krvnom sére oviec bola na začiatku experimentu vyrovnaná (rozptyl hodnôt $1,11 \pm 0,40$ až $1,72 \pm 0,38$ $\mu\text{mol/l}$ - obr. 2). Zvýšenie hladín Se v krvnom sére sme u bahníc so selénovými bolusmi pozorovali v 1. mesiaci po aplikácii. V ďalšom období experimentu mala u tejto skupiny zvierat dynamika Se v krvnom sére vyrovnaný charakter. Najvyšší obsah Se v krvnom sére uvedenej skupiny oviec sme zistili na konci sledovania ($2,73 \pm 0,29$ $\mu\text{mol/l}$). Štatisticky významný rozdiel v obsahu Se sme medzi skupinou oviec so selénovými bolusmi



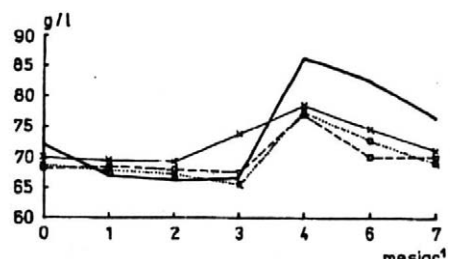
1. Koncentrácia Zn v krvnom sére oviec – Zn concentrations in the blood serum of ewes



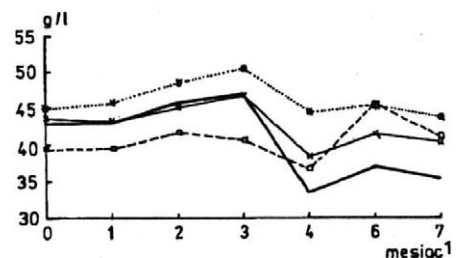
2. Koncentrácie Se v krvnom sére oviec – Se concentrations in the blood serum of ewes



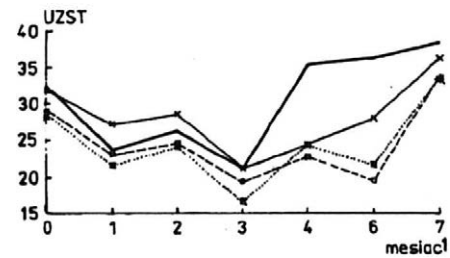
3. Koncentrácia Cu v krvnom sére oviec – Cu concentrations in the blood serum of ewes



4. Hladina CB v krvnom sére oviec – total proteins concentrations in the blood serum of ewes



5. Hladina albumínu v krvnom sére oviec – Albumin concentrations in the blood serum of ewes



6. Hladina CIg v krvnom sére oviec – CIg concentrations in the blood serum of ewes

Vysvetlivky pre obr. 1 až 10 – Explanatory notes to Figs. 1 to 10:

—x— skupina Se, — skupina Cu, —*— skupina Zn, □ kontrolná skupina — —x— Se group, — Cu group, —*— Zn group, □ control group
1 month

a kontrolnými bahnícami potvrdili na hladine významnosti $P < 0,05$ v 1. a 2. mesiaci experimentu.

Kupréria u všetkých sledovaných skupín sa pred podaním bolusov pohybovala v rámci referenčného rozpätia (rozptyl hodnôt $10,21 \pm 0,64$ až $13,63 \pm 0,95$ $\mu\text{mol/l}$ - obr. 3). Nárast hladín Cu v krvnom sére sme u oviec s Cu bolusmi zaznamenali v porovnaní s východiskovými hodnotami už v 1. mesiaci. Najvyššia koncentrácia Cu v krvnom sére bola u uvedenej skupiny v období 4. až 7. mesiaca experimentu ($16,53 \pm 2,71$ resp. $21,23 \pm 4,40$ $\mu\text{mol/l}$). Preukazné rozdiely v kuprérii sme medzi skupinou oviec s peletami s obsahom Cu a kontrolnými zvieratmi pozorovali v 4. a 7. mesiaci sledovania ($P < 0,05$). Dynamika Cu v krvnom sére bahníc s bolusmi obsahujúcimi Zn a Cu mala v priebehu sledovania vyrovnaný priebeh a nevybočila z fyziologických hraníc.

Rozptyl koncentrácie CB v krvnom sére oviec bol v rámci sledovaných skupín pred podaním bolusov $68,50 \pm 2,05$ až $71,95 \pm 3,75$ g/l (obr. 4). Najvyššie zvýšenie hladín CB v porovnaní s východiskovými hodnotami sme zistili u bahníc po aplikácii peliet s obsahom Cu v 4., 6. a 7. mesiaci. Štatistický rozdiel v množstve CB v krvnom sére sme medzi uvedenou skupinou a kontrolnými zvieratmi potvrdili v 7. mesiaci experimentu ($P < 0,05$). Dynamika CB u oviec, ktorým sme aplikovali bolusy so Zn alebo Se, sa v priebehu experimentu výrazne nemenila a ani sme nezaznamenali v porovnaní s kontrolnou skupinou štatisticky významné rozdiely.

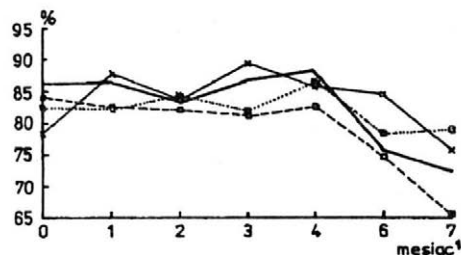
Dynamika albuminémie sa počas sledovania medzi experimentálnymi zvieratmi a kontrolnou skupinou signifikantne nelíšila (obr. 5). Najvyššie hladiny ALB v krvnom sére mali v priebehu pozorovania ovce s bolusmi obsahujúcimi Zn. U kontrolných bahníc bola koncentrácia ALB nižšia v porovnaní so všetkými pokusnými skupinami do 4. mesiaca experimentu.

Tendencia najvyššej imunoglobulinémie bola počas experimentu u oviec, ktorým sme aplikovali bolusy so Se a Cu (obr. 6). Preukazné rozdiely v hladinách sérových IgC sme medzi skupinou bahníc s peletami s obsahom Cu a kontrolou zistili v 4., 6. a 7. mesiaci ($P < 0,05$ resp. $P < 0,01$) a zvieratmi s bolusmi obsahujúcimi Se a kontrolnými v 6. mesiaci ($P < 0,05$).

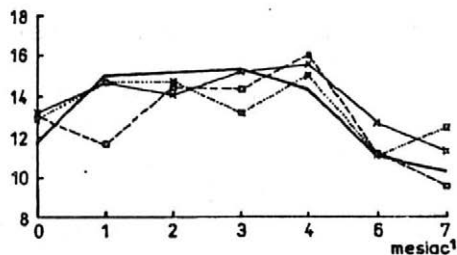
Percento fagocytujúcich buniek uvádzame v obr. 7. Nesignifikantne vyššie percento FB bolo v priebehu sledovania u pokusných oviec. Najvyššie rozdiely v percente FB sme medzi experimentálnymi skupinami a kontrolnou zaznamenali na konci sledovania.

IFA bol na začiatku experimentu vyrovnaný (rozptyl hodnôt $11,75 \pm 1,0$ až $13,17 \pm 1,3$ - obr. 8). Štatisticky nevýznamne vyšší IFA vykazovali všetky pokusné skupiny v porovnaní s kontrolnými zvieratmi v 1., 2., 6. a 7. mesiaci sledovania. Najnižší IFA sme zistili u všetkých sledovaných skupín na konci pozorovania.

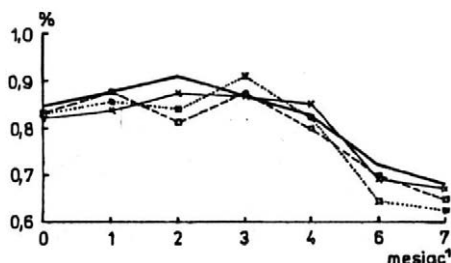
Pri polyklonálnej aktivácii lymfocytov oviec fytohemaglutinínom v MIT sme nezaznamenali signifikantný rozdiel migračného indexu v závislosti na aplikácii Se, Cu a Zn v porovnaní s kontrolnou skupinou (obr. 9). Najnižšie hodnoty migračného indexu sme u všetkých sledovaných skupín oviec zaznamenali v 6. a 7. mesiaci experimentu.



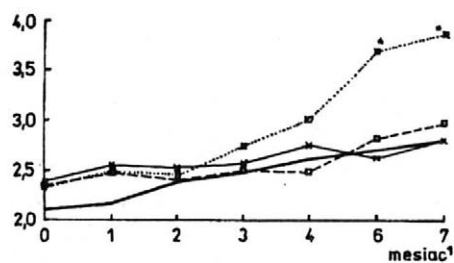
7. Percento fagocytujúcich buniek – The per cent of phagocytic cells



8. Index fagocytárnej aktivity – Phagocytic index



9. Migračno-inhibičný test – Migration-inhibition test



10. Index metabolického vzplanutia – Index of metabolic surge

Index metabolického vzplanutia v INT-teste dosahoval v priebehu experimentu najvyššie hladiny u oviec, ktorým sme aplikovali pelety s obsahom Zn (obr. 10). Najvyšší index metabolického vzplanutia sme u uvedenej skupiny pozorovali v 4., 6. a 7. mesiaci ($3,017 \pm 0,245$ až $3,877 \pm 0,361$). Preukazné rozdiely v indexe metabolického vzplanutia sme medzi skupinou oviec s peletami obsahujúcimi Zn a kontrolnými zvieratmi potvrdili v 6. a 7. mesiaci ($P < 0,05$). Index metabolického vzplanutia u bahníc s bolusmi so Se a Cu sa počas sledovania štatisticky významne nelíšil od kontrolnej skupiny.

DISKUSIA

Za účelom optimálneho zásobenia hospodárskych zvierat Zn, Se a Cu sa využívajú rôzne cesty suplementácie. Z nich najčastejšou v našich chovateľských podmienkach je obohatenie kŕmnej dávky uvedenými mikroelementami, príprava minerálnych lizov alebo parenterálna aplikácia (Sviatko, 1991; Bířeš, 1991). Použitie týchto metód suplementácie je ovplyvnené druhom, vekom a spôsobom chovu zvierat a pri injekčnej aplikácii aj potrebou rýchleho obnovenia karcencie daného prvku (Ammerman a Goodrich, 1983).

U prežúvavcov k deficiencii Zn, Se a Cu dochádza často počas pastevného obdobia, kedy zvieratá nemajú žiadne doplnkové krmivo s obsahom stopových prvkov (U l v u n d a P e s t a l o z z i, 1990). Pre toto obdobie je výhodná taká metóda, ktorá zabezpečí dlhodobý prívod chýbajúcich mikroelementov, nevyvolá systémové intoxikácie a vyžaduje minimálnu manipuláciu so zvieratmi a súčasne je ekonomicky výhodná (E l l i s a i., 1987; S h a l l o w a i., 1989). Z uvedeného pohľadu je najvýhodnejšia suplementácia esenciálnych mikroprvkov cestou čepco-bachorových peliet, ktoré v prostredí bachorového obsahu vplyvom mechanických a chemických podmienok dokážu kontinuálne uvoľňovať účinnú látku bez negatívneho pôsobenia na organizmus zvierat (A l l e n a i., 1978; H i d i r o g l o u a P r o u l x, 1988). Podávanie čepco-bachorových bolusov s obsahom Se, Cu a Zn chráni prežúvavce pred ich karenciou 6 - 12 mesiacov (A l l e n a i., 1982; M a c p h e r s o n a C h a l m e r s, 1984).

Účinok nami pripravených peliet s obsahom Zn sa prejavil na 80% zvýšení hladín Zn v krvnom sére pokusných oviec už v 1. mesiaci po podaní. Koncentráciu Zn v krvnom sére oviec sme vo fyziologickom rozpätí pozorovali sedem mesiacov po ich aplikácii, čo potvrdzuje efektívnosť testovaných bolusov. Pozitívny účinok na množstvo Se a Cu v krvnom sére pokusných oviec sme zistili v 1. mesiaci po podaní aj bolusov obsahujúcich Se a Cu. Pri použití uvedených čepco-bachorových peliet sme zaznamenali najvyššie hladiny Se a Cu v krvnom sére ošetrovaných bahníc v 7. mesiaci experimentu, čo dáva predpoklad dlhodobej ochrany oviec pred karenciami sledovaných prvkov. Ochrana použitých peliet spočíva aj v tom, že ani v jednom prípade zo suplementovaných prvkov sme v krvnom sére nezaznamenali počas experimentu prekročenie hornej fyziologickej hranice.

Pri sledovaní vzťahu suplementovaných stopových prvkov k vybraným parametrom imunitného profilu sme vychádzali z potreby Zn, Se a Cu pri obranných reakciách organizmu. Samotný Zn ovplyvňuje celulárnu imunitu tým, že zasahuje do syntézy lymfocytárnej DNA, pôsobí pri intra- a extratymickej diferenciácii T-lymfocytov a zvyšuje chemotaktickú, chemokinetickú aktivitu a fagocytózu makro- i mikrofágov (C a r l o m a g n o a M c M u r r a y, 1983; P r a s a d, 1985). Pri karencii Zn sa súčasne narušuje aj metabolizmus B-lymfocytov, čo je spojené s poklesom tvorby protilátok (B í r e š a i., 1991a, b, c). Zvýšenie metabolickej aktivity lymfocytov k mitogénom u oviec trpiacich nedostatkom Se a Cu po zvýšení ich obsahu v krmnej dávke pozorovali L a r s e n a i. (1988) a S h e r m a n (1992). Podľa autorov F i n c h a T u r n e r (1989) a X i n a i. (1991) optimálny prívod Se a Cu zvyšuje u prežúvavcov celulárnu a humorálnu imunitu, čím sa zvieratá stávajú odolnejšími voči ochoreniam.

Odozva sledovaných nešpecifických parametrov humorálnej a celulárnej imunity na suplementáciu Zn, Se a Cu cestou čepco-bachorových peliet bola u experimentálnych oviec počas sledovania rozdielna. Najvýraznejšie rozdiely v dynamike sérových CB v porovnaní s kontrolnou skupinou sme pozorovali od 4. mesiaca experimentu u oviec s bolusmi obsahujúcimi Cu. Najvyššiu albuminémiu mali v priebehu sledovania ovce po suplementácii Zn. Tendencia vyššej imunoglobulinémie v 4., 6. a 7. mesiaci experimentu bola u zvierat, ktorým sme aplikovali bolusy

so Se a Cu. Percento FB a IFA bol štatisticky nevýznamne vyšší v porovnaní s kontrolnými zvieratmi. Migračný index polyklonálnej aktivácie lymfocytov sa suplementáciou Zn, Se alebo Cu oproti kontrolným zvieratám signifikantne nezmenil. U oviec, ktorým sme aplikovali bolusy s obsahom Zn, sme pozorovali štatistické zvýšenie indexu metabolického vzplanutia ($P < 0,05$), čo svedčí o zvýšenej metabolickej aktivite fagocytov.

Dosiahnuté výsledky potvrdzujú efektívnosť testovaných čepco-bachorových hollusov pri suplementácii Zn, Cu a Se u oviec. Použitie uvedených peliet môže pozitívne ovplyvniť imunitu zvierat, čo je výhodné najmä u zvierat dlhodobe trpiacich nedostatkom mikroelementov.

Literatúra

- ALLEN, J. G. - MALLINSON, C. B.: Parenteral methods of supplementation with copper and selenium. *Veter. Rec.*, 114, 1984, s. 451-454.
- ALLEN, J. G. - STEELE, P. - MASTERS, H. G. - LAMBE, W. J.: A lupinosis-associated myopathy in sheep and the effectiveness of treatments to prevent it. *Austral. veter. J.*, 69, 1992, s. 75-81.
- ALLEN, W. M. - SANSON, B. F. - DRAKE, C. F. - DAVIES, D. C.: A new method for the prevention of trace element deficiencies. *Veter. Sci. Commun.*, 2, 1978, s. 73-75.
- ALLEN, W. M. - SANSON, B. F. - DRAKE, C. F. - MOORE, P. R.: Recent developments in the treatment of metabolic diseases. *Veterinary pharmacology and toxicology*. In: *Proc. 2nd European Association for Veterinary Pharmacology and Toxicology held at Toulouse, 1982*, s. 183-191.
- AMMERMAN, C. B. - GOODRICH, R. D.: Advances in mineral nutrition in ruminants. *J. anim. Sci.*, 57, 1983, s. 519-532.
- BABU, U. - FAILLA, M.: Copper status and function of neutrophils are reversibly depressed in marginally and severely copper-deficient rats. *J. Nutr.*, 120, 1990, s. 1700-1709.
- BENDIXEN, G. - BENDTZEN, K. - CLAUSEN, J. E. - KJAER, M. - SOBORG, M.: Inhibition of human leukocyte migration. In: *NATWIG, J. B. - PERLMANN, P. - WIGZELL, H. (eds): Lymphocytes isolation, fractionation and characterization. Scand. J. Immunol.*, 5, 1976, s. 246-267.
- BÍREŠ, J.: Depotný prípravok na báze zinku v prevencii a terapii jeho karence. [Habilitačná práca.] Košice 1991. 217 s. - Univerzita veterinárskeho lekárstva.
- BÍBEŠ, J. - BAJOVÁ, V. - VRZGULA, L. - STROJNÝ, L. - KOVÁŘOVÁ, E. - LEVKUTOVÁ, M. - SURMIKOVÁ, J. - ARENDARČÍK, T. - BEŇUŠKA, N.: Vplyv prípravku Zindep inj. na vybrané ukazovatele humorálnej imunity u gravidných dojníc. *Biopharm.*, 1, 1991a, s. 103-109.
- BÍREŠ, J. - KOVÁČ, G. - VRZGULA, L.: Interaction between selenium and copper in sheep in the course of experimentally produced copper intoxication. *Veter. hum. Toxicol.*, 33, 1991b, s. 489-491.
- BÍREŠ, J. - VRZGULA, L. - BEŇUŠKA, N. - KRÁL, L.: Resorpčné pokusy s prípravkom Zindep inj. a.u.v. (Biotika). *Biopharm.*, 1, 1991c, s. 95-101.
- BODE, A. M. - MILLER, L. A. - FABER, J. - SAARI, J. T.: Mitochondrial J. *Nutr. Biochem.*, 3, 1992, s. 668-672.
- CAO, Y. Z. - MADDOX, J. F. - MASTRO, A. M. - SCHOLZ, R. W. - HILDEBRANDT, G. - REDDY, C. CH.: Selenium deficiency alters the lipoxigenase pathway and mitogenic response in bovine lymphocytes. *J. Nutr.*, 122, 1992, s. 2121-2127.
- CARLOMAGNO, M. A. - McMURRAY, D. N.: Chronic zinc deficiency in rats: its influence on some parameters of humoral and cell-mediated immunity. *Nutr. Res.*, 3, 1983, s. 69-78.

- EICKEN, K. - SCHOLZ, H. - STOCKHFE - ZURWIEDEN, N.: Mangelhafte Selen- und Vitamin E-Versorgung als Ursache für bestandsweise auftretende Peritarsitiden beim Rind. *Tierärztl. Umsch.*, 47, 1992, s. 843-847.
- ELLIS, N. J. S. - SHALLOW, M. - JUDSON, G. H.: Weight gains of lambs treated a soluble glass bullet containing cobalt, selenium and copper. *Austral. veter. J.*, 64, 1987, s. 93-94.
- FINCH, J. M. - TURNER, R. J.: Enhancement of ovine lymphocyte responses: a comparison of selenium and vitamin E supplementation. *Veter. Immunol. Immunopath.*, 23, 1989, s. 245-256.
- FITZGERALD, J. A. - EVERETT, G. A. - APGAR, J.: Effect of low zinc intake during pregnancy on plasma prolactin, progesterone, prostaglandin, cortisol and protein concentrations of ewes during the periparturient period. *Can. J. anim. Sci.*, 66, 1986, s. 643-651.
- GIUNTA, J. L. - HUTCHINSON, M. - WALLWOR, J. C.: Parakeratosis of the labial mucosa in zinc-deficient rats. *J. Oral. Pathol.*, 17, 1988, s. 186-190.
- HIDIROGLOU, M. - PROULX, J.: Evaluation of a long-acting selenium and copper preparation for intraruminal administration to cattle. *Ann. Rech. vétér.*, 19, 1988, s. 187-191.
- CHOWDHURY, B. A. - CHANDRA, R. K.: Biological and health implications of toxic heavy metal and essential trace element interactions. *Progr. Ed. Nutr. Sci.*, 11, 1987, s. 55-113.
- ILLEK, J.: Výskyt, diagnostika, terapie a prevence karencí Co, Mn, Cu a Zn u skotu. [Doktorská dizertácia.] Brno 1987. 330 s. - Vysoká škola veterinární.
- KARLSON, P. H. - KANEKO, J. P.: Isolation of leukocytes from bovine peripheral blood. *Proc. Soc. exp. Biol. Med.*, 142, 1973, s. 853-856.
- KENNEDY, S. - RICE, D. A.: Histopathologic and ultrastructural myocardial alterations in calves deficient in vitamin E and selenium and fed polyunsaturated fatty acids. *Veter. Pathol.*, 29, 1992, s. 129-138.
- LAMAND, M. L.: Zinc deficiency in ruminants. *Ir. veter. J.*, 38, 1984, s. 40-47.
- LAMAND, M. - LAB, C. - MIGNON, M. - TRESSOL, J. C.: A zinc deficient diet for ruminants: diagnosis and treatment of deficiency. *Ann. Rech. vétér.*, 14, 1983, s. 211-215.
- LARSEN, H. J. - OBŮRKOVÁ, R.: Stanovení tetrazolium reduktázové aktivity leukocytů. *Imunol. Zprav.*, 6, 1975, s. 42-44.
- LYNCH, S. M. - KLEVAY, L. M.: Effects of a dietary copper deficiency on plasma coagulation factor activities in male and female mice. *J. Nutr. Biochem.*, 3, 1992, s. 387-391.
- MACPHERSON, A. - CHALMERS, J. S.: Methods of selenium supplementation of ruminants. *Veter. Rec.*, 115, 1984, s. 544-546.
- MAHMOUD, O. M. - SAMANI, E. F. - BEKHET, A. O. - HASSAN, M. A.: Zinc deficiency in Sudanese sheep. *J. comp. Pathol.*, 93, 1983, s. 591-595.
- McEWAN, A. D. - FISHER, E. W. - SELMAN, J. E.: Observations on the immune globulin levels of neonatal and their relationship to disease. *J. Comp. Pathol.*, 80, 1970, s. 259-265.
- MULLOWHEY, P. C. - BALDWIN, E. W.: Skin diseases of goats. *Veterinary Clinics of North America: Large Animal Practice*, 6, 1984, s. 143-154.
- MURRAY, M. J. - WILSON, F. D. - FISHER, G. L. - ERICKSON, K. L.: Modulation of murine lymphocyte and macrophage proliferation by parenteral zinc. *Clin. exp. Immunol.*, 53, 1983, s. 744-749.
- NELSON, S. K. - HUANG, CH. J. - MATHIAS, M. M. - ALLEN, K. G. D.: Copper-marginal and copper-deficient diets decrease aortic prostacyclin production and copper-dependent superoxide dismutase activity and increase aortic lipid peroxidation in rats. *J. Nutr.*, 122, 1992, s. 2101-2108.
- PRASAD, A. S.: Clinical manifestation of zinc deficiency. *Ann. Rev. Nutr.*, 5, 1985, s. 341-363.
- SANKOH, F. A. - BOILA, R. J.: Injectable copper and zinc for grazing yearling steers. *Can. J. anim. Sci.*, 67, 1987, s. 1033-1041.

- SHALLOW, M. - ELLIS, M. J. S. - JUDSON, G. J.: Sex-related responses to vitamin B₁₂ and trace element supplementation in prime lambs. *Austral. veter. J.*, 66, 1989, s. 250-251.
- SHERMAN, A. R.: Zinc, copper and iron nutriture and immunity. *J. Nutr.*, 122, 1992, s. 604-609.
- SVIATKO, P.: Trace element nutrition in ruminants. In: KOPPEL, J. - BARAN, M. (eds): *Animal Physiology*. Institute of Animal Physiology Slovak Academy of Sciences Košice, 1991, s. 147-161.
- TOMAN, M. - PŠIKAL, I.: Test fagocytární aktivity krevních leukocytů telat. *Veter. Med. (Praha)*, 30, 1985, s. 393-400.
- ULREY, D. E.: Basis for regulation of Se supplements in animal diets. *J. anim. Sci.*, 70, 1992, s. 3922-3927.
- ULVUND, M. J. - PESTALLOZI, M.: Ovine white-liver disease (OWLD) in Norway: clinical symptoms and preventive measures. *Acta veter. scand.*, 31, 1990, s. 53-62.
- WAPNIR, R. A. - KHANI, E. D. - BAYNE, M. A. - LIFSHITZ, F.: Absorption of zinc by the rat ileum effects of histidine and other low-molecular-weight ligands. *J. Nutr.*, 113, 1983, s. 1346-1354.
- WILSON, G. B. - METCALF, J. F. - FUDENBERG, H. H.: Treatment of *Mycobacterium fortuitum* pulmonary infection with „Transfer factor“ TF: New methodology for evaluating TF potency and predicting clinical response. *Clin. Immunol. Immunopath.*, 23, 1982, s. 478-491.
- XIN, Z. - WATERMAN, D. F. - HEMKEN, R. W. - HARMON, R. J.: Effects of copper status on neutrophil function, superoxide dismutase and copper distribution in steers. *J. Dairy Sci.*, 74, 1991, s. 3078-3085.

Došlo 3. 6. 1993

BÍREŠ, J. - MICHNA, A. - BARTKO, P. - PISTL, J. - JUHÁSOVÁ, Z. (University of Veterinary Medicine, Košice; Research Institute of Experimental Veterinary Medicine, Košice): **Zinc, selenium and copper supplementation through reticulum-rumen pellets and its effect on the rate of cellular and humoral reactions in sheep.**
Vet. Med. - Czech, 38, 1993 (10): 597-607.

The objective of the study was to test the effectiveness of Zn, Se and Cu supplementation through reticulum-rumen pellets and its effects on the rate of cellular and humoral reactions in sheep. An experiment included 12 lambing ewes of the Merino breed at the age of two years. Zn-containing pellets were applied via rumen to three lambing ewes at the end of November, Se pellets were applied to other three lambing ewes Cu pellets to other three ewes. Three lambing ewes were control. Blood samples were taken from the *v. jugularis* from all the investigated ewes before bolus administration, in month 1, 2, 3, 4, 6 and 7 after application. Zn, Se and Cu concentrations in the blood serum were determined by atomic absorption spectrophotometry. Immune reactions were evaluated from the concentrations of serum immunoglobulins (IgC), albumin (ALB), total proteins (TP), from phagocytic activity (PA), phagocytic index (PI), migration-inhibitory test (MIT) and determination of tetrazolium-reductase activity of phagocytes (INT-test).

In comparison with the starting values, the highest increase in zincemia (80 %) was recorded in the lambing ewes administered zinc boluses as soon as in the 1st month after administration. A significant difference in Zn concentrations between the zinc-pellet group and the control animals was observed in the 1st month after administration ($P < 0.01$). An increase in Se concentrations in the blood serum was observed in the lambing ewes administered selenium boluses in the 1st month after administration.

Se content in the blood serum of the given group of ewes was highest at the end of observation ($2.72 \pm 0.29 \mu\text{mol/l}$). A statistically significant difference in Se content between the group of selenium-bolus ewes and the control ewes was confirmed at a significance level $P < 0.05$ in the 1st and 2nd month of the experiment. Cu concentrations in the blood serum in the Cu-bolus ewes increased in the 1st month if compared with the starting values. The highest Cu concentration in the blood serum was recorded in the given group within month 4 to 7 of the experiment (16.53 ± 2.72 , or $21.23 \pm 4.40 \mu\text{mol/l}$). There were significant differences in cupremia between the Cu-pellet group of ewes and the control animals ($P < 0.05$). In comparison with the starting values, the highest increase in TP concentrations were determined in the Cu-pellet ewes in the 4th, 6th and 7th months. Albuminemia dynamics in the experimental animals and in the control group did not vary significantly. A trend of the highest immunoglobulinemia during the experiment was apparent in the ewes administered Se and Cu boluses. Significant differences in the concentrations of serum IgC between the groups of Cu-pellet ewes and the control were recorded in the 4th, 6th and 7th months ($P < 0.05$, or $P < 0.01$) while between the Se-bolus animals and the control it was in the 6th month ($P < 0.05$). The experimental ewes had an insignificantly higher per cent of PA in the experiment. All the experimental groups had the statistically insignificantly higher PI in the 1st, 2nd, 6th and 7th months of observation in comparison with the control animals. After the polyclonal activation of ewe lymphocytes with phytohemagglutinin in MIT there was no significant difference in the migration index depending upon Se, Cu and Zn administration in comparison with the control group. The index of metabolic surge in the INT-test had the highest values in the experiment in the ewes administered Zn-containing pellets. Significant differences in the index of metabolic surge were confirmed between the Zn-pellet group of ewes and the control animals in the 6th and 7th months ($P < 0.05$).

The results of the experiments demonstrate the effectiveness of the tested reticulum-rumen boluses used in Zn, Cu and Se supplementation in ewes. The administration of these pellets can positively influence the animal immunity, which is advantageous particularly in the animals with a long-range deficit of microelements.

lambing ewe; supplementation; zinc; selenium; copper; reticulum-rumen pellets; immunity

Contact Address:

Doc. MVDr. Jozef B í r e š , CSc., Univerzita veterinárskeho lekárstva, Komenského 73,
041 81 Košice, Slovak Republic
Tel. 095 32111-15, fax 095 767675

Upozorňujeme čtenáře, že v čísle 11/1993 časopisu

VETERINÁRNÍ MEDICÍNA

mají být uveřejněny tyto příspěvky:

C e l e r V.: Příprava precipitačního antigenu k diagnostice Maedi-Visna

H a l o u z k a R., C e l e r V.: Výskyt patologických změn v orgánech ovčí sérologicky pozitivních na profilátky proti viru Maedi-Visna

B a r a n y i o v á E., H o l u b A.: The effects of diarrhoea on food intake in piglets weaned on the day of birth

H e j l í č e k K., T r e m l F.: Epizootologie a patogeneze aviární mykobakterií vrabce domácího (*Passer domesticus*) a vrabce polního (*P. montanus*)

H e j l í č e k K., T r e m l F.: Epizootologie a patogeneze aviární mykobakterií bažanta obecného (*Phasianus colchicus*) a koroptve polní (*Perdix perdix*)

IZOENZÝMY LAKTÁTDEHYDROGENÁZY U PLEMENNÝCH OVIEC A BARANČEKOV

I. Šutiaková¹, K. Dalliová¹, V. Šutiak², N. Pijáková¹

¹Ústav experimentálnej veterinárnej medicíny, Košice

²Univerzita veterinárskeho lekárstva, Košice

Študovali sme kvantitatívne percentuálne zastúpenie izoenzýmov laktátdehydrogenázy krvnej plazmy plemenných oviec a barančekov z terénnych podmienok vertikálnou polyakrylamidovou elektroforézou. Pri určovaní izoenzýmového spektra laktátdehydrogenázy zohľadňujúc pohlavie sme zistili, že u izoenzýmu LD3 bola vyššia aktivita u ročných oviec. Izoenzýmy LD4 a LD5 mali signifikantný rozdiel ($P < 0,05$) v aktivite izoenzýmu LD4 medzi stavropoľským merinom a krížencami stavropoľské merino x merino x corriedale. Zaregistrovali sme medziplemenné rozdiely v aktivite izoenzýmov u oviec plemena merino a ich krížencov vo veku 2-5 rokov. U plemena merino sme zistili nasledovné izoenzýmové spektrum: LD1 = $48,5 \pm 9,5$ %, LD2 = $10,1 \pm 3,5$ %, LD3 = $28,1 \pm 6,5$ %, LD4 = $5,8 \pm 3,5$ % a LD5 = $7,5 \pm 6,1$ %.

plemenné ovce a barančky; izoenzýmy laktátdehydrogenázy; zdravie

V ostatných rokoch sa stále častejšie vynára problém tzv. lokálnych multifaktoriálnych chorôb (Goldberg, 1992). Tieto sú výsledkom zníženej rezistencie zvierat pod vplyvom prostredia, nesprávnej výživy, obsahu cudzorodých látok v krmive, zlých zoohygienických podmienok a nízkej prirodzenej odolnosti zvierat a pod. (Mádr a Hruban, 1991; Šutiak a Šutiaková, 1991; Štepušín a i., 1993). Vzniká celý rad tzv. produkčných chorôb zvierat, ako sú napr. mastitídy, poruchy metabolizmu, poruchy plodnosti atď. V týchto súvislostiach sa dostávajú stále viac do popredia viaceré otázky zdravia, a to nielen klinického, ale predovšetkým dedičného (Basrur a Yadav, 1990). Zdá sa pritom, že faktory genetické sú najvýraznejšou príčinou variability v schopnosti odolávať akýmkoľvek faktorom prostredia, ktoré by ohrozili zdravie jedinca (Knížek a Šiler, 1978; Lojda, 1987; Mádr a Hruban, 1991). Gavora (1990) v tomto ohľade navrhuje hľadať súvislosti medzi monogénne alebo polygénne kontrolovanými génmi na úrovni proteínového a DNA polymorfizmu so selektívnymi znakmi. Odkrývanie génov akýmikoľvek metódami a ich funkčné určenie je rozhodujúce nielen pre zabezpečenie optimálnej produkcie, ale aj pre upevnenie zdravia (Matoušek, 1988; Haley, 1991).

Cieľom tejto práce bolo študovať aktivitu polymorfného systému laktátdehydrogenázy u niektorých plemien, resp. krížencov oviec a barančekov z terénnych

podmienok chovu. Sledovanie izoenzýmův LD môže byť cenné v súvislosti s prevenciou zdravia, ako aj pri toxikologických a iných štúdiách.

MATERIÁL A METÓDY

V práci sme použili 15 oviec plemena merino (M) vo veku 2-4 rokov, 9 krížencův askánske merino x merino (AM x M) vo veku 5 rokov, 10 oviec merino x corriedale (M x CO) vo veku 5 rokov a 9 oviec merino s určitým genetickým podielom lincoln vo veku 3-4 rokov. Okrem toho sme vyšetrili aj ovečky vo veku 1 rok v počte 31 kusův, a to nasledovných plemien, resp. krížencův: merino (M) - 10, stavropoľské merino (SM) - 1, merino x askánske merino x corriedale (M x AM x CO) - 2, merino x stavropoľské merino (M x SM) - 1, merino x stavropoľské merino x askánske merino (M x SM x AM) - 1, askánske merino x merino (AM x M) - 16 kusův. Vyšetřili sme aj 5 barančekův plemena stavropoľské merino (SM), 6 krížencův stavropoľské merino x merino x corriedale (SM x M x CO), 3 krížence askánske merino x merino x corriedale (AM x M x CO), 3 krížence stavropoľské merino x merino (SM x M) a 6 krížencův askánske merino x merino (AM x M). Barančky boli vo veku 1 roka. Ovce a barančky boli z lokality Zdobá, resp. Beniakovce, hospodársky dvor Rozhanovce. Okrem toho sme analyzovali ešte 10 oviec krížencův plemena merino s určitým genetickým podielom lincoln vo veku 3-4 rokov z Krompách.

Zvieratá boli ustajnené v zimných mesiacoch v maštali v počte 300 oviec natrvalo. Ako podstielku mali jačmennú slamu. V letnom období boli na pastve. Na pastvu sa vyhánali začiatkom apríla. V zimnom období krmná dávka obsahovala repu *ad libitum*, 1 kg sena a jadro 400 g na kus, iba pri kotení. Zoohygienické podmienky boli uspokojivé. Zdravotný stav zvierat bol dobrý.

Krv sme odoberali z *vena jugularis* do heparínu (500 m.j.) a plazmu sme získali centrifugáciou počas 15 min pri 190 g/min. Izoenzýmy LD sme separovali na 5,5 % polyakrylamidovom géli podľa autorův Dietz a Lubrana (1967). Na kvantitatívne vyhodnotenie izoenzýmových spektier sme použili extinkčné zariadenie s automatickou registráciou integrácie, zn. ERI 10 (filter č. 3, E = 1). Denzitometrické záznamy sme použili pre výpočet percentuálneho zastúpenia LD izoenzýmův krvnej plazmy každého pokusného zvieratá. Výsledky sme spracovali štatisticky Studentovým *t*-testom.

VÝSLEDKY

Hodnoty aktivít izoenzýmův LD v krvnej plazme ročných oviec a barančekův uvádzame v tab. I. Pri určovaní izoenzýmového spektra LD podľa pohlavia sme zistili, že v prípade izoenzýmu LD3 bola vyššia aktivita u ročných oviec $29,1 \pm 7,5 \%$. Pri izoenzýmoch LD4 a LD5 sme pozorovali vyššie aktivity u barančekův, a to $7,6 \pm 3,5 \%$ a $9,8 \pm 5,3 \%$. Ovce vo veku jedného roka boli plemien merino a stavropoľské merino a ich kríženci. Barančky boli plemena stavropoľské merino a ich krížence. Kvantitatívne zastúpenie izoenzýmův LD v krvnej plazme ročných barančekův u jednotlivých plemien, resp. krížencův uvádzame v tab. II a III. Ako vyplýva z tab. III,

I. Percentuálne zastúpenie izoenzým v krvnej plazme ročných barančekov a oviec – Percentage of isoenzymes in the blood plasma of yearling rams and ewes

Izoenzýmy LD ¹	Barančeky ²			Ovce ³		
	$\bar{x}$	$\pm s$	n	$\bar{x}$	$\pm s$	n
LD1	47,6	7,4	23	47,9	10,8	31
LD2	10,0	3,3	23	11,0	2,8	31
LD3	25,0	6,1	23	29,1 ⁺⁺	7,5	31
LD4	7,6	3,5	23	5,6 ⁺⁺	2,2	31
LD5	9,8	5,3	23	6,4 ⁺⁺⁺	3,1	31

++ = $P < 0,01$

+++ = $P < 0,02$

¹LD isoenzymes, ²rams, ³ewes

II. Percentuálne zastúpenie izoenzým v krvnej plazme ročných barančekov (podľa plemena a jeho krížencov) – Percentage of isoenzymes in the blood plasma of yearling rams (according to breed and its crossbreds)

Izoenzýmy LD ¹	Plemeno a kríženci ²								
	SM = A			AM x M = B			SM x M x CO = C		
	$\bar{x}$	$\pm s$	n	$\bar{x}$	$\pm s$	n	$\bar{x}$	$\pm s$	n
LD1	48,0	10,06	5	48,7	7,6	6	45,8	4,8	6
LD2	12,1	5,2	5	9,0	2,5	6	8,9	2,5	6
LD3	25,9	7,02	5	27,1	4,2	6	24,3	9,03	6
LD4	4,0	2,2	5	7,0	4,4	6	8,7	3,9	6
LD5	10,0	3,5	5	8,2	3,9	6	12,3	8,9	6

SM - stavropoľské merino - Stavropol Merino; SM x M x CO - stavropoľské merino x merino x corriedale - Stavropol Merino x Merino x Corriedale; AM x M - askánske merino x merino - Ascan Merino x Merino

¹LD isoenzymes, ²breed and crossbreds

zaznamenali sme u barančekov štatisticky významné rozdiely $P < 0,05$ iba v aktivite izoenzýmu LD4 medzi stavropoľským merinom a krížencami stavropoľské merino x merino x corriedale. Jednoročné barančeky plemena SM mali nasledovné kvantitatívne zloženie: LD1 = $48,0 \pm 10,6$ %, LD2 = $12,1 \pm 5,2$ %, LD3 = $25,9 \pm 7,02$ %, LD4 = $4,0 \pm 2,2$ % a LD5 = $10,0 \pm 3,5$ %. Taktiež sme zistili medziplemenné rozdiely v aktivite niektorých izoenzým LD v krvnej plazme oviec (tab. IV a V). Pri izoenzýme LD1 sme určili signifikantné rozdiely ($P < 0,01$) medzi plemenom merino a krížencami askánske merino x merino, ako aj krížencami merino x corriedale a krí-

III. Porovnanie medziľemenných rozdielov v kvantitatívnom zastúpení izoenzýmov u barančekov
– Comparison of differences in the quantitative share of isoenzymes of the single breeds of rams

LD1				LD2				LD3				LD4				LD5			
O	A	B	C	O	A	B	C	O	A	B	C	O	A	B	C	O	A	B	C
A	O			A	O			A	O			A	O			A	O		
B	-	O		B	-	O		B	-	O		B	-	O		B	-	O	
C	-	-	O	C	-	-	O	C	-	-	O	C	+	-	O	C	-	-	O

A = SM; B = AM x M; C = SM x M x CO

- = štatisticky nevýznamný rozdiel – statistically insignificant difference

+ = $P < 0,05$

IV. Percentuálne zastúpenie izoenzýmov v krvnej plazme oviec plemena merino a rôznych krížencov
(vek 2-5 rokov) – Percentage of isoenzymes in the blood plasma of Merino and different crossbred ewes (aged 2-5 years)

Izoenzýmy LD ¹	M = D			AM x M = E			M x CO = F			*) Kríženci plemena merino s genetickým podielom lincoln ⁵ = G		
	2 - 4ročné ²			2 - 4ročné			5ročné ³			3 - 4ročné ⁴		
	$\bar{x}$	$\pm s$	n	$\bar{x}$	$\pm s$	n	$\bar{x}$	$\pm s$	n	$\bar{x}$	$\pm s$	n
LD1	48,5	9,5	15	58,5	6,78	9	58,8	10,7	10	42,4	16,7	9
LD2	10,1	3,3	15	8,9	1,87	9	8,9	1,54	10	10,4	1,27	9
LD3	28,1	6,5	15	26,6	5,34	9	22,0	7,3	10	33,2	4,9	9
LD4	5,8	3,5	15	3,1	1,46	9	4,5	3,17	10	6,1	2,2	9
LD5	7,5	6,1	15	2,9	1,95	9	5,8	4,38	10	7,9	3,9	9

*) = iné prostredie (Kropachy) – other environment (Kropachy)

¹LD isoenzymes, ²2 - 4 year-old, ³5-year-old, ⁴3 - 4 - year-old, ⁵crossbreds of Merino with a genetic share of Lincoln

žencami plemena merino s určitým genetickým podielom plemena lincoln. Na hladine významnosti ($P < 0,02$) boli rozdiely v aktivite izoenzýmu LD1 medzi merinom a askánskym merinom x coriedale a askánskym merinom x merino a krížencami plemena merino s určitým genetickým podielom lincoln. V prípade izoenzýmu LD2 sme nezaznamenali štatisticky významné rozdiely v jeho aktivite nami sledovaných plemien, resp. krížencov. Naproti tomu na hladine štatistickej významnosti ($P < 0,01$) sa líšili medzi sebou kríženci askánske merino x merino a merino x coriedale s krížencami plemena merino s určitým genetickým podielom lincoln. Pri

V. Porovnanie medziľemenných rozdielov v kvantitatívnom zastúpení izoenzýmov u oviec – Comparison of differences in the quantitative proportion of isoenzymes between breeds

LD1					LD2					LD3					LD4					LD4				
O	D	E	F	G	O	D	E	F	G	O	D	E	F	G	O	D	E	F	G	O	D	E	F	G
D	O				D	O				D	O				D	O				D	O			
E	+++	O			E	-	O			E	-	O			E	++	O			E	++	O		
F	++	-	O		F	-	-	O		F	-	-	O		F	-	-	O		F	-	-	O	
G	-	++	+++	O	G	-	-	-	O	G	-	+++	+++	O	G	-	+++	-	O	G	-	+++	-	O

D = M; E = AM x M; F = M x CO; G = kríženci plemena merino s určitým genetickým podielom plemena lincoln (Krompachy) – crossbreds of Merino with a certain share of Lincoln (Krompachy)

- = štatisticky nevýznamný rozdiel – statistically insignificant difference

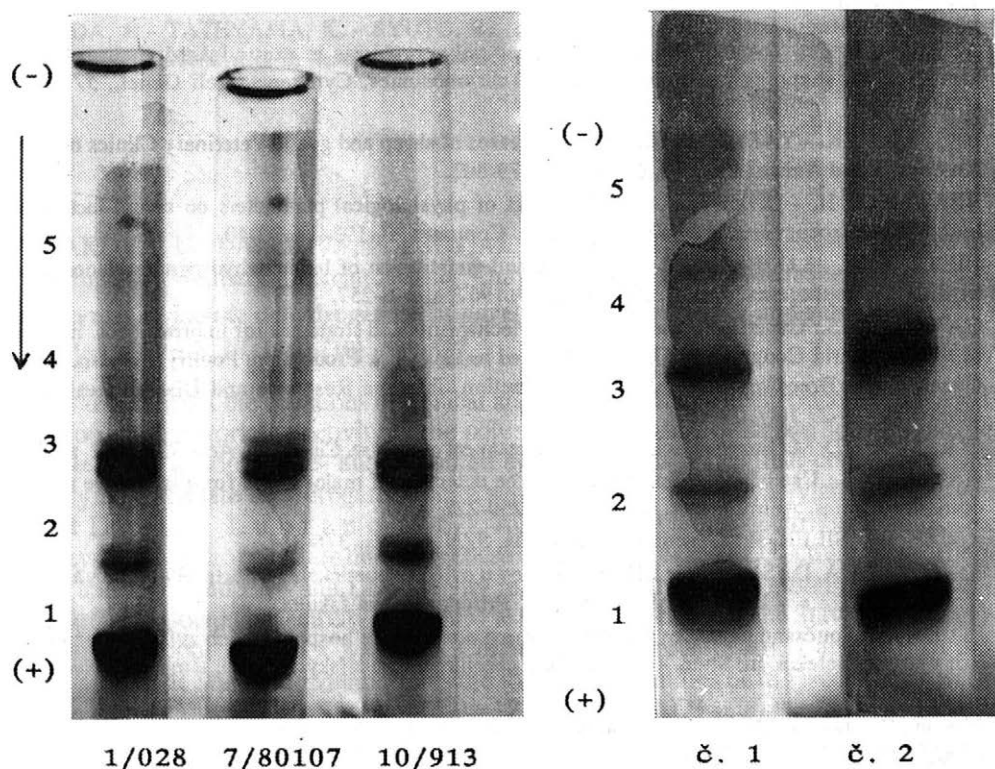
++ = $P < 0,02$

+++ = $P < 0,01$

izoenzýmoch LD4 a LD5 boli v ich aktivite medzi plemenom merino a askánske merino x merino tiež významné rozdiely ($P < 0,02$), ako aj medzi krížencami askánske merino x merino a krížencami plemena merino s určitým genetickým podielom lincoln ($P < 0,01$). U plemena merino sme namerali tieto aktivity izoenzýmů laktátdehydrogenázy: LD1 = $48,5 \pm 9,5$, LD2 = $10,1 \pm 3,3$ %, LD3 = $28,1 \pm 6,5$ %, LD4 = $5,8 \pm 3,5$ % a LD5 = $7,5 \pm 6,1$ %. Pri separácii izoenzýmů LD sme pozorovali pri izoenzýmoch LD2, LD3, LD4 a LD5 2-3 subfrakcie. Pri kvantitatívnom hodnotení sme tieto subfrakcie vyhodnotili ako jeden izoenzým (obr. 1).

DISKUSIA

Zdravie každého jedinca je v značnej miere predurčené genotypom. V tomto smere má význam štúdium genetického, biochemického a fyziologického polymorfizmu na úrovni DNA, proteínov aj chromozómů (V á c h a, 1980; M i t t o n a G r a n t, 1984; P o w e r s a i., 1991; A k e s o n a D a v i s s o n, 1991). Poznatky získané cez separáciu a kvantifikáciu LD izoenzýmů umožňujú bližšie určiť niektoré patologické poškodenia ľudí a zvierat. Kvantitatívna distribúcia piatich izoenzýmů je charakteristická pre každý izoenzým, druh a tkanivo (M a e k a w a, 1988, Y a s u d a a i., 1990). Preto sme určovali kvantitatívne zastúpenie izoenzýmů LD u oviec a barančkov iba klinicky zdravých. Ak sme počas analýz zaznamenali u zvierat „zvýšené“ izoenzýmové aktivity, vylúčili sme ich z analýz. Napríklad u krížanky merino x corriedale (č. 502) sme zistili následné hodnoty: LD1 = 86,5 %, LD2 = 6,8 %, LD3 = 6,7 %, LD4 a LD5 = 0,0 %. Aktivity izoenzýmů LD sa prejavujú pri špecifických poškodeniach tkanív, napr. pečene, priečne pruhovaného svalstva, srdcového svalstva, ale aj pri hereditárnych deficienciách podjednotiek H a M (M a e k a w a, 1988; T a k a y a s u a i., 1991; M e r k l e a i., 1992). Zistili sme podľa pohlavia u ročných oviec a barančkov štatisticky preukazné rozdiely v aktivite izoenzýmů LD3, LD4 a LD5. Podobným problémom sa zaoberali B e a t t y a D o x e y (1984) u oviec kríženců suffolk x halfbreed. Uvedli, že vyššiu percentuálnu aktivitu pozorovali u izoenzýmu LD1 a u jednoduchých jahniat. Ďalej nás zaujímalo, či existujú významné rozdiely v kvantitatívnom zastúpení izoenzýmů LD v rámci druhu medzi plemenami, resp. krížencami. Pritom sme vyšetrovali zvieratá, ktoré boli vo veku 1-5 rokov. Zaznamenali sme štatisticky významné rozdiely v aktivite niektorých izoenzýmů medzi plemenom merino a ich krížencami u oviec, ako aj barančkov plemena stavropoľské merino a ich krížencami. Tieto výsledky nás nabádajú k ďalším úvahám a štúdiám. Práve vo veterinárnej medicíne nie sú úplné poznatky pri interpretovaní takého stavu, a to v súvislosti so zdravím, toxikologickými a farmakologickými štúdiami (P r e u s a i., 1989). Medziplenným zastúpením izoenzýmů LD v krvnej plazme oviec sa zaoberala K o š t i a Ľ o v á (1981). Táto autorka zistila najväčšie rozdiely medzi plemenami askánske merino a zušľachtená valaška a zušľachtená valaška a merino. Podobne M i c h á l e k a M a r c a n í k (1975) určovali kvantitatívne zastúpenie izoenzýmů u meriniček vo veku 1,5-4 roky. Je treba ale poznamenať, že separačné médium používali 1% agarový gél. Určili nasledovné percentuálne zastúpenie



1. Isoenzymogramy laktátdehydrogenázy krvnej plazmy oviec z lokality Beniakovce a Kropachy. Ovca č. 1/028 M x AM x CO, č. 7/80107 M; č. 10/913 M; ovca č. 1 a 2 plemena merino s určitým genetickým podielom lincoln – Isoenzymograms of lactate dehydrogenase in the blood plasma of sheep from the locality of Beniakovce and Kropachy. Sheep 1/028 M x AM x CO, 7/80107 M, 10/913 M; sheep 1 and 2 - Merino with a certain genetic share of Lincoln

izoezýmov: LD1 = 51 - 60 %, LD2 = 8 - 13 %, LD3 = 17 - 27 %, LD4 = 3 - 7 % a LD5 = 2 - 8 %. My sme zistili podobné kvantitatívne zastúpenie izoezýmov LD u meriniiek vo veku 2-4 rokov.

Našou čiastkovou prácou sme chceli prispieť k objasneniu veľmi aktuálnej, ale stále zložitej otázky normálnych hodnôt izoezýmov LD krvnej plazmy klinicky zdravých zvierat.

Podakovanie

Za preklad od anglického jazyka ďakujeme Mgr. G. Greserovej - Tkačikovej.

Literatúra

- AKESON, E. C. - DAVISSON, M. T.: C-band polymorphisms in exotic inbred strains of mice: a method for mapping centromeric ends of chromosomes. *Cytogenet. Cell Genet.*, 57, 1991, s. 217-220.
- BASRUR, P. K. - YADAV, B. R.: Genetic diseases of sheep and goats. *Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice*, 6, 1990, s. 779-802.
- BEATTY, E. H. - DOXEY, D. L.: The effect of physiological parameters on serum lactate dehydrogenase isoenzymes in lambs. *Veter. Res. Commun.*, 8, 1984, s. 33-40.
- DIETZ, A. A. - LUBRANO, T.: Separation and quantitation of lactic dehydrogenase isoenzymes by disc electrophoreses. *Analyt. Biochem.*, 20, 1967, s. 246-257.
- GAVORA, J. S.: Genetic disease resistance: Mechanisms and strategies for improvement. In: *Proc. of the 4th World Congress on Genetics Applied to Livestock Production. Poultry, Fish and Horse Genetics and Breeding Growth and Reproduction, Immune Response and Disease Resistance*, Edinburgh, 23-27 July, 1990.
- GOLDBERG, D. M.: Enzymes as agents for the treatment of disease. *Clin. chim. Acta*, 206, 1992, s. 45-76.
- HALEY, C. S.: Use of DNA fingerprints for the detection of major genes for quantitative traits in domestic species. *Anim. Genet.*, 22, 1991, s. 259-277.
- KNÍŽE, B. - ŠILER, R.: *Genetika zvířat*. Praha, SZN 1978, s. 376-384.
- KOŠTIALOVÁ, D.: Sledovanie LD-izoenzýmův u oviec z genetického aspektu. [Diplomová práca.] Košice 1981. 28 s. - Univerzita P. J. Šafárika. Prírodovedecká fakulta.
- LOJDA, L.: Současné poznatky z genetiky zdraví a rezistence hospodářských zvířat a možnost jejich využití v selekci. In: *Sbor. Ref. XIII. Dny genetiky hospodářských zvířat*. Brno, Dům techniky, 1987, s. 79-87.
- MÁDR, P. - HRUBAN, V.: Genetické determinanty imunity a rezistence domestikovaných zvířat. *Biol. Listy*, 56, 1991, s. 241-257.
- MAEKAWA, M.: Lactate dehydrogenase isoenzymes. *J. Chromatog.*, 429, 1988, s. 373-398.
- MATOUŠEK, J.: Zamyšlení nad vývojem experimentálních úseků živočišné genetiky v budoucích letech. *Poľnohospodárstvo*, 34, 1988, s. 940-960.
- MARKLE, S. - FAVOR, J. - GRAW, J. - HORNHARDT, S. - PRETSCH, W.: Hereditary lactate dehydrogenase A-subunit deficiency as cause of early postimplantation death of homozygotes in *Mus musculus*. *Genetics*, 131, 1992, s. 413-421.
- MICHÁLEK, A. - MARCANÍK, J.: Hodnoty aktivit izoenzýmův dehydrogenázy kyseliny mliečnej séra hospodárskych zvierat. *Veter. Med. (Praha)*, 20, 1975, s. 199-205.
- MITTON, J. B. - GRANT, M. C.: Associations among protein heterozygosity, growth rate and developmental homeostasis. *Ann. Rev. Ecol. Syst.*, 15, 1984, s. 479-499.
- POWERS, D. A. - LAUERMAN, F. - CROWFORD, P. - DI MICHELE, L.: Genetic mechanism for adapting to a changing environmental. *A. Rev. Genet.*, 25, 1991, s. 629-659.
- PREUS, M. - KARSTEN, B. - BHARGAVA, A. A.: Serum isoenzyme pattern of creatine kinase and lactate dehydrogenase in various animal species. *J. clin. chem. clin. Biochem.*, 27, 1989, s. 787-790.
- STĚPUŠIN, A. - ŠUTIAK, V. - ŠUTIAKOVÁ, I.: O niektorých otázkach mykotoxikóz. In: *Zbor. Ref. Chov a choroby ošpaných*. Košice, 28. - 29. 1. 1993, s. 42.
- ŠUTIAK, V. - ŠUTIAKOVÁ, I.: Study of the side effects and chromato-electrophoretic properties of protease from *Aspergillus oryzae*. *Folia veter.*, 35, 1-2, 1991, s. 31-46.
- TAKAYASU, S. - FUJIWARA, S. - WAHI, T. - OITA, B. S.: Hereditary lactate dehydrogenase H-subunit deficiency: Lactate dehydrogenase activity in skin lesions and in hair follicles. *J. Amer. Acad. Dermatol.*, R 4, 1991, s. 339-342.

VÁCHA, J.: Problém normálnosti v biologii a lékařství. Praha, Avicenum 1980, 175 s.

YASUDA, J. - TATEYAMA, K. - SYUTO, B. - TOO, K.: Lactate dehydrogenase and creatine phosphokinase isoenzymes in tissues of laboratory animals. Jap. J. veter. Res., 38, 1990, s. 19-29.

Došlo 10. 5. 1993

ŠUTIAKOVÁ, I. - DALLIOVÁ, K. - ŠUTIAK, V. - PIJÁKOVÁ, N. (Research Institute of Experimental Veterinary Medicine, Košice; University of Veterinary Medicine, Košice):

Isoenzymes of lactate dehydrogenase in pure- and crossbred ewes and rams.

Vet. Med. - Czech, 38, 1993 (10): 609-617.

In farm animals the questions of clinical and mainly heritable health receive increased attention. In this work the activity of the polymorphous system of lactate dehydrogenase was observed in some pure- and crossbred ewes and rams under field conditions. The isoenzyme of lactate dehydrogenase were separated on 5.5 % polyacrylamid gel as reported Dietz, Lubrano (1967). Age- and sex-related determinations of the isoenzyme spectrum of lactate dehydrogenase revealed increased LD3 activity in yearling ewes, and increased LD4 and LD5 activity in yearling rams (Tab. I). Significant differences of LD4 isoenzyme activity ($P < 0.05$) were observed between the Stavropol Merino and the Stavropol Merino x Merino x Corriedale crossbreds (Tabs II and III). In the blood plasma of Stavropol Merino rams the following quantities of LD isoenzymes were determined: LD1 = 48.0 ± 10.6 %, LD2 = 12.1 ± 5.2 %, LD3 = 25.9 ± 7.02 %, LD4 = 4.0 ± 2.2 % and LD5 = 10.0 ± 3.5 %. In the activity of some isoenzymes breed differences were recorded in 2-5-year-old ewes (Tabs IV and V). For LD1, significant differences ($P < 0.01$) were found between the Merino and Ascan Merino x Merino sheep breeds as well as between the Merino x Corriedale sheep and the crossbreds of Merino with a certain share of Lincoln. Differences in LD1 activity between Merino and Merino x Corriedale sheep as well as between the Ascan Merino and Merino crossbreds with a certain share of Lincoln were significant at the level of $P < 0.02$. For LD2, no significant differences were stated in the pure- and crossbred animals under examination. LD3 values in the Ascan Merino x Merino and Merino x Corriedale sheep significantly differed from those observed in the crossbreds of Merino with a certain genetic share of Lincoln ($P < 0.01$). Different LD4 and LD5 activities were determined in the Merino and Ascan Merino x Merino sheep ($P < 0.02$) as well as in the Ascan Merino x Merino and the crossbreds of Merino with a certain share of Lincoln ($P < 0.01$). In the Merino breed the following LD isoenzyme activities were recorded: LD1 = 48.5 ± 9.5 %, LD2 = 10.1 ± 3.3 %, LD3 = 28.1 ± 6.5 %, LD4 = 5.8 ± 3.5 % and LD5 = 7.5 ± 6.1 %.

breeding ewes and rams; isoenzymes of lactate dehydrogenase; health

Contact Address:

RNDr. Irena Šutiaková, CSc., Ústav experimentálnej veterinárnej medicíny, Hlinkova 1/A, 040 01 Košice, Slovak Republic
Tel. 095 32011, fax 095 31853



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



EPIZOOTOLOGIE A PATOGENEZE AVIÁRNÍ MYKOBAKTERIÓZY HRDLÍČKY (*STREPTOPELIA* SP.)

K. Hejlíček, F. Trembl

Vysoká škola veterinární a farmaceutická, Brno

Byl sledován výskyt tuberkulózních změn a přítomnost mykobaktérií u hrdličky zahradní (*S. decaocto*) a hrdličky divoké (*S. turtur*) v různých epizootologických poměrech aviární tuberkulózy. Vyšetřením 218 hrdliček zahradních a 22 hrdliček divokých nebyly ani v jednom případě prokázány tuberkulózní změny ani izolovány mykobaktérie, i když některé hrdličky pocházely z prostředí s výskytem *M. avium*. Experimentálními infekcemi hrdličky zahradní byla prokázána její značná resistance k aviárním mykobaktériím. Po intramuskulární infekci suspenzí *M. avium* vznikly makroskopické tuberkulózní změny jen v místě vpichu za 21 dnů, jinak byly zjištěny pouze histologické změny v játrech, slezině a kostní dřeni za 28 dnů po infekci. Mykobaktérie však byly izolovány z různých tkání a orgánů již po 12 dnech. Infekce kontaminovaným krmivem nevedla v údobí 122 dnů ke vzniku tuberkulózních změn a u vyšetřovaných hrdliček nebyly prokázány mykobaktérie. Po kontaktu s tuberkulózním kurem vznikly ojediněle histologicky prokazatelné změny v játrech za 180 dnů a ojediněle byly izolovány mykobaktérie po 157 dnech z jater a ze svalů. Podařil se přenos aviárních mykobaktérií z experimentálně infikovaných hrdliček na prasata a v omezené míře na kura. Po 45 dnech vzájemného kontaktu infikovaných hrdliček s prasaty a kurem a po dalším pobytu prasat a kura v kontaminovaném prostředí po dobu 65, resp. 178 dnů u jednoho prasete vznikla tuberkulinová alergie a u obou prasat se vyvinuly změny v mízních uzlinách zažívacího ústrojí. U kura nevznikla ani alergie, ani tuberkulózní změny, pouze u jednoho z pěti ptáků byly izolovány mykobaktérie z jater a sleziny. Hrdlička je velmi resistantní k infekci aviárními mykobaktériemi. Její význam jako zdroje a šířitele mykobaktérií je ve srovnání s některými dalšími druhy volně žijících ptáků výrazně nižší. Může však přenést aviární mykobaktérie na prasata a v omezené míře i na kura domácího.

hrdlička (*Streptopelia* sp.); aviární mykobakterióza; patogenese; experimentální infekce

V našich poměrech žijí dva druhy hrdliček, hrdlička zahradní (*S. decaocto*) a hrdlička divoká (*S. turtur*). Hrdlička zahradní patří k hojně se vyskytujícím synantropním druhům volně žijícího ptactva. Osídluje městské parky a zahrady. Vyskytuje se na vesnicích v zahradách a v okolí objektů zemědělských závodů. Též na samotách, ale i v otevřeném terénu a v lesích. Za potravou zalétá i na pole. Hrdlička divoká se vyskytuje v lesích všeho druhu, v zahradách vesnic a místy i na okraji měst (B a l á t, 1986).

I když je hrdlička značně rozšířena, zmínky o výskytu aviárních mykobakteriálních infekcí u ní nacházíme v odborné literatuře pouze ojediněle. Spontánní tuberkulózu hrdličky popsali Š v r č e k a j. (1966). Při vyšetřování ptactva v letech 1974 - 1989 v rámci SVÚ na území ČR nebyla v žádném případě nalezena u hrdličky tuberkulóza (Surveillance antropozoonóz, 1974 -1989). V o l n e r (1978) při objasňování příčin vzniku mykobakteriální infekce na velké farmě prasat vyšetřoval i hrdličky zahradní a izoloval z jejich orgánů *M. avium*. R o s s i (1969) infikoval experimentálně různým způsobem hrdličky zahradní a konstatoval u nich vysokou resistenci k *M. avium*. Makroskopické změny v orgánech se vyvinuly až po inokulaci velkého množství mykobaktérií intraperitoneálně.

Cílem naší práce bylo zjistit výskyt mykobakteriálních infekcí u hrdliček v lokalitách s různou epizootologickou charakteristikou aviární mykobakteriální infekce. Dále pak experimentálními infekcemi ověřit vnímavost hrdličky zahradní k aviárním mykobaktériím, postup infekčního procesu v jejím organismu a možnost přenosu mykobaktérií tímto druhem na další zvířata.

MATERIÁL A METODY

Při depistážích aviární mykobakteriální infekce konaných v různých epizootologických poměrech byly hrdličky získávány k vyšetření odstěhem. Ptáci byli pitváni a kultivací vyšetřena játra, slezina a obsah střev. Celkem bylo vyšetřeno v 8 lokalitách 218 jedinců hrdličky zahradní a 22 jedinců hrdličky divoké (tab. I).

Hrdličky zahradní byly k experimentálním infekcím získávány odchycem pod drátěné síto v areálu VŠV v Brně. K experimentální intramuskulární infekci byla použita suspenze kmene *M. avium* izolovaného z kura domácího. Kmen vyvolával u kura po intramuskulární infekci v dávce 1 mg/kg ž.h. generalizovanou tuberkulózu. Sérologicky byl určen jako *M. avium* sérotyp 2. K perorální infekci bylo použito krmivo kontaminované tuberkulózně změněnými játry kura domácího (9 dílů krmiva + 1 díl jater), které bylo podáváno po dobu 10 dnů od zahájení pokusu. Ke kontaktní infekci byl použit kur domácí z chovu infikovaného tuberkulózu. Ptáci reagovali na aviární tuberkolin a někteří jeví klinické příznaky onemocnění. Celkem bylo ve dvou sériích pokusů infikováno intramuskulárně 13 hrdliček, perorálně kontaminovaným krmivem 9 hrdliček a kontaktem s tuberkulózním kurem 7 hrdliček. Po intramuskulární infekci, pokud dříve neuhynuly, byly hrdličky po částech usmrceny za 12 - 56 dnů, po perorální infekci kontaminovaným krmivem za 91 - 122 dnů, po kontaktu s tuberkulózním kurem za 157 - 197 dnů. Po usmrcení byli ptáci vyšetřeni patologicoanatomicky, jednotlivé tkáně a orgány histologicky a kultivačně.

V pokusu o přenos aviárních mykobaktérií byla umístěna do dezinfikované voliery k 5 hrdličkám zahradním, infikovaným před 70 dny intramuskulárně suspenzí *M. avium* 2 selata a 8 jedinců kura domácího (4 kohouti, 4 kuřice). Hrdličky byly ponechány v kontaktu s prasaty a kurem po dobu 45 dnů. Pak byly hrdličky odchyceny, usmrceny a vyšetřeny. Prasata byla ponechána v kontaminovaném prostředí ještě 65 dnů, kur 178 dnů. Celkem tedy od počátku kontaktu 110 a 223 dnů.

I. Výsledky vyšetření hrdliček (*Streptopelia* sp.) ulovených v lokalitách s různou epizootologickou charakteristikou na přítomnost aviárních mykobaktérií – Results of examinations on turtle doves (*Streptopelia* sp.) caught in localities with various epizootological characteristics for the presence of avian mycobacteria

Epizootologická charakteristika lokality ¹	Doba vyšetření ¹⁰	Vyšetřeno jedinců/z toho pozitivní ¹¹	
		(<i>S. decaoto</i>)	(<i>S. turtur</i>)
Drůbežárny s výskytem tuberkulózy ²	1966 - 1968	12/0	-
Stáje skotu s výskytem nespecifických tuberkulinových reakcí ³	1966	2/0	-
Stáje skotu s výskytem aviární tuberkulinové alergie ⁴	1972	6/0	-
Stáje skotu bez alergických reakcí na tuberkulin ⁵	1986 - 1990	7/0	-
Stáje ovčí bez alergických reakcí na tuberkulin ⁶	1986 - 1990	1/0	-
Chov služebních psů ⁷	1981 - 1985	25/0	-
Lokality v zemědělské oblasti před výstavbou stájí pro skot ⁸	1976 - 1985	161/0	22/0
Lokality v zemědělsky neobhospodařovaném prostoru ⁹	1986 - 1990	4/0	-
		218/0	22/0

¹epizootological characteristics of locality, ²poultry farms with incidence of tuberculosis, ³cattle stables with incidence of nonspecific tuberculin reactions, ⁴cattle stables with incidence of avian tuberculin allergy, ⁵cattle stables without allergic reactions to tuberculin, ⁶sheep houses without allergic reactions to tuberculin, ⁷rearing of service dogs, ⁸localities in agricultural region before construction of cattle stables, ⁹localities without farmed regions, ¹⁰time of examination, ¹¹examined individuals/out of it positive

V průběhu pokusu byli prasata a kur opakovaně tuberkulinováni, po poražení sledován patologickoanatomický nálezn. U prasat bylo kultivováno z mízních uzlin, plic, jater, sleziny a ledvin. U kura byla provedena kultivace z jater a sleziny.

VÝSLEDKY

Vyšetřením 218 hrdliček zahradních a 22 hrdliček divokých v lokalitách s různou epizootologickou situací aviární tuberkulózy nebyly prokázány patologickoanatomické tuberkulózní změny ani izolovány mykobaktérie z parenchymatózních orgánů a obsahu střevního (tab. I).

Výsledky experimentálních infekcí hrdličky zahradní jsou shrnuty v obr. 1 - 3. Po intramuskulární infekci hrdličky zahradní (obr. 1) se vyvinuly za 21 dnů izolo-

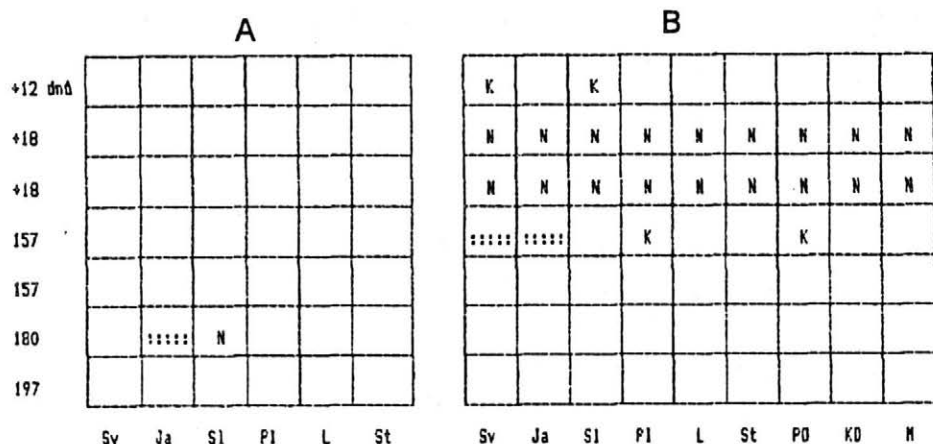
1. Výsledky patologickoanatomického, histologického a kulturačního vyšetření hrdličky zahradní (*S. decaocto*), infikované intramuskulárně suspenzí *M. avium* (1 mg/kg ž.h.) – Results of pathological-anatomical, histological and cultivation examinations of collared turtle-dove (*S. decaocto*) infected intramuscularly by suspensions *M. avium* (1 mg/kg of live weight)

	A						B								
12 dnů								////	////	::::	::::		::::		::::
12															
14				N					::::	////					
14	N	N	N	N	N	N			::::				::::	::::	
21									::::		::::				
21									::::						
28	::::	::::	N						::::						
28		::::	N	::::				::::							
+31								::::	K				K	K	
35							::::	::::							
35							::::	::::					::::		
42	::::	::::	N		N		::::		::::						
56			N												
	Sv	Ja	Sl	Pl	L	St	Sv	Ja	Sl	Pl	L	St	PD	KD	M

vané tuberkulózní změny v místě inokulace, po 28 dnech histologicky zjistitelné změny v játrech, plicích a kostní dřeni. Kultivace byla pozitivní již po 12 dnech a sice z jater, sleziny, plic, ledvin, pohlavních orgánů a mozku. V průběhu celého sledování však ani v jednom případě nebyly mykobaktérie izolovány ze střeva. Po infekci kontaminovaným krmivem byli k dispozici pro vyhodnocení za delší dobu pouze tři jedinci. U žádného z nich nebyly nalezeny morfologické tuberkulózní změny a ze dvou, kteří byli vyšetřeni kulturačně, nebyly izolovány mykobaktérie. Po infekci kontaktem s tuberkulózním kurem (hodnocení pouze čtyři jedinci), byly nalezeny v jednom případě za 180 dnů po infekci histologickým vyšetřením změny v játrech a v jiném případě za 157 dnů izolovány mykobaktérie z jater a ze svalu (obr. 2).

V pokusu o přenos mykobaktérií hrdličkou zahradní na prasata a kura (tab. II - IV) nebyly u infikovaných hrdliček po porážení za 110 dnů prokázány tuberkulózní změny v orgánech a rovněž kultivace z jater a sleziny byla negativní (tab. II). Z osmi jedinců kura domácího, kteří byli dáni do kontaktu, pouze pět bylo hodnotitelných po celou dobu pokusu. U žádného z nich nebyla zjištěna tuberkulinová

2. Výsledky patologickoanatomického, histologického a kulturačního vyšetření hrdličky zahradní (*S. decapcto*), infikované stykem s tbc kurem – Results of pathological-anatomical, histological and cultivation examinations of collared turtle-dove (*S. decapcto*) infected by contact with tuberculous fowl



Vysvětlivky pro obr. 1, 2 – Explanations to Figs. 1, 2:

A		beze změn - without changes	B		negativní - negative
		histologické změny - histological changes			do 20 kolonií - up to 20 colonies
	////	izolované tbc změny - isolated tuberculous changes		////	nad 20 kolonií - above 20 colonies
	■	miliární tbc - miliar tuberculosis		■	souvislý porost - continuous stand
	N	nevyšetřeno - unexamined		N	nevyšetřeno - unexamined
+		úhyn - mortality		K	kontaminace - contamination

Sv = sval – muscle

Ja = játra – liver

Sl = slezina – spleen

Pl = plíce – lungs

L = ledviny – kidneys

A = dynamika vývoje patologickoanatomických a histologických tbc změn – dynamics of development of pathological-anatomical and histological tuberculous changes

B = kulturační vyšetření – cultivation examination

dnů – days

St = střevo – intestine

PO = pohlavní orgány – sexual organs

KD = kostní dřev – bone marrow

M = mozek – brain

II. Výsledky patologickoanatomického a bakteriologického vyšetření hrdličky zahradní (*S. decaocto*), která byla zdrojem infekce – Results of pathological-anatomical and bacteriological examination of collared turtle-dove (*S. decaocto*) which was a source of infection

Číslo hrdličky ¹	Poražena za dnů ²	Výživný stav ³	Patologickoanatomický nálezn ⁴			Kultivace ⁵	
			játra ⁶	slezina ⁷	střevo ⁸	játra ⁶ + slezina ⁷	
611	116	++	-	-	-	-	-
621	116	++	-	-	-	-	-
624	116	++	-	-	-	-	-
625	116	++	(+)	-	-	-	-
626	116	++	-	-	-	-	-

Výživný stav – Nutritive conditions:

++ = velmi dobrý – very good

+ = dobrý – good

- = špatný – bad

Patologický nálezn – Pathological-anatomical diagnosis:

(+) = suspektní tbc změny – suspecte tuberculous changes

+ = ojedinělé tbc změny – rare tuberculous changes

++ = množství izolovaných změn – amount of isolated changes

+++ = miliární tbc – miliar TBC

¹turtle dove No., ²killed for days, ³nutritive conditions, ⁴pathological-anatomical diagnosis, ⁵cultivation, ⁶liver, ⁷spleen, ⁸intestine

alergie, patologickoanatomické tuberkulózní změny po poražení a jen v jednom případě byly mykobaktérie ojediněle prokázány kultivací z jater a sleziny. U jednoho ze dvou prasat (tab. III), která byla v kontaktu s hrdličkami, vznikla za 105 dnů výrazná alergie na avivární tuberkolin. Po porážce byly u obou prasat nalezeny tuberkulózní změny v mízních uzlinách mesenterálních a suspektní změny v mízních uzlinách mandibulárních. Kultivace byla pozitivní v obou případech z mízních uzlin mesenterálních a v jednom případě ze suspektní změny v mízní uzlině mandibulární (tab. IV). Kmeny izolované z prasat vyvolávaly po intramuskulární infekci u kura domácího generalizovanou tuberkulózu a byly určeny jako *M. avium* sérotyp 2. Z parenchymatózních orgánů nebyly mykobaktérie izolovány.

DISKUSE

Hrdlička zahradní (*S. decaocto*) i hrdlička divoká (*S. turtur*) se u nás vyskytují v poměrně hojných počtech a zejména hrdlička zahradní přichází do těsného styku s chovy domácích zvířat, včetně tuberkulózu infikovaných chovů drůbeže. Má tedy možnost, obdobně jako jiné druhy synantropních ptáků, se infikovat mykobaktériemi. Jen zcela ojedinělé nálezy spontánní tuberkulózy (Š v r č e k a j., 1966) nebo průkaz mykobaktérií (V o l n e r, 1978) svědčí o přirozené resistenci hrdličky

III. Výsledky simultánní tuberkulace prasat, vystavených infekci stykem s tbc hrdličkou zahradní (*S. decaocto*) – Results of simultaneous tuberculation of pigs exposed to infection by contact with tuberculous collared turtle-dove (*S. decaocto*)

Číslo prasete ¹	I. tuberkulace		II. tuberkulace		III. tuberkulace		IV. tuberkulace		V. tuberkulace	
	3 dny před infekcí ²		46 dnů po infekci ³		75 dnů po infekci ⁴		89 dnů po infekci ⁵		105 dnů po infekci ⁶	
	A	B	A	B	A	B	A	B	A	B
ot. rč.	ot. rč.	ot. rč.	ot. rč.	ot. rč.	ot. rč.	ot. rč.	ot. rč.	ot. rč.	ot. rč.	ot. rč.
2625/10	0 0	0 0	0 0,5	0 0,2	0 0,5	0 0,4	8 3,3	0 0	31 13,2	0 1,7
2625/11	0 0	0 0	0 1,3	0 0,6	0 0,8	0 0,5	0 0	0 0,2	4 1,5	0 0,8

A = aviární tuberkolín – avian tuberculin

B = bovinní tuberkolín – bovine tuberculin

ot. = otok v místě tuberkulace (plošně v mm) – oedema in place of tuberculation (in area in mm)

rč. = reakční číslo v mm – reaction number

¹pig No., ²first tuberculation 3 days before infection, ³second tuberculation 46 days after infection, ⁴third tuberculation 75 days after infection, ⁵fourth tuberculation 89 days after infection, ⁶fifth tuberculation 105 days after infection

zahravní k aviárním mykobaktériím. To potvrdily i výsledky našich vyšetření obou druhů hrdliček ulovených v lokalitách s různou epizootologickou situací aviární mykobakterií. U žádné z 218 hrdliček zahravních a 22 hrdliček divokých jsme nezjistili tuberkulózní změny, ani neprokázali mykobaktérie. Při tom některé hrdličky pocházely z okolí drůbežáren s výskytem tuberkulózy drůbeže a z okolí stájí skotu s výskytem aviární tuberkulínové alergie. Tedy ze stejných poměrů, kde jsme zjišťovali u vrabců domácích a vrabců polních tuberkulózní změny nebo izolovali mykobaktérie (H e j l í č e k a T r e m l, 1993). Lze se tedy ztotožnit s názorem o značné resistenci hrdličky k infekci aviárními mykobaktériemi.

Ve stejném smyslu vyzněly i výsledky experimentálních infekcí hrdličky zahravní. Podobně jako R o s s i (1969) jsme mohli konstatovat nízkou vnímavost hrdličky zahravní k aviárním mykobaktériím. Neprováděli jsme však, jako Rossi, intraperitoneální infekce, po nichž u hrdliček vznikaly tuberkulózní změny. Po jiném způsobu parenterální infekce (intramuskulárně) jsme pozorovali makroskopické tuberkulózní změny pouze v místě vpichu a v orgánech jen histologicky zjistitelné změny. Při tom však mykobaktérie pronikly do různých orgánů a tkání a byly v nich kultivací prokazatelné. V žádném případě nebyly izolovány ze střeva. To charakterizuje hrdličku zahravní jako málo nebezpečný zdroj aviárních mykobaktérií. Pro hodnocení vnímavosti k alimentární nebo kontaktní infekci byl k dispozici pouze malý počet jedinců, protože hrdličky ve voliérách často předčasně hynuly. Avšak i tento malý počet hodnotitelných ukazuje, ve srovnání s bažantem obecným

IV. Výsledky patologickoanatomického a bakteriologického vyšetření prasat infikovaných stykem s tbc hrdličkou zahradní (*S. decaocto*) – Results of pathological-anatomical and bacteriological examination of pigs infected by contact with tuberculous collared turtle-dove (*S. decaocto*)

Číslo prasete ¹	Druh vyšetření ²	Mízní uzliny ³			Plic ⁷	Játra ⁸	Slezina ⁹	Ledvina ¹⁰
		mandibulární ⁴	mesenterální ⁵	bronchiální ⁶				
2625/10	patologickoanatomické ¹¹	(+)	+	-	-	-	-	-
	bakteriologické ¹²	-	++	K	-	-	-	-
2625/11	patologickoanatomické	(+)	++	-	-	-	-	-
	bakteriologické	-	++	-	-	-	-	-

Patologickoanatomický nálezn – Pathological-anatomical diagnosis:

- = beze změn – without changes

(+) = suspektní tbc změny – suspected tuberculous changes

+

++ = menší rozsah změn, bez zvětšení mízních uzlin – smaller range of changes, without enlargement of lymphatic glands

+++ = četné tbc změny, mízní uzliny silně zvětšené – numerous tuberculous changes, lymphatic glands strongly enlarged

Bakteriologický nálezn – Bacteriological diagnosis:

- = negativní – negative

+

++ = 20 až 50 kolonií – 20 to 50 colonies

+++ = nad 50 kolonií – above 50 colonies

K = kontaminace – contamination

¹pig No., ²kind of examination, ³lymphatic glands, ⁴mandibular, ⁵mesenterial, ⁶bronchial, ⁷lungs, ⁸liver, ⁹spleen, ¹⁰kidney, ¹¹pathological-anatomical, ¹²bacteriological

(Hejlíček a Tremel, 1993), na velmi nízkou vnímavost k infekci aviárními mykobaktériemi. U hrdliček po infekci kontaminovaným krmivem nevznikly tuberkulózní změny, ani nebyly z jejich tkání a orgánů mykobaktérie izolovány. Po infekci kontaktem s tuberkulózním kurem byly pouze ojedinělé změny prokázány histologicky a mykobaktérie izolovány z jater a ze svalů. V žádném případě nebyla postižena střeva.

Pokus o přenos aviárních mykobaktérií z hrdličky zahradní na prase a kura domácího vyzněl výrazně pozitivně u prasat. I když u žádné z pěti experimentálně infikovaných hrdliček, které byly dány do pokusu jako zdroj aviárních mykobaktérií, nebyly po usmrcení zjištěny tuberkulózní změny ani izolovány mykobaktérie, nutno u nich předpokládat v určité fázi po infekci vylučování mykobaktérií. Na druhé stra-

ně výsledek tohoto pokusu ukazuje na vysokou vnímavost praseta k infekci aviárními mykobaktériemi ve srovnání s kurem domácím. U toho za stejnou dobu kontaktu s hrdličkami a po delším pobytu v kontaminovaném prostředí nevznikla ani alergie, ani se nevytvořily tuberkulózní změny. Pouze u jednoho z pěti jedinců byly v orgánech ojediněle prokázány mykobaktérie. Prasata při tom vytvořila tuberkulózní změny v mízních uzlinách a jedno výrazně reagovalo i na aviární tuberkolin. Lze tedy potvrdit možnost přenosu aviárních mykobaktérií infikovanými hrdličkami na prasata, tak jak jej popsal Volner (1978).

Všechny tři pokusy tedy potvrdily vysokou resistenci hrdličky zahradní k infekci aviárními mykobaktériemi. Výskyt tuberkulózních procesů u ní lze za přirozených podmínek pokládat spíše za výjimečný. I jako zdroj aviárních mykobaktérií, ve srovnání s některými druhy synantropních ptáků, nemá takový význam. Nicméně nelze zcela vyloučit možnost přenosu aviárních mykobaktérií hrdličkami, zejména při jejich akutní a masivní infekci, kdy se mykobaktérie dostávají do různých orgánů a tkání, aniž by se však později vytvořily makroskopické tuberkulózní změny.

Literatura

- BALÁT, F.: Klíč k určování našich ptáků v přírodě. Praha, Academia 1986, 317 s.
- HEJLÍČEK, K. - TREML, F.: Epizootologie a patogenese aviární mykobakterií vrabce domácího (*Passer domesticus*) a vrabce polního (*Passer montanus*). Vet. Med. - Czech, 38, 1993, č. 11.
- HEJLÍČEK, K. - TREML, F.: Epizootologie a patogenese aviární mykobakterií bažanta obecného (*Phasianus colchicus*) koroptve polní (*Perdix perdix*). Vet. Med. - Czech, 38, 1993, č. 11.
- ROSSI, L.: A study of the course of experimental infection with *M. avium* in the *Streptopelia decaocto*. Acta. veter., (Brno), 38, 1969, s. 435 - 439.
- SURVEILLANCE ANTROPOZOONÓZ 1974 - 1989, SVS ÚVO Pardubice.
- ŠVRČEK, Š. - VRTIAK, O. J. - KAPITÁNČÍK, B. - BAUER, T. - KOPPEL, Z.: Volně žijící vtáctvo a domácí holuby jako zdroj aviární tuberkulózy. Rozhl. v tuberkulóze, 26, 1966, s. 659 - 667.
- VOLNER, Z.: Mikobakterie u svinja i prilog znacanju divljih ptica u prijenosu tuberkuloze. Veter. Arh., 48, 1978, 2, s. 107 - 110.

Došlo 7. 6. 1993

HEJLÍČEK, K. - TREML, F. (University of Veterinary and Pharmaceutical Sciences, Brno): Epizootology and pathogenesis of avian mycobacteriosis of collared turtle-dove (*Streptopelia* sp.).

Vet. Med. - Czech, 38, 1993 (10): 619-628.

The collared turtle-dove (*Streptopelia decaocto*) and the turtle dove are common synanthropic bird species. The collared turtle dove in particular comes to close contact with farm animals, including with tuberculosis-infected small poultry on farms. It can thus be infected by avian mycobacteria and to become their further source and disseminator.

Elucidating the occurrence of avian mycobacteriosis in turtle we examined 218 specimens of the collared turtle-doves and 22 specimens of turtle-doves taken in habitats with

different epidemiological setting. We found no pathomorphological tuberculous lesions and isolated no mycobacteria from organs or the contents of intestines in any of them, though we also examined turtles living near poultry farms infected with tuberculosis or near farms where avian tuberculin-positive cattle was reared. Under the same conditions we found repeatedly, e.g. in sparrows, both the tuberculous lesions and mycobacteria. The turtle dove can thus be considered as very resistant to avian mycobacteria and the occurrence of avian mycobacteriosis can be regarded as rather exceptional.

The susceptibility of the collared turtle-dove to avian mycobacteria was verified also by experimental infections. After intramuscular infections of *M. avium* serotype 2 suspension, we demonstrated macroscopic tuberculous lesions only in the site of inoculation from day 21 onwards. The histological lesions were found in the liver, spleen and bone marrow from day 28 after inoculation. However, mycobacteria were isolated from various organs and tissues as early as 12 days after inoculation. Attempts to demonstrate tuberculous lesions and to isolate mycobacteria from the intestines failed. No tuberculous lesions produced in turtle dove within the period of 122 days after peroral infection by food contaminated by TBC poultry livers and bacteriologically examined was negative too. After free contact between TBC poultry and turtle doves the sporadic histological TBC changes in liver were found after 180 days and in one case mycobacteria were isolated from the liver and muscle after 157 days.

The transfer of *M. avium* from TBC infected turtle doves pigs and poultry was successful. After 45 days of joint contact among TBC turtle doves, healthy pigs and poultry in stables and after further stay of pigs and poultry in contaminated environment for additional 65 and 175 days, respectively. In the course of the experiment, 105 days after its onset, marked reaction to avian tuberculin was demonstrated in one pig. Simultaneously with it, the TBC lesions in mandibular and mesenteric lymphatic glands were found. In one pig, mycobacteria were isolated from those suspectedly affected lymphatic glands. In poultry no tuberculin allergy was detectable during the whole course of the experiment and *post mortem* after the termination of the experiment revealed no TBC lesions. Only in one case out of 5 specimens of poultry followed up to the end of the experiment, mycobacteria were isolated from the liver and spleen.

The results of examinations and experiments demonstrated that turtle doves are very resistant to infection with avian mycobacteria. Under natural conditions the occurrence of mycobacterial infection in turtle doves can be regarded as rather exceptional. Even after experimental infections usually only microscopic lesions can be produced, however, soon after inoculation, mycobacteria can be demonstrated in organs and tissues. The transfer of avian mycobacteria from turtle doves to pigs and in limited extent to poultry is possible.

Streptopelia sp.; avian mycobacteriosis; pathogenesis; experimental infection

Contact Address:

Doc. MVDr. František Trnka, CSc., Vysoká škola veterinární a farmaceutická, Palackého 1-3, 612 42 Brno
Tel. 05 41321241, fax 05 41211241

**RACEK CHECHTAVÝ (*LARUS RIDIBUNDUS* L.),
NOVÝ HOSTITELE *CRYPTOSPORIDIUM BAILEYI*
(*APICOMPLEXA: CRYPTOSPORIDIIDAE*)**

I. Pavlásek

Státní veterinární ústav, Praha

Racek chechtavý (*Larus ridibundus* L.) je novým hostitelem *Cryptosporidium baileyi* Current, Upton a Haynes, 1986. V období let 1991 - 1992 během měsíců května až července bylo na šesti různých lokalitách ve třech oblastech České republiky vyšetřeno celkem 264 nelétavých mláďat racků. Kryptosporidie byly zjištěny na všech lokalitách a spontánně bylo nakaženo v průběhu sledování 27,5 - 100 % (v průměru 70,8 %) ptáků. Velikost oocyst ($n = 50$) byla 6,2 - 6,4 x 4,8 - 5,8 μm (průměr 6,4 x 4,9 μm); index oocyst (šířka/délka) byl 0,75 - 0,93 s průměrem 0,77. Kryptosporidiová nákaza byla zjištěna u 22 ze 24 pitvaných uhynulých mláďat. Endogenní vývojová stadia *C. baileyi* byla u 15 utracených spontánně infikovaných racků lokalizována v kaudální části tlustého střeva, v kloace a v burse Fabricii, kde byla infekce nejintenzivnější. U dvou uhynulých a šesti chroptících, následně utracených mláďat racků byla prokázána respiratorní forma kryptosporidiové nákazy. Oocysty kryptosporidií nebyly zjištěny v žádném ze 300 vzorků trusu dospělých racků. Úspěšný byl experimentální přenos kryptosporidiové nákazy prostřednictvím kultury oocyst izolovaných z trusu mláďat racků na pět čtyřdenních kuřat v dávce $5 \cdot 10^5$ oocyst na kuře. Prepatentní perioda byla čtyři dny. Třetí a šestý den po nákaze uhynula dvě kuřata. Endogenní vývojová stadia *C. baileyi* byla detekována v kaudálním úseku tlustého střeva a v kloace, intenzivní byl nález v burse Fabricii. Jedno kuře vylučovalo oocysty po dobu 14 dnů a byla u něho prokázána i respiratorní forma kryptosporidiové nákazy. Oocysty kryptosporidií od racků neztrácejí svoji životaschopnost ani po osmiměsíčním skladování ve 2,5% roztoku dvojchromanu draselného a při teplotě +4 °C, což bylo potvrzeno úspěšnou experimentální infekcí dvou kuřat. Prepatentní perioda byla 5 a 6 dnů, patentní perioda 17 dnů. Na základě dosažených výsledků a v důsledku nízké hostitelské specifity *C. baileyi* lze předpokládat, že *L. ridibundus* se jeví jako významný potenciální zdroj šíření nálezů vyvolaných tímto prvokem mezi volně žijícími i domácími užitkovými ptáky, zvláště již létajícími infikovanými mláďaty racků, kteří svým trusem mohou kontaminovat vodu rybníků, případně jiné vodní zdroje a okolí v životním prostředí.

Cryptosporidium baileyi; *Larus ridibundus*; mláďata racků; oocysty; kryptosporidie; endogenní vývojová stadia; kuřata; experimentální infekce

Údaje o výskytu nálezů vyvolaných kokciemi rodu *Cryptosporidium* u ptáků jsou na rozdíl od savců stále ještě jen velmi sporadické. Poprvé nalezl kryptosporidie

u kuřat T y z z e r (1929) a považoval je za druh *Cryptosporidium parvum*. S l a - v i n (1955) detekoval u krůt *C. meleagridis*. P r o c t o r a K e m p (1974) informují o nálezu *C. anserinum* v tlustém střevě husy domácí. P a v l á s e k (1985) prokázal výskyt kryptosporidií v jednom velkochovu brojlerů v jižních Čechách. P a v l á s e k a P a l k o v i č (1986) zjišťovali dynamiku výskytu spontánních kryptosporidiových nákaz kuřat v provozních podmínkách chovu a podobně jako C u r r e n t aj. (1986) v USA uvádějí, že oocysty kryptosporidií od kuřat se liší velikostí od druhu *C. parvum* ze savců (telat, jehňat, myší). Posledně jmenovaní autoři označili tuto ptačí kryptosporidii druhově jako *Cryptosporidium baileyi* Current, Upton a Haynes, 1986. Výsledky studií vývojového cyklu rodu *Cryptosporidium* u kuřat, které jsme prováděli v období let 1984 - 1986 (P a v l á s e k 1987a) byly prakticky shodné s výsledky výzkumů této problematiky prováděných autory C u r r e n t aj. (1986). V souladu s těmito autory bylo rovněž i zjištěno, že *C. baileyi* se vyznačuje nízkou hostitelskou specificitou, což je významné zejména z hlediska možnosti šíření této protozoární infekce mezi různými domácími i volně žijícími ptáky (P a v l á s e k , 1989).

Cílem tohoto sdělení je informovat o vůbec prvních nálezech a prevalenci *C. baileyi* u racka chechtavého (*L. ridibundus* L.) na některých vybraných lokalitách v České republice. Součástí této studie jsou údaje o morfometrické charakteristice oocyst *C. baileyi*, jejich životaschopnosti a lokalizaci endogenních vývojových stadií prvoka u spontánně nakažených mláďat racků.

MATERIÁL A METODY

ZJIŠŤOVÁNÍ VÝSKYTU KOKCIDIÍ RODU *CRYPTOSPORIDIUM* U RACKŮ

V období let 1991 - 1992 během měsíců května až července byl zjišťován výskyt kokcidíí rodu *Cryptosporidium* u racků na šesti různých lokalitách ve třech oblastech České republiky. V jižních Čechách na lokalitě č. 1 (Třeboňsko) bylo ve dvou odběrech vyšetřeno 23 mláďat racků, na lokalitách č. 2 a 3 (Českobudějovicko) bylo v měsíci červnu roku 1992 vyšetřeno 39 ptáků. Ve středních Čechách (Kolínsko) bylo v červnu roku 1992 jednorázově vyšetřeno 30 mladých racků. Ve východních Čechách (Chlumecko) byla prevalence kryptosporidií u racků zjišťována na jedné lokalitě v červnu 1992 u 15 ptáků a na druhé lokalitě, v období od 27. 5. do 11. 7. 1992, bylo uskutečněno sedm opakovaných sledování, při kterých bylo vyšetřeno celkem 157 nelétavých mláďat racků. Údaje o počtech vyšetření a termínech odběrů vzorků na jednotlivých lokalitách hnízdních kolonií racků jsou uvedeny v tab. I. Metodami podle P a v l á s k a (1987a, b, 1991) bylo vyšetřeno celkem 264 mláďat racků ve věku asi 4 - 30 dnů.

V první polovině června v obou sledovaných letech bylo flotačně-centrifugační metodou podle B r e z y (1957) vyšetřeno 50 vzorků trusu dospělých racků (celkem 300 vzorků) z každého hnízdiště.

V nativních preparátech zhotovených z tekutiny výplachů kloak racků (P a v l á s e k , 1987a) bylo v případě pozitivního nálezu proměřeno (okulár H 8x, objektiv 100x) z každé lokality 50 oocyst kryptosporidií.

STUDIUM LOKALIZACE ENDOGENNÍCH VÝVOJOVÝCH STADIÍ KRYPTOSPORIDIÍ U SPONTÁNNĚ NAKAŽENÝCH RACKŮ

Za účelem zjištění lokalizace endogenních vývojových stadií rodu *Cryptosporidium* a jejich druhového určení byla z každé lokality pitvána nejméně dvě uhynulá mláďata racků (celkem 24 ptáků). Dále bylo na lokalitě č. 1 v jižních Čechách utraceno 5 racků a na lokalitě č. 2 ve východních Čechách 10 racků přibližně stejného věku (asi do 20 dnů). Metodou podle Giemsy byly barveny po fixaci absolutním metanolem seškraby slizničních epitelů duodena, po celé délce tenkého střeva (ve vzdálenosti 2 - 3 cm), malých výběžků slepých střev, tlustého střeva, kloaky a bursy Fabricii, orgánů dýchacího ústrojí, otisky ledvin a seškraby močovodů. Histologicky byly vyšetřovány vzorky bursy Fabricii od osmi utracených spontánně nakažených mláďat racků. Řezy byly po odparafinování barveny vlhkou metodou podle Giemsy a hematoxylin-eosinem.

METODA EXPERIMENTÁLNÍCH NÁKAZ KUŘAT (*GALLUS GALLUS* F. *DOMESTICA*) OOCYSTAMI KRYPTOSPORIDIÍ OD SPONTÁNNĚ NAKAŽENÝCH RACKŮ A OVĚŘOVÁNÍ JEJICH ŽIVOTASCHOPNOSTI

Kulturou oocyst kryptosporidií získaných od spontánně nakažených racků bylo experimentálně, v dávce $5 \cdot 10^5$ oocyst na kuře, nakaženo perorálně pět čtyřdenních kuřat. Dvě neinfikovaná kuřata sloužila jako kontrolní. Po dobu 30 dnů trvání experimentu byla všechna kuřata od 3. dne po nákaze denně vyšetřována metodami podle Pavlása (1987a, b). U uhynulých kuřat během tohoto sledování byla zjišťována vývojová stadia kryptosporidií v orgánech a tkáních způsobem a metodami uvedenými výše.

Kultura oocyst kryptosporidií získaných z trusu spontánně nakažených racků na lokalitě č. 2 v jižních Čechách (z 10. 6. 1992) byla až do února 1993 uskladněna ve 2,5% roztoku dvojchromanu draselného při teplotě +4 °C. Jejich životaschopnost byla ověřena experimentální nákazou dvou pětidenních kuřat v dávce $3 \cdot 10^5$ oocyst na kuře. Pokus trval 30 dnů a během tohoto období byly oocysty kryptosporidií u nakažených kuřat detekovány metodami výplachů kloaky a dutiny zobáku podle Pavlása (1987a, b).

VÝSLEDKY

SPONTÁNNÍ NÁKAZY RACKŮ KRYPTOSPORIDIEMI A MORFOMETRICKÁ CHARAKTERISTIKA OOCYST PRVOKA

Výskyt kokcií rodu *Cryptosporidium* u spontánně nakažených mláďat racků na jednotlivých lokalitách je uveden v tab. I. Průběh kryptosporidiové nákazy na hnízdní kolonii lokality č. 2 ve východních Čechách v období od 27. 5. do 11. 7. 1992 je znázorněn na obr. 1 a v tab. II. Z dosažených výsledků vyplývá, že mláďata racků byla kryptosporidiemi nakažena na všech šesti lokalitách tří různých oblastí České republiky. Prevalence se pohybovala mezi 27,5 a 100 %; z celkového počtu 264 vyšetření byla průměrná prevalence 70,8 %. Oocysty kryptosporidií byly dete-

I. Prevalence *C. baileyi* u spontánně nakažených mláďat *L. ridibundus* – Course of prevalence of *C. baileyi* in naturally infected *L. ridibundus* chicks

Lokalita ¹		Rok ⁵	Datum odběru ⁶	Počet vyšetřených racků ⁷	Počet nakažených racků ⁸	Procento nakažených racků ⁹
Jižní Čechy ²	1	1991	21. 6.	11	4	(36,4)
			1. 7.	12	10	(83,3)
	2	1992	5. 6.	17	6	(35,3)
			10. 6.	11	6	(54,5)
			10. 6.	11	7	(63,4)
Střední Čechy ³	1	1992	20. 6.	30	25	(83,3)
Východní Čechy ⁴	1	1992	23. 6.	15	8	(53,3)
	2		25. 7. až 11. 7.	157	121	(77,1)

¹location, ²Southern Bohemia, ³Central Bohemia, ⁴Eastern Bohemia, ⁵year, ⁶day of sampling, ⁷number of gulls examined, ⁸number of gulls infected, ⁹percentage of gulls infected

kovány u 35 racků (13,3 %) i ve výplších zobákové dutiny (respirační forma kryptosporidiové nákazy).

Intenzita výskytu oocyst kryptosporidií byla při vyšetřování infikovaných racků ve většině případů velmi vysoká (v jednom zorném poli mikroskopu při zvětšení 400x bylo v průměru 4 - 10 oocyst). Uvedenou metodou vyšetřování bylo možné detekovat často volně se pohybující merozoity i sporozoity. Tekutina výplachů obsahovala odloupané zbytky sliznice z kloaky s různými endogenními stadii kryptosporidií, zejména při velmi silném stupni infekce.

V žádném ze 300 vzorků trusu dospělých racků vyšetřovaných na jednotlivých lokalitách v době jejich hnízdění přítomnost oocyst kryptosporidií nebyla prokázána.

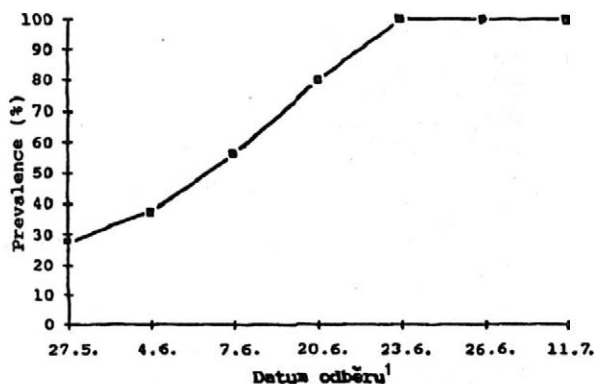
Oocysty kryptosporidií od mláďat racků byly oválného tvaru, většinou již vyspoulené. Stěna oocysty byla hladká, bezbarvá, kolem dobře zřetelného ovoidního zbytkového tělíska byli zformováni podél jedné stěny čtyři sporozoity s jádrem umístěným v zadním konci sporozoitu. Velikost oocyst byla 6,2 - 6,4 x 4,8 - 5,8 µm (průměr 6,4 x 4,9 µm). Index oocyst (šířka/délka) byl 0,75 - 0,93, průměr 0,77.

LOKALIZACE ENDOGENNÍCH VÝVOJOVÝCH STADIÍ KRYPTOSPORIDIÍ U UHYNULÝCH A UTRACENÝCH MLÁĐAT RACKŮ

Ze všech sledovaných lokalit bylo vypitváno celkem 24 uhynulých racků ve věku 14 - 20 dnů. Kryptosporidii bylo nakaženo 22 mláďat. Endogenní vývojová stadia a oocysty prvoka byly zjištěny v roztěrech kloaky a bursy Fabricii. Ve dvou případech byl pozitivní nález kryptosporidií i v orgánech dýchacího ústrojí (*sinus infraorbitalis*, hrtan, trachea, bronchy). Asexuální a sexuální vývojová stadia

1. Prevalence *C. baileyi* u spontánně nakažených mláďat *L. ridibundus* na lokalitě č. 2 ve východních Čechách – Course of prevalence of *C. baileyi* in naturally infected *L. ridibundus* chicks in the location 2 in the Eastern Bohemia

¹ day of sampling

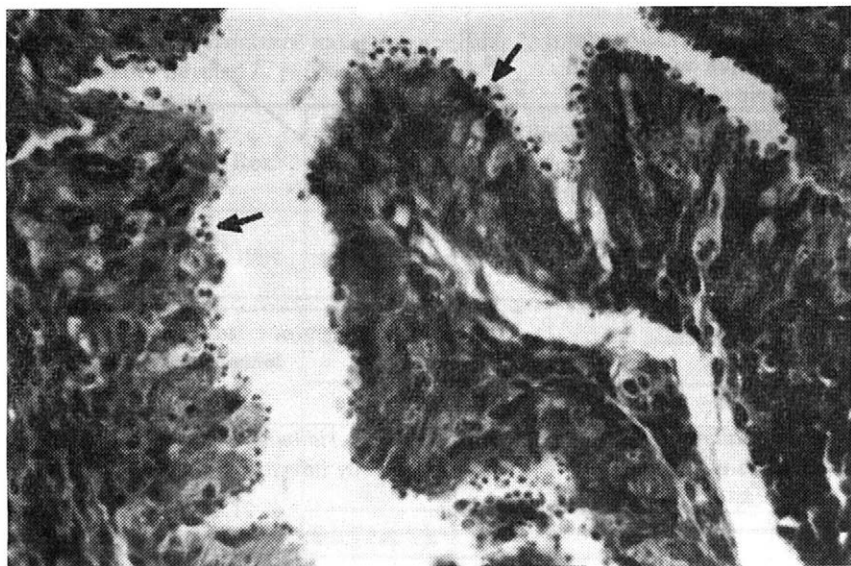


II. Prevalence *C. baileyi* u spontánně nakažených mláďat *L. ridibundus* na lokalitě č. 2 ve východních Čechách – Course of prevalence of *C. baileyi* in naturally infected *L. ridibundus* chicks in the location 2 in the Eastern Bohemia

Rok ¹	Datum odběru ²	Počet vyšetřených racků ³	Počet nakažených racků ⁴	Procento nakažených racků ⁵
1992	27. 5.	18	5	(27,5)
	4. 6.	16	6	(37,5)
	7. 6.	18	10	(55,6)
	20. 6.	25	20	(80)
	23. 6.	30	30	(100)
	26. 6.	25	25	(100)
	11. 7.	25	25	(100)

¹ year, ² day of sampling, ³ number of gulls examined, ⁴ number of gulls infected, ⁵ percentage of gulls infected

kryptosporidií byla u 15 utracených racků lokalizována v kaudální části tlustého střeva (1 - 2 cm před ústím do kloaky) a v kloace. Velmi masívní byly nálezy především v bursě Fabricii (obr. 2). U 6 chroptících racků z obou lokalit byli detekováni v nativních preparátech z rozetřů a otisků dýchacích ústrojí volně se pohybující me-rozoiti a pravděpodobně i sporozoiti. Všechna doposud známá endogenní vývojová stadia kryptosporidií byla zjištěna i v barvených rozetřech mukóz sliznice hrtanu, trachey a bronchů. Oocysty, pravděpodobně uvolněné z dýchacích orgánů a následně polknuté, byly nalezeny v některých případech i v obsahu jícnu a v za-žitině tenkého střeva.



2. Vývojová stadia *C. baileyi* (šipky) na povrchu sliznice vystýlající dutinu váčku bursy Fabricii u spontánně nakaženého mláděte racka; barveno metodou podle Giemsy, zvětšeno 200x – Developmental stages of *C. baileyi* (arrows) on the surface of the mucosa covering the cavity of the vesiculum of bursa of Fabricius in the naturally infected gull chicken (Giemsa, stain 200x)

VÝSLEDKY EXPERIMENTÁLNÍCH NÁKAZ KUŘAT OOCYSTAMI KRYPTOSPORIDIÍ OD SPONTÁNNĚ NAKAŽENÝCH RACKŮ A OVĚŘENÍ JEJICH INFEKCESCHOPNOSTI PO DLOUHODOBÉM SKLADOVÁNÍ V LABORATORNÍCH PODMÍNKÁCH

Prepatentní perioda po nákaze pěti čtyřdenních kuřat oocystami kryptosporidií od spontánně nakažených mláďat racků byla čtyři dny. Třetí a šestý den po nákaze uhynula dvě kuřata. Vývojová endogenní stadia prvoka byla lokalizována v dolní části tlustého střeva, v kloace a bursě Fabricii. U kuřat uhynulých 6. den po infekci byla zjištěna asexuální stadia kryptosporidií v trachey a bronších. Nákazu přežilo jedno kuře. Oocysty vylučovalo po dobu 14 dnů. U tohoto kuřete byla diagnostikována kloakální, bursální i respirační forma kryptosporidiové infekce. Kontrolní kuřata byla po dobu 30denního sledování negativní.

Bylo zjištěno, že oocysty kryptosporidií od racků neztrácejí svoji infekceschopnost po osmiměsíčním uskladnění v laboratorních podmínkách při teplotě +4 °C. Prepatentní perioda u dvou pětidenních kuřat experimentálně perorálně nakažených touto kulturou oocyst byla 5 a 6 dnů. Obě kuřata vylučovala typické oocysty ptačí kryptosporidie a patentní perioda trvala 17 dnů. U jednoho z těchto dvou kuřat byla diagnostikována od 11. dne po nákaze, po dobu 6 dnů, i respirační forma kryptosporidiové nákazy. Dvě kontrolní kuřata byla po celou dobu 30denního trvání experimentu na přítomnost oocyst kryptosporidií negativní.

Při porovnávání nálezů oocyst kryptosporidií od spontánně nakažených mladých nelétavých racků s údaji v úvodu citovaných autorů i na základě vlastních dlouholetých zkušeností a současných znalostí o druhovém spektru kokcií rodu *Cryptosporidium* lze zcela jednoznačně konstatovat, že jejich morfometrické charakteristiky jsou identické s druhem *C. baileyi*. Také lokalizace endogenních vývojových stadií u uhynulých a utracených mláďat byla shodná s tímto ptačím druhem kryptosporidie. Úspěšný experimentální přenos nákazy prostřednictvím kultury oocyst izolovaných od racků na kuřata, její průběh, lokalizace asexuálních a sexuálních stadií, délka prepatentní a patentní periody svědčí o tom, že racek chechtavý (*L. ridibundus* L.) je novým hostitelem *C. baileyi* Current, Upton a Haynes, 1986.

Při depistážních studiích bylo zjištěno, že *C. baileyi* bylo nakaženo 27,5 - 100 % (v průměru 70,8 %) mláďat racků odchycených na hnízdnicích koloniích nebo na vodní ploše rybníků všech šesti lokalit tří různých oblastí České republiky. Téměř dvoutměsíční opakovaná vyšetřování racků na jedné a téže lokalitě prokázala, že samotné hnízdění se stává postupem času zdrojem nákaz pro nově vylhlá mláďata. Koncem května, v období počátku líhnutí ptáků, bylo kryptosporidie nakaženo pouze 5 z 18 (27,5 %) racků. V polovině července se kryptosporidie vyskytovaly již u všech vyšetřovaných mláďat přibližně stejné věkové kategorie jako v květnu. Za zajímavé pokládáme zjištění o výskytu respirační formy kryptosporidiové nákazy racků a rovněž i skutečnost, že *C. baileyi* bylo infikováno 22 z 24 (91,7 %) pitvaných uhynulých mláďat.

Zodpovědně lze konstatovat, že se v terénních podmínkách velmi osvědčily všechny tři naše metody detekce oocyst a diagnostiky kryptosporidiové nákazy u ptáků (P a v l á s e k, 1987a, b, 1991) a že nálezy oocyst *C. baileyi*, případně i vývojových stadií tohoto prvoka, v tekutině výplachů kloak a dutin zobáků korespondovaly s nálezy parazita v roztěrech slizničních epitelů kloak, bursy Fabricii a orgánů dýchacího ústrojí barvených metodou podle Giemsy.

Za velmi významné z hlediska možnosti přežívání oocyst *C. baileyi* z racků ve vnějším prostředí lze považovat zjištění o uchování jejich infekčnosti i po osmiměsíčním skladování v laboratorních podmínkách, kdy u experimentálně nakažených kuřat vyvolala tato kultura oocyst obvyklý průběh kryptosporidiové infekce.

Výsledky experimentálních přenosů infekcí prostřednictvím oocyst získaných od spontánně nakažených mláďat racků na kuřata potvrdily tedy i v této práci nízkou hostitelskou specifitu druhu *C. baileyi* jak uvádějí např. Current aj. (1986) a P a v l á s e k (1987a, 1989). Zjištěná vysoká incidence a prevalence *C. baileyi* u mladých racků podtrhuje proto význam těchto volně žijících ptáků jako možného potenciálního zdroje šíření nákaz tímto druhem kryptosporidie v životním prostředí jak mezi dalšími volně žijícími ptáky, tak i domácí užitkovou drůbeží.

POZNÁMKA

V období, které uplynulo od předání rukopisu práce do redakce tohoto časopisu až do doby jeho schválení k publikování byla provedena experimentální nákaza pěti dvoudenních kuřat stejnou kulturou oocyst *C. baileyi* a v téže infekční dávce po jejich jednorozhodném uchovávání v laboratorních podmínkách (viz kapitola Materiál a metody). Kryptosporidii se úspěšně nakazila všechna kuřata. Prepatentní perioda byla 8 - 10 dnů, patentní perioda trvala v průměru 10 dnů.

Poděkování

Autor práce si dovoluje vyslovit poděkování ing. L. Karáskovi za laskavou pomoc při technickém zpracování výsledků pomocí počítače a za obětavou spolupráci na překladu souhrnu do angličtiny prom. fil. Z. Polákově, pracovníkům Státního veterinárního ústavu v Praze.

Literatura

- BREZA, M.: Niekoľko praktických poznatkov a námetov k helmintokoprologickéj diagnostike. *Helmintológia*, 1, 1957, s. 57-65.
- CURRENT, W. L. - UPTON, S. J. - HAYNES, T. B.: The life cycle *Cryptosporidium baileyi* n. sp. (*Apicomplexa: Cryptosporidiidae*) infecting chickens. *J. Protozool.*, 33, 1986, s. 289-296.
- PAVLÁSEK, I.: The finding of *Cryptosporidium* sp. in sinus infraorbitalis in a chicken. *J. Protozool.*, 30 A, 1985, s. 94.
- PAVLÁSEK, I. - PALKOVIČ, L.: Spontánní kryptosporidiózní infekce kuřat. *Veterinářství*, 36, 1986, s. 131-132.
- PAVLÁSEK, I.: Studies on the life cycle of *Cryptosporidium* coccidia in experimentally infected chickens. *Folia parazit.*, (Praha), 34, 1987a, s. 193-197.
- PAVLÁSEK, I.: Rychlá metoda detekce oocyst kokcií rodu *Cryptosporidium* u kuřat. *Veter. Med.* (Praha), 32, 1987b, s. 509-510.
- PAVLÁSEK, I.: Nejvýznamnější endoparazitární nákazy hospodářských zvířat. I. Kryptosporidie. II. a III. Giardie a smíšené parazitární nákazy. [Doktorská disertace.] České Budějovice 1989, 599 s. - Parazitologický ústav ČSAV.
- PAVLÁSEK, I.: Využití glycerínu při detekci oocyst *Cryptosporidium parvum* a *C. baileyi* v trusu savců a ptáků. *Veter. Med.* (Praha), 36, 1991, s. 255-256.
- PROCTOR, S. J. - KEMP, R. L.: *Cryptosporidium anserinum* sp. n. (Sporozoa) in a domestic goose *Anser anser* L., from Iowa. *J. Protozool.*, 21, 1974, s. 664-666.
- SLAVIN, D.: *Cryptosporidium meleagridis* (sp. n.). *J. Comp. Path.*, 65, 1955, s. 262-266.
- TYZZER, E. E.: Coccidiosis in gallinaceous birds. *Amer. J. Hyg.*, 10, 1929, s. 269-383.

Došlo 3. 5. 1993

PAVLÁSEK, I. (State Veterinary Institute, Praha):

Black-headed gull (*Larus ridibundus* L.), a new host of *Cryptosporidium baileyi* (Apicomplexa: Cryptosporidiidae).

Vet. Med. - Czech, 38, 1993 (10): 629-638.

Black-headed full (*L. ridibundus* L.) represents a new host of *C. baileyi* Current, Upton and Haynes, 1986. In 1991 - 1992 during the months of May - July six localities in three regions of the Czech Republic were studied by examining in total 264 not flying gull chicks (4 - 30 days of age), applying the methods after P a v l á s e k (1987a, b, 1991). Cryptosporidia were found in gulls in all localities and spontaneous infection during the period under study occurred in 27.5 - 100 % of birds (Tab. II, Fig. 1). The size of oocysts was 6.2 - 6.4 by 4.8 - 5.8 μm with means of 6.4 by 4.9 μm . The oocyst index (width/length) was 0.75 - 0.93 with means of 0.77. *C. baileyi* infection was demonstrated in 22 out of 24 dead gull chicks submitted to autopsy. From two localities total 15 gulls were killed, the examination of which revealed oocyst occurring in masses in the fluid from cloacal washes. Asexual and sexual endogenous developmental stages, including *C. baileyi* oocysts, in all birds undergoing autopsy were localized in caudal part of colon (1 - 2 cm from opening into cloaca) and in the cloaca. Findings of cryptosporidia were very frequent, above all, in the bursa Fabricii. In two dead and six with snoring disease, subsequently killed gull chicks, respiratory form of infection was demonstrated with simultaneous proof of endogenous developmental stages including oocysts in smears of mucous epithelium of sinus infraorbitalis, larynx, trachea and bronchi using the Giemsa stain after fixation with absolute methanol. An experimental transmission of infection by isolates of *C. baileyi* oocysts from gulls to five 4-day chicks (*Gallus gallus* f. *domestica*) using the dosis of $5 \cdot 10^5$ oocysts/chick was successful. The prepatent period lasted 4 days. On day 3 and 6 after infection two chicks died. The developmental stages of the protozoon were found in the lower part of colon, in cloaca and in bursa Fabricii. In chicks dead on day 6 after infection asexual stages of cryptosporidia were found in trachea and in bronchi. One chick survived the infection and excretion of oocyst (patent period) lasted 14 days. In this bird cloacal, bursal as well as respiratory form of *C. baileyi* infection was found. Control chicks were negative during the observation of 30 days. Oocysts from gulls do not lose their viability even after 8-month storage in the 2.5% solution of $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ at the temperature of 4 °C. In two chicks experimentally infected with these oocysts with the dose of $3 \cdot 10^5$ oocysts/chick; the prepatent period lasted 5 and 6 days, the patent period was 17 days. On the basis of morphometrical data on oocysts, localization of endogenous developmental stages in naturally infected, dead and killed gull chicks, successful transmission and course of experimental infection in chicks (*G. gallus*) cryptosporidia in black-headed gulls (*L. ridibundus*) were undoubtedly determined as *C. baileyi*. In adult gulls the presence of cryptosporidia has not been determined. In conclusion, the paper discusses the problems of significance of *L. ridibundus* as a potential source of spread of infections by cryptosporidia between free living and

domesticated birds, both water fowl and poultry as a result of low host specificity of *C. baileyi*. At the same time, the significance of problems of contamination of water in ponds and other water sources by *C. baileyi* oocysts, excrements of infected gull chicks, above all, in the time of the top of their hatching season and during their maximum concentration on relatively small and limited area of nest colonies, problems not studied till now, are stressed. Attention is drawn to probability of spread of infection by cryptosporidia within the environment during this season both by young, already flying gulls and by adult birds which may have oocysts of the *C. baileyi* under study in this article adhered on different parts to their bodies.

Cryptosporidium baileyi; *Larus ridibundus* L.; gull chicks; oocysts; cryptosporidia; endogenous developmental stages; chickens (*Gallus gallus* f. *domestica*); experimental infections

Contact Address:

Ing. Ivan P a v l á s e k, DrSc., Státní veterinární ústav, Sídlištní 24/136, 165 03 Praha 6-
-Lysolaje, Czech Republic
Tel. 02 344600-9, fax 02 344291

INSTITUTE OF AGRICULTURAL AND FOOD INFORMATION**Slezská 7, 120 56 Praha 2, Czech Republic****Fax.: (00422) 257 090**

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

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

Periodical	Number of	
	issues per year	pages
Rostlinná výroba (Plant Production)	12	96
Veterinární medicína (Veterinary Medicine - Czech)	12	64
Živočišná výroba (Animal Production)	12	96
Zemědělská ekonomika (Agricultural Economics)	12	96
Lesnictví (Forestry)	12	48
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

**Ústav zemědělských a potravinářských informací
Slezská 7, 120 56 Praha 2**

**UPOZORNĚNÍ PRO ODBĚRATELE
VĚDECKÝCH ČASOPISŮ ČAZV A SAPV**

Od roku 1994 bude zajišťovat distribuci vědeckých časopisů vydavatel
- Ústav zemědělských a potravinářských informací Praha.

Věříme, že i v dalších letech zůstanete odběrateli našeho vědeckého
časopisu, a proto Vás žádáme, abyste nám

**co nejdříve zaslali objednávku
na předplatné časopisu,**

který budete v roce 1994 odebírat - nejpozději **do 30. 11. 1993**

	Periodicita	Rozsah	Předplatné
Rostlinná výroba	12	96 s.	420,-
Živočišná výroba	12	96 s.	420,-
Veterinární medicína	12	64 s.	360,-
Zemědělská ekonomika	12	96 s.	420,-
Lesnictví	12	48 s.	420,-
Potravinářské vědy	6	80 s.	192,-
Zemědělská technika	4	80 s.	128,-
Ochrana rostlin	4	80 s.	128,-
Genetika a šlechtění	4	80 s.	128,-
Zahradnictví	4	80 s.	128,-

Objednávky zasílejte na adresu:

Ústav zemědělských a potravinářských informací
referát odbytu - pí Tejčková
Slezská 7
120 56 Praha 2

OBSAH – CONTENTS

Baranová M., Maľa P., Burdová O.: Prestup dusičnanov a dusitanov do mlieka dojnic cestou tráviaceho traktu – The transfer of nitrates and nitrites into milk of dairy cows through digestive system	581
Koniarová I., Orság A., Ledecký V.: Podiel anaeróbov na ochorení <i>dermatitis digitalis et interdigitalis</i> u hovädzieho dobytku – The role of anaerobe in the occurrence of <i>dermatitis digitalis et interdigitalis</i> in cattle.	589
Bíreš J., Michna A., Bartko P., Pistl J., Juhásová Z.: Suplementácia zinku, selénu a medi cestou čepco-bachorových peliet a jej vplyv na úroveň celulárnej a humorálnej odpovede u oviec – Zinc, selenium and copper supplementation through reticulum-rumen pellets and its effect on the rate of cellular and humoral reactions in sheep	597
Šutiaková I., Dalliová K., Šutiak V., Pijáková N.: Izoenzýmy laktátdehydrogenázy u plemenných oviec a barančekov – Isoenzymes of lactate dehydrogenase in pure- and crossbred ewes and rams	609
Hejlíček K., Tremel F.: Epizootologie a patogenéze aviární mykobakteriázy hrdličky (<i>Streptopelia</i> sp.) – Epizootology and pathogenesis of avian mycobacteriosis of collared turtle-dove (<i>Streptopelia</i> sp.)	619
Pavlásek I.: Racek chechtavý (<i>Larus ridibundus</i> L.) nový hostitel <i>Cryptosporidium baileyi</i> (Apicomplexa: Cryptosporidiidae) – Black headed gull (<i>Larus ridibundus</i> L.), a new host of <i>Cryptosporidium baileyi</i> (Apicomplexa: Cryptosporidiidae)	629



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.