

ÚSTAV ZEMĚDĚLSKÝCH A POTRAVINÁŘSKÝCH
INFORMACÍ

VETERINÁRNÍ MEDICÍNA

5

Číslo 39 (LXVII)
rok 1994
ISSN 0375-8427

ČESKÁ AKADEMIE ZEMĚDĚLSKÝCH VĚD
SLOVENSKÁ AKADEMIA PÔDOHOSPODÁRSKYCH VIED

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

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

Editorial Board - Redakční rada

Prof. MVDr. Jan B o u d a , DrSc., University of Veterinary and Pharmaceutical Sciences, Brno, Czech Republic

MVDr. Ivan H e r z i g , 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

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

INDUKCE PORODU U KRAV A JEJÍ VLIV NA VÝVOJ BIOCHEMICKÝCH A HEMATOLOGICKÝCH UKAZATELŮ V KRVÍ TELAT

J. Bouda, J. Doubek, J. Mužík, J. Toth

Vysoká škola veterinární a farmaceutická, Brno

Ověřovali jsme vliv indukce porodu v posledních 1 - 2 týdnech gravidity na zdravotní stav telat a vybrané biochemické a hematologické ukazatele. Do sledování jsme zařadili 26 krav, z toho 14 (pokusná skupina) jsme aplikovali intramuskulárně 500 µg syntetického analogu prostaglandinu F₂ α-cloprostenolu. Zbývajících 12 krav tvořilo kontrolní skupinu. V krvi telat před příjmem kolostra za 24 h, 5 a 15 dní po příjmu první dávky kolostra jsme stanovili acidobazický stav, hematokrit a počet leukocytů, v krevní plazmě koncentrace glukózy, močoviny, Na, K, Ca, anorganického P, hladiny vitaminů A a E a aktivity AST a GMT. Obdobná vyšetření krve, resp. krevní plazmy, rozšířená o screeningová vyšetření moči, byla provedena u krav jeden měsíc před a jeden měsíc po porodu. Vyšetřením vysokobřezích krav jsme nezjistili odchylky od normálního stavu. Po porodu jsme u 87 % krav pokusné skupiny zjistili retenci plodových obalů, v kontrolní skupině jen u 9,8 %. Všechna telata v pokusu vykazovala dobrou vitalitu, velmi dobrý zdravotní stav po dobu 15denního sledování. Rovněž jsme nezjistili významné rozdíly v porodní hmotnosti a přírůstcích pokusné a kontrolní skupiny telat. Ze sledovaných ukazatelů v krvi, resp. krevní plazmě telat pokusné skupiny jsme zjistili před příjmem kolostra významně snížené hladiny glukózy, vitaminu E, aktivity GMT a počet leukocytů. Naopak hladiny anorganického P byly ve srovnání s kontrolní skupinou telat vyšší. Za 5 a 15 dní po porodu nebyly ve sledovaných biochemických parametrech mezi pokusnou a kontrolní skupinou významné rozdíly, s výjimkou hladin vitaminu A. Indukce porodu provedená u krav v posledních dnech gravidity neměla negativní vliv na zdraví a další vývoj telat.

kráva; indukce porodu; tele; vitalita; krev; plazma; acidobazický stav; hematokrit; leukocyty; glukóza; močovina; minerálie; vitaminy A, E

V našich předchozích pokusech a sledováních jsme prokázali, že zdravotní stav telat je mj. závislý na zdravotním stavu březích krav (B o u d a aj., 1981, 1990; J a g o š aj., 1985; K u d l á č, 1985). Indukce porodu však představuje určitý zásah do gravidního organismu s následným dopadem do vztahu matka-mláďe. V naší práci jsme se nezaměřovali na vlastní metodu indukce porodu, neboť této problematice věnovali patřičnou pozornost z našich autorů K u d l á č aj. (1979, 1980), V ě ž n í k aj. (1979), J í r a n aj. (1981) a M u ž í k (1982).

Cílem této práce bylo ověření vlivu indukce porodu u vysokobřezích krav, vyvolané aplikací syntetického analogu prostaglandinu F₂ α-cloprostenolu, na základní ukazatele zdraví a vybrané biochemické a hematologické ukazatele u telat.

MATERIÁL A METODY

Sledování jsme provedli v zimním období na 26 vysokobřezích kravách, kříženkách českého strakatého a černostrakatého plemene. V pokusné skupině bylo 14 krav, v kontrolní 12 krav po 1. až 3. laktaci. Kravám byla předkládána krmná dávka na bázi kukuřičné siláže a senáže z víceletých píceň, doplněná o 3 kg sena a směs DOB.

Indukce porodu byla prováděna u krav *i. m.* 500 µg syntetického analogu prostaglandinu F₂ α-cloprostenolu (Oestrophan Spofa) v rozmezí od 266. do 276. dne gravidity. Telata byla po narození a ošetření pupečního pahýlu zvážena a umístěna v profylaktoriu. První tři dny po narození byla napájena z misek mlezivem vlastní matky, a to čtyřikrát denně v šestihodinových intervalech. Od 4. dne pila třikrát denně směsné kolostrum a pak mléko. Seno, směs ČOT 1 a voda byly k dispozici *ad libitum* od 7. dne věku telat.

Klinické vyšetření a odběr krve a moči byly provedeny u krav čtyři týdny před a čtyři týdny po porodu (J a g o š aj., 1981). Po aplikaci prostaglandinu byl zdravotní stav krav a jejich telat sledován průběžně. Vitalita telat byla hodnocena třibodovým posuzováním kvality dechu, reflexní dráždivosti a reaktivity, svalového tonu, vzhledu viditelných sliznic a svalového reflexu (K u d l á č a S c h u l z , 1983; M u ž í k aj., 1983).

Odběr krve z *v. jugularis* byl u telat proveden před prvním napitím kolostra (do 15 min po porodu) a dále za 24 h, 5 a 15 dní po prvním příjmu kolostra. V krvi byly stanoveny hodnoty ukazatelů acidobazické rovnováhy (pH, BE, SB, pCO₂), hematokrit mikrometodou a počet leukocytů na přístroji Coulter Counter. V krevní plazmě byly stanoveny koncentrace glukózy, močoviny, Na, K, Ca, anorganického P, katalytické aktivity AST, GMT a hladiny vitamínů A a E. Biochemická a hematologická vyšetření u telat a krav byla provedena metodami, které uvádějí J a g o š aj. (1981) a B o u d a a J a g o š (1984).

VÝSLEDKY

Klinickým a laboratorním vyšetřením vysokobřezích krav v období před indukci porodu nebyly zjištěny významné odchylky od normy. Interval od indukce k porodu činil 41 h 5 min s rozmezím 33 - 52 h. Retence plodových obalů byla zjištěna u 87 % krav pokusné skupiny a u 9,8 % krav kontrolní skupiny. Vliv indukce porodu na porodní hmotnost telat nebyl statisticky průkazný. Průměrná hodnota tohoto ukazatele činila u pokusné skupiny 38,3 kg, u kontrolní 40,2 kg. Všechna telata (kontrolní i pokusná) prokazovala dobrou vitalitu. Bodovým způsobem hodnocená vitalita dosáhla u pokusné skupiny 12,98, u kontrolní skupiny 12,58 a uvedený rozdíl nebyl signifikantní. Po indukci porodu byl u 50 % krav pokusné skupiny zjištěn při prvním podojení snížený nádoj kolostra (1,2 - 1,7 l). U kontrolní skupiny neklesl nádoj pod 2 l.

Telata pokusné skupiny krav přijala první mlezivo v průměru za 2 h 45 min v dávce 1,63 l. Telata kontrolní skupiny krav přijala první mlezivo v průměru za 1 h 40 min v dávce 1,82 l. Do 8 h po narození přijala telata pokusné skupiny včetně druhého napojení 3,45 l mleziva, telata kontrolní skupiny 3,54 l mleziva.

Snížené hladiny Ig v krevním séru (pod 20 zinksulfátových jednotek) byly zjištěny ve věku dvou dnů u 21,4 % telat pokusné skupiny a u 16,7 % telat kontrolní skupiny.

Vývoj vybraných biochemických a hematologických parametrů u obou skupin je uveden v tab. I - IV. V souboru sledovaných biochemických ukazatelů v krevní plazmě telat pokusné skupiny před prvním podáním kolostra (10 - 15 min po porodu) bylo zjištěno významné snížení hladiny glukózy ($P < 0,01$), aktivity GMT ($P < 0,01$) a hladiny vitamínu E ($P < 0,05$); naopak koncentrace anorganického P byla ve srovnání s kontrolní skupinou telat signifikantně zvýšena ($P < 0,01$). Plazmatické hladiny glukózy v krvi telat od pokusné skupiny krav byly významně sníženy i za 24 h po narození a byly nižší po dobu 15 dnů oproti telatům kontrolní skupiny. Ve srovnání s kontrolní skupinou telat byl významně nižší počet leukocytů za 24 h po narození. Nižší hladiny vitamínu A byly zaznamenány u pokusné skupiny 5. a 15. den po narození. V hodnotách acidobazického stavu krve a dalších biochemických ukazatelů nebyly mezi oběma skupinami telat po dobu 15denního sledování významné rozdíly.

DISKUSE

Naše poznatky dosažené při hodnocení průběhu indukovaných porodů u krav jsou v souladu s údaji většiny autorů. Vysoký výskyt retencí sekundin širší uplatnění této metody v praxi limituje a toto zjištění je shodné s údaji autorů H e n - r i c k s aj. (1977), K u d l á č a H o l ý (1984). Podstatně nižší výskyt retencí sekundin (pouze u 30 % krav) po indukovaných porodech zjistili P o d a n ý aj. (1982). Je však třeba uvést, že délka gravidity v době indukce v jejich pokusu byla téměř 277 dní, zatímco v našem 273,5 dne. Časový faktor je pro retenci sekundin významný.

Mezi pokusnou a kontrolní skupinou telat jsme nezjistili v hmotnosti významné rozdíly, jelikož byla indukce prováděna krátce před porodem. Poněkud nižší průměrná hmotnost v pokusné skupině telat je dána větším zastoupením jaloviček (2,5 : 1), zatímco v kontrolní skupině telat byli býčci a jalovičky zastoupeni ve stejném poměru. Vysokou mortalitu telat - až 38,5 % - po indukci porodu uvádějí A l l e n a H e r r i n g (1976). Telata narozená v našem pokusu po indukci porodu vykazovala dobrý zdravotní stav a nelišila se od telat kontrolních. Shodně s K u d l á č e m aj. (1983) potvrzujeme, že celkovou vitalitu a schopnost dalšího vývoje novorozeného telete lze velmi dobře posoudit na základě ukončeného intrauterinního vývoje, somatické vyspělosti včetně funkčních předpokladů rozhodujících orgánových systémů. Důležitá pro posouzení vitality telete je také vazba na

I. Dynamika acidobazických ukazatelů v krvi pokusných (P; $n = 10$; po indukovaném porodu) a kontrolních (K; $n = 9$) telat v závislosti na věku – Dynamics of acid-base indicators in the blood of experimental (P; $n = 10$; after induced parturition) and control (K; $n = 9$) calves as depending upon age

Ukazatel ¹	Měrná jednotka ²		Před příjmem kolostra ³		24 h po vypití prvního kolostra ⁴		5 dnů ⁵		15 dnů ⁶	
			P	K	P	K	P	K	P	K
pH	-log/molc	$\bar{x}$	7,282	7,272	7,361	7,362	7,384	7,370	7,420	7,391
		s	0,065	0,045	0,056	0,028	0,051	0,062	0,030	0,045
pCO ₂	kPa	$\bar{x}$	7,56	8,07	7,13	6,89	6,66	6,75	5,79	6,00
		s	1,83	1,32	1,20	1,32	1,54	0,81	0,79	0,35
BE	mmol/l	$\bar{x}$	-2,14	-0,25	2,72	1,85	3,21	3,29	3,01	1,86
		s	2,96	3,10	2,79	1,80	1,80	3,55	2,25	2,55
SB	mmol/l	$\bar{x}$	22,10	23,70	26,19	25,41	26,63	27,40	26,37	25,51
		s	2,28	2,62	2,61	1,59	1,55	2,58	2,06	2,25

¹indicator, ²specific unit, ³before colostrum intake, ⁴24 h after intake of first colostrum, ⁵5 days, ⁶15 days

II. Hodnoty koncentrací glukózy, močoviny a aktivit AST, GMT v krevní plazmě pokusných (P; $n = 10$; po indukovaném porodu) a kontrolních (K; $n = 9$) telat v závislosti na věku – The values of glucose and urea concentrations and AST, GMT activities in the blood plasma of experimental (P; $n = 10$; after induced parturition) and control (K; $n = 9$) calves as depending upon age

Ukazatel ¹	Měrná jednotka ²		Před příjmem kolostra ³		24 h po vypití prvního kolostra ⁴		5 dnů ⁵		15 dnů ⁶	
			P	K	P	K	P	K	P	K
Glukóza ⁷	mmol/l	$\bar{x}$	3,14 ⁺⁺	4,37 ⁺⁺	3,29 ⁺⁺	4,30 ⁺⁺	3,46	3,61	4,92	5,47
		s	0,24	1,53	0,36	1,22	0,52	0,33	0,66	1,06
Močovina ⁸	mmol/l	$\bar{x}$	2,04	1,57	2,10	1,92	1,89	2,38	3,53	3,91
		s	0,64	0,69	0,60	1,32	0,46	0,98	1,26	1,66
AST	μkat/l	$\bar{x}$	0,18	0,16	0,38	0,37	0,21	0,23	0,20	0,21
		s	0,05	0,05	0,05	0,13	0,04	0,07	0,02	0,06
GMT	μkat/l	$\bar{x}$	0,48 ⁺⁺	1,39 ⁺⁺	18,41	20,00	7,26	11,87	1,66	1,83
		s	0,14	0,96	3,88	5,00	4,36	6,51	1,61	0,72

⁺⁺ = $P < 0,01$

¹indicator, ²specific unit, ³before colostrum intake, ⁴24 h after intake of first colostrum, ⁵5 days, ⁶15 days, ⁷glucose, ⁸urea

III. Hodnoty koncentrací sodíku, draslíku, vápníku a anorganického fosforu v krevní plazmě pokusných (P; $n = 10$; po indukovaném porodu) a kontrolních (K; $n = 9$) telat v závislosti na věku – The values of sodium, potassium, calcium and inorganic phosphorus concentrations in the blood plasma of experimental (P; $n = 10$; after induced parturition) and control (K; $n = 9$) calves as depending upon age

Ukazatel ¹	Měrná jednotka ²		Před příjmem kolostra ³		24 h po vypití prvního kolostra ⁴		5 dnů ⁵		15 dnů ⁶	
			P	K	P	K	P	K	P	K
Na	mmol/l	$\bar{x}$	140,91	141,70	139,80	142,08	140,70	142,25	136,12	137,22
		s	4,14	4,32	5,49	4,38	3,60	3,38	4,32	4,63
K	mmol/l	$\bar{x}$	5,34	5,42	5,33	5,43	5,11	5,32	4,56	5,02
		s	0,43	0,33	0,61	0,28	0,49	0,40	0,48	0,51
Ca	mmol/l	$\bar{x}$	2,84	2,83	2,87	2,87	2,82	2,93	2,91	2,93
		s	0,18	0,18	0,11	0,16	0,25	0,16	0,11	0,10
Anorganický P	mmol/l	$\bar{x}$	3,70 ⁺⁺	2,86 ⁺⁺	2,80	2,62	2,92	2,75	2,47	2,69
		s	0,54	0,59	0,43	0,36	0,37	0,22	0,19	0,47

++ = $P < 0,01$

¹indicator, ²specific unit, ³before colostrum intake, ⁴24 h after intake of first colostrum, ⁵5 days, ⁶15 days, ⁷inorganic P

IV. Hodnoty hladin vitaminů A, E v krevní plazmě a hodnoty hematokritu a leukocytů v krvi pokusných (P; $n = 10$; po indukovaném porodu) a kontrolních (K; $n = 9$) telat v závislosti na věku – The values of vitamin A, E levels in the blood plasma and hematocrit values and leucocyte counts in the blood of experimental (P; $n = 10$; after induced parturition) and control (K; $n = 9$) calves as depending upon age

Ukazatel ¹	Měrná jednotka ²		Před příjmem kolostra ³		24 h po vypití prvního kolostra ⁴		5 dnů ⁵		15 dnů ⁶	
			P	K	P	K	P	K	P	K
Vitamin A	μmol/l	$\bar{x}$	0,28	0,41	0,63	0,75	0,78 ⁺⁺	0,95 ⁺⁺	0,66 ⁺⁺	1,17 ⁺⁺
		s	0,11	0,20	0,17	0,21	0,18	0,08	0,12	0,39
Vitamin E	μmol/l	$\bar{x}$	2,18 ⁺	3,54 ⁺	4,74	4,29	4,55	4,66	5,19	4,37
		s	0,86	1,86	1,72	1,41	1,51	0,91	1,21	1,70
Hematokrit ⁷	l/l	$\bar{x}$	0,41	0,40	0,33	0,32	0,31	0,28	0,32	0,30
		s	0,04	0,04	0,04	0,05	0,04	0,05	0,04	0,07
Leukocyty ⁸	G/l	$\bar{x}$	11,54	12,75	10,43 ⁺⁺	13,91 ⁺⁺	10,11	11,66	9,94	11,58
		s	2,42	4,27	2,74	5,26	2,98	2,75	1,82	3,85

++ = $P < 0,01$, $P < 0,05$

¹indicator, ²specific unit, ³before colostrum intake, ⁴24 h after intake of first colostrum, ⁵5 days, ⁶15 days, ⁷hematocrit, ⁸leucocytes

zevní prostředí vyjádřená např. schopností pohybu, chutí k přijímání potravy (sací reflex) apod. Velmi důležité je dosažení kolostrální imunity před uplatněním mikrobiální kontaminace, což je podmíněno nutriční a imunitní kvalitou mleziva a jeho včasným podáním v dostatečném množství. Z tohoto pohledu jsou rozhodující zejména první dvě dávky (F a l l o n , 1978).

Z našich výsledků vyplývá, že hodnoty acidobazického stavu krve pokusné skupiny se nelišily od hodnot kontrolní skupiny telat a jsou shodné s údaji, které uveřejnili K u d l á č aj. (1983), týkající se normálních porodů. Vývoj acidobazických hodnot u obou skupin telat v našem experimentu za 24 h po příjmu prvního kolostra a později odpovídá dynamice změn u zdravých telat, jak uvádějí B o u d a a J a g o š (1984).

Ze sledovaných biochemických a hematologických ukazatelů v krvi, resp. krevní plazmě pokusných telat před příjmem kolostra a za 24 h po jeho příjmu jsme zjistili signifikantně nižší hladiny glukózy, vitamínu E, nižší aktivitu GMT a snížený počet leukocytů ve srovnání s kontrolními telaty.

Ve věku 5 a 15 dnů průkazné rozdíly ve sledovaných ukazatelích telat zjištěny nebyly, s výjimkou hladin vitamínu A, které byly u pokusné skupiny telat významně nižší ve srovnání s kontrolní skupinou a referenčními hodnotami, které uvádějí J a g o š aj. (1982).

Nižší hladiny glukózy v krevní plazmě telat po indukovaných porodech lze považovat za projev fyziologických změn v enzymovém systému a metabolismu, neboť ve zdrojích pohotovostní energie u fěťů převažuje fruktóza nad glukózou. Krátce po narození fruktóza v krvi klesá a hlavním zdrojem energie je glukóza. Toto období je pro telata kritické, a proto někteří autoři doporučují aplikovat telatům do 12 h po narození fruktózu (D a n i e l s , 1979). Největší význam jak z hlediska energetického, tak imunologického má však pro tele včasné podání dostatečného množství kvalitního kolostra (B o u d a aj., 1985).

L i t e r a t u r a

- ALLEN, J. G. - HERRING, J. B.: The induction of parturition using dexamethasone in dairy cattle. *Austral. Veter. J.*, 52, 1976: 442-445.
- BOUDA, J. - JAGOŠ, P.: Reference biochemical and hematological reference values in calves and their significance for health control. *Acta Veter. (Brno)*, 53, 1984: 137-142.
- BOUDA, J. - JAGOŠ, P. - DVOŘÁK, V.: Vztah matka - mládě z aspektu klinické biochemie. In: *Zbor. Konf. Produkcia a zdravie teliat v priemyselných podmienkach chovu*. Košice, Dom techniky ČSVTS 1981: 107-124.
- BOUDA, J. - JAGOŠ, P. - KLIMEŠ, J. - DVOŘÁK, V.: Závislost hladin imunoglobulinů v krevním séru telat na době, množství a kvalitě vypitého mleziva. *Veterinářství*, 35, 1985: 22-24.
- BOUDA, J. - KLIMEŠ, J. - JAGOŠ, P. - DOUBEK, J.: Metabolické poruchy u vysokoprodukčních krav a jejich vliv na kvalitu kolostra, vývoj a zdraví telat. In: *Sbor. Konf. Metabolické a produkční choroby skotu*. Brno, Dům techniky ČSVTS 1990: 41-45.

- DANIELS, L. B.: Evaluation of an injection of fructose at birth on the metabolic efficiency of dairy calves. *Nutr. Rep. Ing.*, 20, 1979: 865-869.
- FALLON, R. J.: The effect of immunoglobulin levels on calf performance and methods of artificial feeding colostrum to the newborn calf. *Ann. Rech. Vétér.*, 9, 1978: 347-352.
- HENRICKS, D. M. - RAWLINGS, N. C. - ELLICOTT, A. R. - DICKEY, J. F. - HILL, J. R.: Use of prostaglandin F₂ to induce parturition in beef heifers. *J. Anim. Sci.*, 44, 1977: 438-441.
- JAGOŠ, P. - BOUDA, J. - DVOŘÁK, V. - ILLEK, J. - HOFÍREK, B.: Metody aktivní kontroly zdraví a včasné diagnostiky zdravotních poruch u telat. *Veterinářství*, 32, 1982: 250-253.
- JAGOŠ, P. - BOUDA, J. - KLIMEŠ, J. aj.: Studium zdravotních poruch u telat ve vztahu k poruchám metabolismu jejich matek. [Výzkumná zpráva.] Bmo, Vysoká škola veterinární 1985. 92 s.
- JAGOŠ, P. - ILLEK, J. - BOUDA, J. - DVOŘÁK, R.: Vypracování systému preventivní diagnostiky poruch výměny látkové u skotu. [Výzkumná zpráva.] Bmo, Vysoká škola veterinární 1981. 71 s.
- JÍŘAN, E. - POLÁK, L. - FRANCÍREK, A. - SAILER, K.: Indukce a synchronizace porodů u krav. *Veter. Med. (Praha)*, 26, 1981: 329-335.
- KUDLÁČ, E.: Nové směry řízení reprodukce skotu. *Veterinářství*, 29, 1979: 10-12.
- KUDLÁČ, E.: Látkový metabolismus u krav v peripartálním období a jeho vztah k průběhu puerperia a další plodnosti. *Veterinářství*, 35, 1985: 497-498.
- KUDLÁČ, E. aj.: Výskyt, příčiny a povaha metabolických poruch u krav během březosti a puerperia a její vztah k další plodnosti. [Výzkumná zpráva.] Bmo, Vysoká škola veterinární 1980. 48 s.
- KUDLÁČ, E. - HOLÝ, L.: Řízení a kontrola reprodukce ve velkochovech skotu. Praha, SZN 1984. 348 s.
- KUDLÁČ, E. - SCHULZ, J.: Metabolický profil u novorozených telat. In: Zbor. Konf. Produkcia a zdravie teliat v priemyslných podmienkach chovu. Bratislava, Ústav veter. informácií a osvetu 1983: 92-97.
- KUDLÁČ, E. - SCHULZ, J. - VEDRAL, V. - VOLLHARDT, V.: Metabolický profil u nově narozených telat a hladina imunoglobulinů v prvních dnech jejich života. *Veter. Med. (Praha)*, 28, 1983: 401-412.
- MUŽÍK, J.: Vývoj zdravotního stavu krav a telat ve velkovýrobní technologii při uplatnění indukce porodu a časného odstavu. [Atestační práce.] Brno 1982. 135 s. - Vysoká škola veterinární.
- MUŽÍK, J. - JAGOŠ, P. - BOUDA, J.: Vliv indukce porodů na zdraví telat. In: Zbor. Konf. Produkcia a zdravie teliat v priemyslných podmienkach chovu. Bratislava, Ústav veter. informácií a osvetu 1983: 62-77.
- PODANÝ, J. - STEJSKAL, J. - JELÉNEK, L. - BUBENÍČEK, J. - ŠÍVARA, J. - BARTÁK, O. - ŠTEFAN, M.: Indukce porodů u prasat a skotu PGF₂ alfa a následná plodnost prasníc ošetřených PG, případně pocházejících z indukovaných vrhů. *Veterinářství*, 32, 1982: 148-151.
- VĚŽNÍK, Z. - HOLUB, A. - ZRALÝ, Z. - KUMMER, V. - HOLČÁK, V. - JOŠT, K. - CORT, J. H.: Regulation of bovine labour with a long-acting carbonanalog of Oxytocin (d - COMOT): A preliminary report. *Amer. J. Veter. Res.*, 40, 1979: 425-429.

Došlo 18. 1. 1994

BOUDA, J. - DOUBEK, J. - MUŽÍK, J. - TÓTH, J. (University of Veterinary and Pharmaceutical Sciences, Brno):

Induction of parturitions in cows and its effect on development of biochemical and hematological indicators in the blood of calves.

Vet. Med. - Czech, 39, 1994 (5): 223-230.

The effect of induction of parturitions in the 1 - 2 weeks of pregnancy was tested as exerted on the health of calves and on some biochemical and hematological indicators. The observations concerned 26 cows, out of which 14 cows (experimental group) were applied intramuscularly 500 µg of synthetic analog of prostaglandin F₂ of α- cloprostenol. The other 12 cows were a control group.

These indicators were determined in the blood of calves before colostrum intake, in 24 h, 5 and 15 days from the intake of the first colostrum ration: acid-base balance, hematocrit and leucocyte counts, in the blood plasma it was concentrations of glucose, urea, Na, K, Ca, inorganic P, vitamin A and E levels and AST and GMT activities.

The same range of examinations was performed in the blood and/or in the blood plasma of cows, in addition to urea screening. Blood and urea samples were taken a month before and a month after parturition.

No deviations from the normal state were found by the examination of highly-pregnant cows. Afterbirth retention was found in 87% cows of the experimental group after parturition, while it was only 9.8% in the control group. All the calves in the experiment had good vitality, very good health in the course of 15-day observation. There were not any significant differences in the birth weight and weight gains of the calves of experimental and control groups.

As for the indicators investigated in blood and/or in blood plasma of the calves of experimental group, significantly reduced levels of glucose, vitamin E, GMT activity and leucocyte counts were found out before colostrum intake (Tabs. II and IV). On the other hand, the concentrations of inorganic P were higher in comparison with the control group of calves (Tab. III). In 5 and 15 days after parturition there were no significant differences in the investigated biochemical indicators between the experimental and control group, except vitamin A levels (Tab. IV).

The induction of parturition in the cows on the last days of pregnancy did not have any negative effects on the health and further development of calves.

cow; parturition induction; calf; vitality; blood; plasma; acid-base balance; hematocrit; leucocytes; glucose; urea; minerals; vitamins A, E

Contact Address:

Prof. MVDr. Jan Bouda, DrSc., Vysoká škola veterinární a farmaceutická,
Palackého 1 - 3, 612 42 Brno, Czech Republic
Tel. 05 41321107, fax 05 41211151

PREKLINICKÁ DIAGNOSTIKA METABOLICKÝCH OSTEOPATIÍ U BÝKŮ VE VÝKRMU

J. Doubek, J. Illek, J. Ondráček

Vysoká škola veterinární a farmaceutická, Brno

U býků ve výkrmu s různými formami metabolických onemocnění skeletu jsme zkoumali diagnostickou průkaznost vybraných klinickobiochemických parametrů. Stanovení koncentrací vápníku, anorganického fosforu a aktivity alkalické fosfatázy v krevní plazmě nemělo pro diagnostiku metabolických osteopatií podstatný význam. Naopak ukazatele určené chemickou analýzou biopátů z *tuber coxae* vykazaly u býků ve výkrmu s různými formami alimentárně podmíněných osteopatií charakteristické, statisticky významné rozdíly ve srovnání s kontrolními zvířaty. Histologické vyšetření osteobiopátů potvrdilo patognomoničnost těchto rozdílů z hlediska procesů probíhajících ve skeletu. Na základě stanovení hmotnosti popela v 1 g tukuprosté sušiny (TPS) spongiózy jsme diagnostikovali rachitické změny, na základě stanovení popela v 1 cm³ spongiózy porotické změny ve skeletu. Pomocí ukazatele Ca/P jsme mohli poruchu dále specifikovat. Prokázali jsme tak využitelnost vybraných parametrů zjištěných chemickou analýzou spongiózy *t. coxae* v preklinické diagnostice metabolických onemocnění skeletu u býků ve výkrmu.

býci ve výkrmu; metabolické osteopatie; preklinická diagnostika; osteobiopát; kostní popel; vápník; anorganický fosfor; index Ca/P

Důležitou skupinu metabolických poruch u býků ve výkrmu tvoří osteopatie. Diagnostický postup založený na zhodnocení klinického vyšetření a stanovení koncentrací Ca a anorganického P v krevní plazmě (séru) a moči a katalytické aktivity alkalické fosfatázy (ALP) v krevní plazmě (séru) je úspěšný v případech klinických forem metabolických osteopatií.

Diagnostika metabolických osteopatií skotu je obtížná při subklinickém průběhu onemocnění, kdy nejsou patrné žádné symptomy postižení skeletu. Jediným a mnohdy dlouhou dobu trvajícím projevem narušení zdravotního stavu bývá pokles užitkovosti. Vlivem značné citlivosti regulačních mechanismů organismu nemusí dojít k výrazným výkyvům v biochemickém profilu krve (Ca, anorganický P, celková ALP) a moči (Ca, anorganický P) - J a g o š aj. (1975a, b), P r i - b o t h (1976). Samotná kostní tkáň, resp. její metabolicky aktivní část, odpovídá na působení různých faktorů charakteristickými změnami. Vzorky kostní tkáně mohou být podrobeny chemickému, histologickému, příp. dalšímu vyšetření

(Priboth, 1966; Purvance a Transtrum, 1967; Little, 1972; Williams aj., 1991; Beighle aj., 1993).

Bioptickochemický a bioptickohistologický vyšetřovací postup dává možnost zachytit metabolickou kostní chorobu ještě v preklinickém stadiu. Navíc umožňuje tato metoda odlišení osteopatií skotu metabolické etiologie od ostatních poruch zdravotního stavu, které se vyznačují podobnou symptomatologií. Vyšetření ojedinělých zvířat může být ovšem bez diagnostické hodnoty (Priboth, 1966; Priboth aj., 1968, 1972; Jagoš aj., 1975a, b; Doubek aj., 1989).

MATERIÁL A METODY

Vyšetřovali jsme žírné býky ($n = 221$) českého strakatého plemene a křížence českého strakatého plemene s černostrakatým skotem. Do sledování jsme zařadili i pacienty II. interní kliniky VŠVF v Brně. Býci byli ustájeni v boxech s celoroškovou podlahou nebo v halách s hlubokou podestýlkou.

Klinicko-laboratorní vyšetření jsme provedli v průběhu zimního krmného období (listopad - duben). K vyšetření jsme vždy vybrali 10 - 15 zvířat s živou hmotností 300 - 450 kg. Ve všech stádech jsme posoudili zdravotní stav a dosahované přírůstky živé hmotnosti. Na základě analýz krmiv (kvalita fermentačního procesu v silážích, obsah ŠJ, SNL, Ca a P) a užitkovosti jsme zhodnotili krmné dávky.

Podle analýzy zdravotního stavu, krmných dávek a užitkovosti jsme rozdělili zvířata do skupin, resp. podskupin:

Skupina A ($n = 47$) zahrnovala klinicky zdravé býky ze čtyř výkrmů. Od počátku zastavení na výkrm se mezi zvířaty nevyskytly klinické případy osteopatií. Úroveň výživy jsme klasifikovali jako velmi dobrou. Denní přírůstky se pohybovaly mezi 0,8 - 1,0 kg. Tato skupina sloužila jako kontrola.

Skupina B ($n = 140$) sestávala z klinicky zdravých býků, kteří pocházeli z 12 výkrmů s častým výskytem klinicky manifestních případů onemocnění pohybového ústrojí. Na celkové nemocnosti se tato onemocnění podílela rozhodujícím způsobem ($> 50\%$). Průměrné přírůstky se v období vyšetření pohybovaly mezi 0,5 - 0,65 kg/den. Nedostatky ve výživě byly značné a dlouhodobé. Podle jejich charakteristiky jsme zvířata rozdělili do podskupin:

podskupinu B/1 ($n = 96$) tvořili býci z osmi výkrmů. Krmné dávky byly charakterizovány zejména deficitem P ($\sim 80\%$ normované potřeby), u některých jsme zjistili vysokou aktuální kyselost;

podskupina B/2 ($n = 44$) zahrnovala býky ze čtyř výkrmů, kteří měli nedostatečný příjem nejen P, ale i Ca ($\sim 75 - 90\%$ normované potřeby). Rovněž z hlediska obsahu ŠJ a SNL byly krmné dávky mírně deficitní.

Skupina C ($n = 34$) byla tvořena žírnými býky s klinickým syndromem osteopatie. Zvířata pocházela z výkrmů skupiny B a dále jsme sem zařadili býky hospita-

lizované na II. interní klinice. Délka trvání klinických příznaků činila 2 - 21 dnů. Podle převládajících nedostatků ve výživě jsme také tyto býky rozdělili na podskupiny:

podskupina C/1 ($n = 18$) se v podstatě shodovala s podskupinou B/1, neboť býci s klinickými příznaky onemocnění pohybového ústrojí právě z těchto výkrmů tvořili podstatnou část této podskupiny;

podskupina C/2 ($n = 16$) se z téhož důvodu svojí charakteristikou vcelku nelišila od podskupiny B/2.

Vybraní býci byli podrobeni orientovanému klinickému vyšetření a byla u nich analyzována krev, krevní plazma a biptáty z *t. coxae*.

Orientované klinické vyšetření zahrnovalo: hodnocení výživného stavu, chování, vyšetření trias, hodnocení chuti k přijímání krmiva, stanovení bachorového kvocientu, vyšetření jater palpací, screeningové vyšetření moči, vyšetření pohybového ústrojí.

Acidobazický stav krve byl určován Astrupovou metodou, koncentrace Ca v krevní plazmě byla stanovena atomovou absorpční spektrometrií, koncentrace anorg. P a aktivita ALP v krevní plazmě byly stanoveny fotometricky.

Osteobiopáty byly analyzovány metodou popsanou autory D o u b e k a j. (1985, 1989). Histologické vyšetření bylo provedeno u všech zvířat skupiny C a u 50 % zvířat skupiny A a B. Zajišťoval ho Ústav anatomie, histologie a embryologie VŠVF metodikou, kterou popsal Č e r n ý (1977).

VÝSLEDKY

KLINICKÉ VYŠETŘENÍ

U všech býků zařazených do skupin A a B jsme klinickými vyšetřovacími metodami nezjistili příznaky onemocnění.

U zvířat skupiny C jsme zjistili tyto změny:

výživný stav méně dobrý až špatný; apatii; sníženou chuť k přijímání krmiv, sníženou motorickou činnost bachoru; rigidní postoje, přešlapování, obtížné vstávání, dlouhé ležení až trvalé ulehnutí, zduření v krajině kloubů karpálních a tarzálních, značnou bolestivost při palpaci, rozšíření meziprstového prostoru, ojediněle deformity končetin, třesy svalstva, strnulou chůzi, kulhání.

BIOCHEMICKÉ VYŠETŘENÍ

Výsledky jsou uvedeny v tabulkách I - IV. Tab. I shrnuje výsledky vyšetření krve a krevní plazmy, tabulky II - IV výsledky chemické analýzy vzorků spongiózy *t. coxae*.

Nejvyšší hodnotu pH krve a BE jsme zjistili u zvířat podskupiny B/2 (klinicky zdraví býci, krmné dávky s deficitem Ca, P, ŠJ a SNL): $\bar{x}_{pH} = 7,394 \pm 0,050$; $\bar{x}_{BE} = 2,334 \pm 1,997$ mmol/l, nejnižších hodnot dosáhly tyto ukazatele u býků skupiny A; $\bar{x}_{pH} = 7,384 \pm 0,015$; $\bar{x}_{BE} = 0,884 \pm 1,499$ mmol/l. Nejvyšší hodnotu pCO_2 jsme zjistili u podskupiny B/1 (klinicky zdraví býci, deficit P v krmných dávkách, příp. vysoká aktuální kyselost krmných dávek): $\bar{x} = 6,717 \pm 1,135$ kPa, nejnižší pCO_2 jsme zjistili u podskupiny C/2 (zvířata s klinickým syndromem onemocnění skeletu, deficit Ca, P, ŠJ a SNL v krmných dávkách): $\bar{x} = 6,019 \pm 0,857$ kPa.

Nejvyšší koncentraci Ca v krevní plazmě jsme zjistili u zvířat podskupiny C/1 (býci s klinickými příznaky onemocnění pohybového ústrojí, v krmných dávkách deficit P, příp. vysoká aktuální kyselost): $\bar{x} = 2,703 \pm 0,247$ mmol/l, nejvyšší koncentraci anorganického P jsme prokázali u podskupiny C/2 (zvířata s klinickým syndromem generalizované osteopatie, krmné dávky deficitní ve všech sledovaných ukazatelích): $\bar{x} = 2,774 \pm 0,350$ mmol/l. Nejnižší koncentraci Ca jsme zjistili u podskupiny C/2: $\bar{x} = 2,358 \pm 0,248$ mmol/l a nejnižší koncentraci anorganického P u podskupiny C/1: $\bar{x} = 2,441 \pm 0,258$ mmol/l. Nejvyšší aktivitu ALP jsme prokázali u podskupiny B/1 (klinicky zdravá zvířata, v krmných dávkách deficit P a příp. vysoká aktuální kyselost): $\bar{x} = 2,386 \pm 1,064$ μ kat/l, nejnižší u zvířat klinicky zdravých s výživou odpovídající ve sledovaných parametrech normované potřebě (skupina A): $\bar{x} = 1,823 \pm 0,647$ μ kat/l (tab. I).

Analýzou vzorků spongiózy *t. coxae* jsme zjistili nejvyšší hodnoty hmotnosti popela, vyjádřené na 1 g TPS i na 1 cm³ spongiózy u býků skupiny A (zdravá zvířata, výživa odpovídající ve sledovaných ukazatelích normované potřebě): $\bar{x}_{popel/g} = 605,936 \pm 16,393$ mg; $\bar{x}_{popel/cm^3} = 243,829 \pm 31,463$ mg. Nejnižší hodnoty popela jsme zjistili u podskupiny C/2 (býci s klinickými příznaky onemocnění systému skeletu, v krmných dávkách deficit všech sledovaných ukazatelů): $\bar{x}_{popel/g} = 491,919 \pm 35,574$ mg; $\bar{x}_{popel/cm^3} = 173,294 \pm 16,724$ mg. Nejvyšší hodnotu kalciofosforového poměru jsme zjistili u podskupiny C/1 (býci s klinickými příznaky generalizované osteopatie, v krmných dávkách deficit P, příp. vysoká aktuální kyselost): $\bar{x} = 2,172 \pm 0,110$, nejnižší hodnotu měl tento ukazatel u podskupiny B/2 (klinicky zdraví býci, krmné dávky deficitní ve všech sledovaných parametrech): $\bar{x} = 1,912 \pm 0,151$ (tab. II).

Statistickým vyhodnocením výsledků chemické analýzy spongiózy *t. coxae* jsme prokázali u skupin B a C ve srovnání s kontrolní skupinou (skupina A) vysoce signifikantní snížení hodnot popela v 1 g TPS a v 1 cm³. I odchylky hodnot Ca/P byly ve srovnání se skupinou A vysoce významné (tab. III).

Nejnižší podíl hodnoty ukazatele popel/g TPS jsme zjistili u podskupiny C/2 (býci s klinickými příznaky onemocnění pohybového ústrojí, krmné dávky deficitní ve všech sledovaných ukazatelích): 0,81 a nejnižší podíl hodnoty TPS/cm³ jsme

I. Výsledky vyšetření krve a krevní plazmy u býků ve výkrmu; A - klinicky zdraví, výživa odpovídající normované potřebě; B/1, 2 - klinicky zdraví, výživa s nedostatky; C/1, 2 - s klinickými příznaky generalizované osteopatie – The results of blood and blood plasma examination in fattened bulls; A - clinically healthy, nutrition corresponding to standardized requirement; B/1, 2 - clinically healthy, deficits in nutrition; C/1, 2 - with clinical symptoms of generalized osteopathy

Skupina ¹		Krev ²			Krevní plazma ³		
		pH	BE (mmol/l)	pCO ₂ (kPa)	Ca (mmol/l)	anorganický P (mmol/l)	ALP (μkat/l)
A	n	39	39	39	47	47	47
	$\bar{x}$	7,384	0,884	6,200	2,592	2,456	1,823
	s	0,015	1,499	0,587	0,168	0,420	0,647
B/1	n	96	96	96	93	93	93
	$\bar{x}$	7,386	1,450	6,717	2,536	2,641	2,386
	s	0,029	2,489	1,135	0,239	0,321	1,064
B/2	n	44	44	44	44	44	44
	$\bar{x}$	7,394	2,334	6,445	2,474	2,580	2,058
	s	0,050	1,977	1,259	0,211	0,312	0,814
C/1	n	18	18	18	18	18	18
	$\bar{x}$	7,388	1,833	6,439	2,703	2,441	1,850
	s	0,018	2,213	0,675	0,247	0,258	0,671
C/2	n	16	16	16	16	16	16
	$\bar{x}$	7,385	1,206	6,019	2,358	2,774	2,120
	s	0,022	1,296	0,857	0,248	0,350	0,663

¹group, ²blood, ³blood plasma

zjistili u podskupiny B/2 (klinicky zdraví býci, v krmných dávkách deficit Ca, P, ŠJ a SNL): 0,82 (tab. IV).

HISTOLOGICKÉ VYŠETŘENÍ

U histologicky vyšetřených osteobiopátů býků skupiny A byl histologický nález posouzen jako normální.

U býků podskupin B/1 a C/1 měly zjištěné změny kvalitativně stejný charakter, u podskupiny C/1 byly výrazněji vyjádřeny:

Růstová zóna:

prodloužení sloupců chrupavky, směrové trámce deformované, částečné nebo úplné

II. Výsledky chemické analýzy spongiózy *t. coxae* u býků ve výkrmu; A - klinicky zdraví, výživa odpovídající normované potřebě; B/1, 2 - klinicky zdraví, výživa s nedostatky; C/1, 2 - s klinickými příznaky generalizované osteopatie – The results of chemical analysis of spongy substance of the *t. coxae* in fattened bulls; A - clinically healthy, nutrition corresponding to standardized requirement; B/1, 2 - clinically healthy, deficits in nutritions; C/1, 2 - with clinical symptoms of generalized osteopathy

Skupina ¹		Hmotnost popela ² (mg)		Ca/P
		1 g TPS	1 cm ³	
A	<i>n</i>	47	45	47
	$\bar{x}$	605,936	243,829	2,063
	<i>s</i>	16,393	31,463	0,072
B/1	<i>n</i>	96	93	96
	$\bar{x}$	555,690	213,700	2,159
	<i>s</i>	30,944	39,621	0,148
B/2	<i>n</i>	44	44	44
	$\bar{x}$	546,089	179,707	1,912
	<i>s</i>	30,224	25,583	0,151
C/1	<i>n</i>	18	18	18
	$\bar{x}$	502,111	209,650	2,172
	<i>s</i>	31,706	16,730	0,110
C/2	<i>n</i>	16	16	16
	$\bar{x}$	491,919	173,294	1,966
	<i>s</i>	35,574	16,724	0,113

¹group, ²ash

III. Statistické vyhodnocení výsledků chemické analýzy spongiózy *t. coxae* u býků ve výkrmu; A - klinicky zdraví, výživa odpovídající normované potřebě; B/1, 2 - klinicky zdraví, výživa s nedostatky; C/1, 2 - s klinickými příznaky generalizované osteopatie – Statistical processing of the results of chemical analysis of spongy substance of the *t. coxae* in fattened bulls; A - clinically healthy, nutrition corresponding to standardized requirement; B/1, 2 - clinically healthy, deficit in nutrition; C/1, 2 - with clinical symptoms of generalized osteopathy

A	B/1	B/2	C/1	C/2
Popel/g TPS ¹	++	++	++	++
Popel/cm ³ ²	++	++	++	++
Ca/P	++	++	++	++

++ = vysoce signifikantní – highly significant

¹ash/g FFDM, ²ash/cm³

IV. Srovnání průměrných hodnot popela/g TPS a TPS/cm³ u býků ve výkrmu: A - klinicky zdraví, výživa odpovídající normované potřebě; B/1, 2 - klinicky zdraví, výživa s nedostatky; C/1, 2 - s klinickými příznaky generalizované osteopatie – Comparison of the average values of ash/g FFDM and FFDM/cm³ in fattened bulls; A - clinically healthy, nutrition corresponding to standardized requirement; B/1, 2 - clinically healthy, deficits in nutrition; C/1, 2 - with clinical symptoms of generalized osteopathy

Skupina ¹	Popel/g TPS ²	TPS/cm ³
A	1,00	1,00
B/1	0,92	0,96
B/2	0,90	0,82
C/1	0,83	1,04
C/2	0,81	0,87

¹group, ²ash/g FFDM, ³FFDM/cm³

chybění primární spongiózy, nepravidelné ohraničení chrupavky na metafyzárním okraji, jazykovitě vyběhající fragmenty chrupavky směrem k metafyzám.

Spongiózní kost:

různě široké osteoidní lemy na povrchu trámčů, perilakunární osteoidní dvorce a zřetelná lamelární struktura kostních kanálků. Perilakunární dvorce a výrazná lamelární struktura byly pozorovány převážně u zvířat podskupiny C/1.

Celkový histologický obraz byl zhodnocen jako odpovídající charakteru rachitis.

U býků podskupin B/2 a C/2 bylo navíc pozorováno zřídnutí spongiózní kosti, u podskupiny C/2 byly změny silněji vyjádřeny.

Histologická charakteristika změn odpovídala rachitis a osteoporóze.

DISKUSE

Zjištěné nedostatky ve výživě skupin B a C měly sice různý charakter, ale koncentrace Ca a anorganického P v krevní plazmě se nalézaly v rozsahu referenčních hodnot (J a g o š aj., 1980).

Acidobazický profil krve (pH, BE a pCO₂) odpovídá, podle hodnot uváděných J a g o š e m aj. (1980), mírnému stupni respirační acidózy, což lze vysvětlit obtížnější manipulací při odběru krve.

Hodnoty aktivity celkové ALP jsou v souladu s výsledky autorů P r i b o t h (1966) a F i c h t n e r (1978b) zjištěnými u zdravých býků ve výkrmu (tab. I).

U skupiny A jsme zjistili nejvyšší hodnoty hmotností popela v 1 g tukuprosté sušiny (TPS) a v 1 cm³ spongiózy *t. coxae* (tab. II).

Histologické nálezy byly hodnoceny jako normální.

Zjištěná hodnota popela v 1 cm^3 převyšuje hodnoty uváděné jako mezní z hlediska posouzení různých forem metabolických osteopatií. Priboth (1966, 1969), Priboth aj. (1968) uvádějí pro odlišení subklinické formy generalizované osteopatie mezní hodnotu 234 mg/cm^3 spongiózy *t. coxae*, pro odlišení klinické formy hraniční hodnotu 224 mg/cm^3 spongiózy. Zjištěné hodnoty popela korespondují vcelku i s výsledky vyšetření, které uveřejňují Priboth a Fritzsche (1969), Priboth (1976), Jagoš aj. (1977), Fichtner (1978a, b), Darzsvancsigin a Schalkházy (1979), Koni (1979) a Priboth a Koni (1980). Určité rozdíly ve výsledcích výše uvedených autorů v relaci ke skupině A mají původ v odlišnostech analytických postupů a v použití dalších kritérií pro hodnocení zdravotního stavu zvířat. Rozhodující však je, že výsledky srovnávacích analýz citovaných autorů a výsledky vyšetření skupiny A vykazují zásadní shodu v tom, že hodnoty popela byly u zdravých a optimálně krmných žirafů podstatně vyšší než u zvířat s nedostatky ve výživě, se sníženou užitkovostí, příp. s klinickými příznaky onemocnění pohybového ústrojí.

Z výsledků analýz spongiózy *t. coxae* u podskupiny B/1 (klinicky zdraví býci, nedostatečný příjem P a u části zvířat vysoká kyselost krmných dávek) vyplývá, že došlo především k narušení mineralizace skeletu - vysoce významný pokles hodnoty popela v 1 g TPS (tab. II a III).

Úbytek popela vyjádřený na 1 cm^3 spongiózy byl zjištěn také vysoce signifikantně (tab. II a III). Avšak při přepočtu popela na celou TPS bylo dosaženo podílu 0,96 z hodnoty kontrolní skupiny, naproti tomu hodnota popela v 1 g TPS dosáhla pouze 0,92 (tab. IV). Tyto hodnoty ukazují na výrazněji narušenou mineralizaci kostní tkáně.

Také histologické nálezy měly typické znaky svědčící o nedostatečné mineralizaci.

Hodnota indexu Ca/P v popelu (tab. II a III) odráží situaci v minerální výživě této podskupiny. Rovněž Priboth (1976) uvádí, že následkem déletrvajících nedostatečného zásobování organismu P je index Ca/P rozšiřován.

Obdobné hodnoty popela zjistili Priboth (1966, 1969, 1976), Priboth aj. (1968), Martschei (1973), Jagoš aj. (1975b), Fürll (1977), Fichtner (1978b), Launer (1980), Launer aj. (1981). Tato vyšetření byla vesměs prováděna v souvislosti s acidogenním efektem krmných dávek (vysoký podíl koncentrátů, peletovaná krmiva). V tom byl určitý rozdíl proti výživě v podskupině B/1. Jen u části zvířat této podskupiny bylo působení krmné dávky stejné, tj. acidogenní. Zde ovšem v důsledku nadměrného přívodu exogenních kyselin. Většina krmných dávek byla deficitní z hlediska obsahu P. Tím je možné vysvětlit výsledky acidobazického vyšetření krve (tab. I).

Výsledky analýz spongiózy *t. coxae* (tab. II, III a IV) u podskupiny B/2 (klinicky zdraví býci, krmné dávky deficitní ve všech sledovaných ukazatelích) ukazují jak narušenou mineralizaci skeletu, tak i celkový úbytek metabolicky aktivní kostní substance, což bylo potvrzeno i histologickým vyšetřením.

Z obou sledovaných osteotrofických prvků jsme zjistili zřetelnější úbytek Ca (vysoce signifikantní zúžení Ca/P).

Z výsledků je zřejmé, že změny ve skeletu byly u této podskupiny rozsáhlejší (týkaly se úbytku nejen anorganického, ale značně i organického podílu spongiózy). Také zjištěné nedostatky ve výživě vyšetřených zvířat byly pestřejší.

Obdobné nálezy popela zjistili Fichtner (1978a, b), Koni (1979), Priboth a Koni (1980), Fichtner a Seffner (1980), ale jako důležitý etiologický faktor byl ve většině těchto sděleních uváděn deficit vitamínu D. Nedostatek vitamínu D jistě mohl v těchto případech negativně ovlivnit metabolismus Ca a P svým efektem na ledviny a kost, ale v inhibici střevní absorpce těchto makroelementů je výsledný účinek shodný jako u primárního deficitu Ca a P zjištěného u podskupiny B/2. Tím je také možné vysvětlit podobný laboratorní nález v kostní tkáni těchto býků.

Celá skupina B byla představována klinicky zdravými býky, kteří pocházeli z výkrmů s výskytem klinických případů onemocnění systému skeletu. V těchto provozech jsme zjistili různé nedostatky ve výživě, které neměly podstatný vliv na hodnoty sledovaných biochemických parametrů v krevní plazmě.

Analýzami spongiózy *t. coxae* byl prokázán vysoce signifikantní pokles hodnot popela ve srovnání s kontrolní skupinou a hodnoty popela vyjádřené na 1 cm³ se nalézají pod hodnotami, které uvádějí Priboth (1966, 1969) a Priboth aj. (1968) jako hodnoty mezní pro posouzení fyziologického stavu skeletu.

Podobně histologickým vyšetřením biopsií *t. coxae* byly prokázány typické změny v hodnocených morfologických strukturách.

Výsledky chemických analýz spongiózy *t. coxae* a histologického vyšetření osteobiopsií u podskupiny B/1 svědčí pro rachitický proces, u podskupiny B/2 pro současnou existenci rachitického a porotického procesu. Vysoce signifikantní snížení obsahu popela u žírných býků celé skupiny B však nenašlo vyjádření v manifestaci klinických příznaků svědčících o onemocnění systému skeletu.

Na základě zhodnocení výsledků klinickobiochemického a histologického vyšetření osteobiopsií lze konstatovat, že vyšetřovaná zvířata podskupiny B/1 trpěla subklinickou rachitidou a zvířata podskupiny B/2 subklinickou formou smíšené osteopatie (rachitis/osteoporóza).

Skupina C zahrnovala býky ve výkrmu s klinickými symptomy onemocnění pohybového ústrojí. Za rozhodující etiologický faktor lze označit deficitní výživu. Vzhledem k jejímu charakteru a nízkým přírůstkům lze téměř zcela vyloučit roli akcelerace tělesného růstu při vzniku kostních lézí za nevhodného ustájení, jak uvádějí např. Dämmrich (1987), Wegner (1988), Bergmann (1992).

Charakteristika podskupiny C/1 se z hlediska zjištěných nedostatků nelišila od podskupiny B/1. Ve srovnání s touto podskupinou byly ale prokázány výraznější

změny v chemickém složení spongiózy a s tím korespondoval i pozitivní výsledek klinického vyšetření.

Z vysoce významně snížených hodnot popela a z velikosti podílu hodnoty ukazatelů popel/g TPS a TPS/cm³ (tab. II, III a IV) lze usoudit na výrazně narušený poměr mezi anorganickým a organickým podílem spongiózy (snížený stupeň mineralizace, příp. zesílené demineralizace), přičemž objem organického podílu byl zachován.

Histologickým vyšetřením biopsií *t. coxae* byly tyto výsledky chemické analýzy spongiózy potvrzeny.

Vysoce významně rozšířený poměr mezi Ca a P opravňuje konstatovat, že pokles P byl výraznější, což také odpovídalo situaci ve výživě. Zjištěná hodnota popela v 1 cm³ spongiózy *t. coxae* je sice nižší než mezní hodnota, kterou uvádějí Priboth (1966, 1969) a Priboth aj. (1968) pro odlišení klinických forem metabolických osteopatií, ale je značně vyšší než zjistili Priboth (1969) a Priboth a Fritzsche (1969) u býků ve výkrmu s klinickou osteopatií vyvolanou deficitem fosforu. Hodnota popela v 1 g TPS zjištěná u podskupiny C/1 však s výsledky těchto autorů koresponduje. Rozdílné působení nedostatku P na charakter procesů v kostní tkáni je možné vysvětlit tím, že deficit tohoto elementu byl v uvedených sděleních výraznější (P saturoval potřebu asi z 50 - 60 %).

Podskupina C/2 se se zřetelem na zjištěné nedostatky ve výživě nelišila od podskupiny B/2.

Z výsledků chemických analýz spongiózy *t. coxae* a jejich statistického vyhodnocení (tab. II, III a IV) lze vyvodit, že nastalo jak výrazné narušení mineralizace skeletu, tak i zintenzivnění kostní resorpce. To také bylo potvrzeno výsledky histologického vyšetření.

V souladu se stavem ve výživě je i vysoce signifikantně zúžený poměr mezi Ca a P. Výsledky chemických analýz spongiózy *t. coxae* zjištěné u podskupiny C/2 odpovídají výsledkům analogických vyšetření Jagoše aj. (1977). Darzsavancsiga Schalkháza (1979) sice hodnotu kostního popela v 1 g TPS u mladého skotu s klinicky prokázanou osteopatií neuvádějí, avšak pokles hmotnosti popela v 1 cm³ a zúžení Ca/P oproti zdravým zvířatům zjistili rovněž.

Na základě zhodnocení klinickobiochemického vyšetření a histologických nálezů lze diagnostikovat onemocnění žírných býků skupiny C jako klinickou formu metabolické osteopatie, přičemž porucha u podskupiny C/1 byla posouzena jako rachitis a u podskupiny C/2 jako smíšená osteopatie (rachitis/osteoporóza).

Literatura

- BEIGHLE, D. E. - BOYAZOGLU, P. A. - HEMKEN, R. W.: Use of bovine rib bone in serial sampling for mineral analysis. J. Dairy Sci., 76, 1993: 1047-1052.
- BERGMANN, V.: Leistungsabhängige Gesundheitsstörungen bei Nutztieren - Erscheinungsformen und kausale Prinzipien. Mh. Vet.-Med., 47, 1992: 245-252.

- ČERNÝ, H.: Hodnocení morfologické struktury v kostních bioprátech skotu vzhledem k poruchám minerálního metabolismu. [Habilitation práce.] Brno 1977. 131 s. - Vysoká škola veterinární.
- DÄMMERICH, K.: The reaction of the legs (bone, joints) to loading and the consequences for lameness. In: Cattle housing systems, lameness and behaviour. Dordrecht, Martinus Nijhoff Publ. 1987: 50-55.
- DARZSVANCSIGIN, C. - SCHALKHÁZ, I.: A csontbiopsziás vizsgálatok jelentősége a szavas-marhák osteopathiáinak kórhátározásában. Magyar Állatorv. Lap., 34, 1979: 154-157.
- DOUBEK, J. - JAGOŠ, P. - ILLEK, J.: Influence of the stage of dairy cow reproduction cycle on some clinical and biochemical parameters. Acta vet. (Brno), 54, 1985: 149-155.
- DOUBEK, J. - JAGOŠ, P. - TOTH, J.: Early diagnosis of metabolic diseases of the skeleton in dairy cows. Acta vet. (Brno), 58, 1989: 31-51.
- FICHTNER, R.: Zur Diagnostik der Osteochondropathien beim Mastrind. Mh. Vet.-Med., 33, 1978a: 836-838.
- FICHTNER, R.: Klinisch-diagnostische Untersuchungen bei generalisierten Osteochondropathien von Mastbullen unter besonderer Berücksichtigung moderner Ernährungsregimes. [Dissertation A.] Berlin 1978b. 146 s. - Humboldt-Universität.
- FICHTNER, R. - SEFFNER, W.: Untersuchungen zur Osteoporose beim Mastrind. Mh. Vet.-Med., 35, 1980: 825-829.
- FÖRLL, M.: Ergebnisse fünfmonatiger Stoffwechseluntersuchungen in einer industriemässig produzierenden Rindermastanlage. [Fachtierarzt-Abschlussarbeit.] Leipzig 1977. 87 s. - KM-Universität.
- JAGOŠ, P. - DOUBEK, J. - ILLEK, J. - JURAJOVÁ, J.: Minerální skladba skeletu býků v období intenzivního růstu. In: IX. dny fyziologie hospodářských zvířat. Liblice, 7. - 9. 12. 1977.
- JAGOŠ, P. - ILLEK, J. - DOUBEK, J. aj.: Vývoj zdravotního stavu býků ve velkovýrobních technologiích. [Výzkumná zpráva.] Brno, Vysoká škola veterinární 1980. 52 s.
- JAGOŠ, P. - ILLEK, J. - JURAJOVÁ, J. aj.: Výzkum karencí minerálních látek při metabolických poruchách. [Výzkumná zpráva.] Brno, Vysoká škola veterinární 1975a. 175 s.
- JAGOŠ, P. - ILLEK, J. - JURAJOVÁ, J. aj.: Průzkum a vyhodnocení zdraví a veterinární prevence ve vybraných výkrmnách skotu. [Výzkumná zpráva.] Brno, Vysoká škola veterinární 1975b. 44 s.
- KONI, A.: Beitrag zur biotisch-chemischen und -physikalischen Diagnostik der fütterungsbedingten Osteopathien des Rindes unter besonderer Berücksichtigung ihrer porotisch-malazischen Mischformen. [Diplomarbeit.] Leipzig 1979. 59 s. - KM-Universität.
- LAUNER, P.: Untersuchungen zum Vorkommen, zur Diagnostik und zur Prophylaxe der metabolischen Azidose in einer Jungbullenaufzuchtstation. [Fachtierarzt-Abschlussarbeit.] Berlin 1980. 47 s. - Humboldt-Universität.
- LAUNER, P. - BUCHMANN, H. - FROBERG, G. aj.: Stoffwechseluntersuchungen in einer Jungbullenaufzuchtstation. Mh. Vet.-Med., 36, 1981: 220-230.
- LITTLE, D. A.: Bone biopsy in cattle and sheep for studies of phosphorus status. Austral. Vet. J., 48, 1972: 668-670.
- MARTSCHEI, U.: Untersuchungen über das Verhalten der Brenztraubensäure im Serum bei Milch- und Mastrindern. [Dissertation A.] Berlin 1973. 68 s. - Humboldt-Universität.
- PRIBOTH, W.: Experimentelle und klinische Untersuchungen zur Diagnostik und Frühdiagnostik der mineralmangelbedingten Osteopathien der Jungrinder. [Habil.-Schrift.] Leipzig 1966. 196 s. - KM-Universität.

PRIBOTH, W.: Experimentelle und klinische Untersuchungen über Störungen der Ca-P-Stoffwechselregulation bei Osteopathien des Rindes. 3. Mitt.: Bioptisch-chemische Untersuchungen zur Bestimmung der Mineralsalzmasse in der Volumeinheit Knochengewebe (mg/cm^3) beim Jungrind. Arch. Exp. Vet.-Med., 23, 1969: 685-692.

PRIBOTH, W.: Weiterentwicklung der diagnostischen Möglichkeiten der Knochenbiopsie unter besonderer Berücksichtigung der Mengen- und Spurenelementanalyse. [F/E Aufgabe.] Leipzig, KM-Universität 1976. 92 s.

PRIBOTH, W. - FRITZSCHE, H.: Experimentelle und klinische Untersuchungen über Störungen der Ca-P-Stoffwechselregulation bei den Osteopathien des Rindes. 1. Mitt.: Die Wirkung einer Phosphormangelfütterung auf das Skelett des Jungrindes. Chemische und physikalische Untersuchungen an post mortem entnommenem Knochenmaterial als Grundlage für die Entwicklung bioptisch-chemischer und röntgenologisch-photometrischer Verfahren. Arch. Exp. Vet.-Med., 23, 1969: 653-673.

PRIBOTH, W. - KONI, A.: Bedeutung einfacher bioptisch-physikalischer Methoden für die Osteopathiediagnostik beim Rind. Mh. Vet.-Med., 35, 1980: 380-384.

PRIBOTH, W. - SEFFNER, W. - WUJANZ, G.: Die Knochenbiopsie beim Rind - Möglichkeiten der chemischen und histologischen Untersuchung zur Diagnose mineralstoffmangelbedingter Osteopathien. Mh. Vet.-Med., 23, 1968: 865-871.

PRIBOTH, W. - WUJANZ, G. - SEFFNER, W.: Zur Bedeutung und Durchführung der Knochenbiopsie beim Rind. Mh. Vet.-Med., 27, 1972: 77-78.

PURVANCE, G. T. - TRANSTRUM, L. G.: Vertebral biopsy in cattle. J. Amer. vet. Med. Assoc., 151, 1967: 716-718.

WEGNER, W.: Genetische Aspekte systemischer Mineralisationsstörungen. Tierärztl. Praxis, 16 (Suppl. 3), 1988: 36-39.

WILLIAMS, S. N. - LAWRENCE, L. A. - McDOWELL, L. R. aj.: Criteria to evaluate bone mineralization in cattle: I. Effect of dietary phosphorus on chemical, physical, and mechanical properties. J. Anim. Sci., 69, 1991: 1232-1242.

Došlo 18. 1. 1994

DOUBEK, J. - ILLEK, J. - ONDRÁČEK, J. (University of Veterinary and Pharmaceutical Sciences, Brno):

Pre-clinical diagnosis of metabolic osteopathy in fattened bulls.

Vet. Med. - Czech, 39, 1994 (5): 231-243.

Diagnostic significance of some clinico-biochemical parameters was investigated in 221 fattened bulls.

An evaluation of the results has shown that the determination of concentrations of calcium, inorganic phosphorus and alkaline phosphatase activity in blood plasma was not of essential importance for diagnostics. The values of these parameters were within the reference range (Tab. I).

The parameters determined by chemical analyses of bioptates from the tuber coxae of the fattened bulls with various forms of alimentary osteopathy showed characteristics,

statistically significant differences in comparison with the control animals (Tabs. II, III, IV).

In the bulls of group B/1 (clinically healthy, phosphorus deficit in the feed ration, acidogenic nutrition in part of the animals, lowered performance, occurrence of clinical cases of osteopathy in fattening facilities), a significant decrease in the values of ash per 1 g fat-free dry matter and per 1 cm³ spongy substance of the *t. coxae* and a significantly wider index Ca/P were determined. In the bulls of group B/2 (clinically healthy, deficit of phosphorus, calcium, proteins and energy in the feed ration, decreased performance, occurrence of clinical osteopathy), a significant decrease of ash per 1 g fat-free dry matter and per 1 cm³ of spongy substance of the *t. coxae* was determined, the Ca/P index was significantly narrower.

In the bulls of group C/1 (bulls with clinical symptoms of skeleton disorder, phosphorus deficit in the feed ration, acidogenic nutrition in part of the animals), a significant decrease of ash per 1 g fat-free dry matter and per 1 cm³ spongy substance of the *t. coxae* was found out, the Ca/P index was wider. In the bulls of group C/2 (bulls with clinical symptoms of skeleton disorder, deficit of phosphorus, calcium, protein and energy in the feed ration), a significant decrease in ash per 1 g fat-free dry matter and per 1 cm³ of spongy substance of the *t. coxae* and narrowed Ca/P index were determined.

Histological examination of osteobiotates confirmed the pathognomy of these differences with respect to the process taking place in the skeleton.

Rachotic lesions could be diagnosed from the determination of ash weight per 1 g fat-free dry matter, porotic lesions in the skeleton were diagnosed from the determination of ash per 1 cm³ spongy substance of the *t. coxae*. The Ca/P index in bone ash reflected the longer-time situation of these elements in feed, and it was possible to specify the disorder on the basis of this index.

Complex examination of the fattened bulls demonstrated applicability of some parameters of the spongy substance determined by chemical analysis to pre-clinical diagnostics of metabolic disorders of the skeleton.

fattened bulls; metabolic osteopathy; pre-clinical diagnostics; osteobiotate; bone ash; calcium; inorganic phosphorus; Ca/P index

Contact Address:

MVDr. Jaroslav D o u b e k, CSc., Vysoká škola veterinární a farmaceutická,
Palackého 1 - 3, 612 42 Brno, Czech Republic
Tel. 05 41321107, fax 05 41211151

Upozorňujeme čtenáře, že v čísle 6/1994 časopisu

VETERINÁRNÍ MEDICÍNA

mají být uveřejněny tyto příspěvky:

Bíreš J., Bartko P., Michna A., Weisssová T., Bírešová M., Jenčík F.: Klinicko-biochemické aspekty záťaže jařlovíc magnezitovým úletem

Čorba J., Krupicer I., Váradý M., Peřko B.: Účinnost intraruminálních albendazolových bõlusov na gastrointestinálne nematódy a trematódy *Dicrocoelium dendriticum* u ovieč

Tadesse W. M., Čížek A.: The isolation of salmonellae from poultry carcasses and equipments in the poultry processing plant by means of two procedures

Hámpel J., Herzig I., Vlček J.: Pharmacokinetics of sodium humate in chickens

Kotrbaček V., Halouzka R., Jurajda V., Knotková Z., Filka J.: Zvýšení obranyschopnosti brojlerů po podávání biologických krmných doplňků

Čonková E.: Bioklíma výkrmne brojlerových kurciat a jej vplyv na mykotickú kontamináciu

Fišer A.: Hygienické aspekty mikroklimatu v intenzívnom chovu kráľíků

Hejlíček K., Tremel F., Černý L.: Epizootologie a patogenese aviární mykobakteriõzy u havrana polního (*Corvus frugilegus*)

Juriš P., Gulovič J., Lašanda V., Ružík V., Plachý P.: Bakteriologický, mykologický a parazitologický prieskum kontaminácie bitúnkových odpadových vôd

PLÍŠŇOVÁ A MIKROBIÁLNÍ KONTAMINACE PRAŠNÉHO SPADU VE STÁJÍCH PRO JALOVICE A DOJNICE

A. Fišer¹, A. Láníková², P. Novák¹

¹Vysoká škola veterinární a farmaceutická, Brno

²Státní veterinární ústav, Brno

V hale monobloku pro odchov 1 200 jalovic ve volném bezstelivovém ustájení, ve dvou sekcích monobloku pro 1 300 krav ve volném stelivovém ustájení a ve dvou sekcích vazného stelivového malokapacitního ustájení pro 20 krav byla sledována dlouhodobě mikrobiální kontaminace prašného spadu na ploše 1 cm² za 24 h se zvláštním zřetelem na zachyt plísni. Nejnižší průměrné počty mikrobů zachycených ze vzorků prašného spadu na MPA a mikrokoků zachycených na krevní agar s 10 % NaCl byly zjišťovány v sekcích malokapacitní stáje pro 20 dojníc. Nejvyšší počty L+ a L-mikrobů zachycených na Endův agar byly naopak v prašném spadu zjišťovány v sekcích velkokapacitního kravína, přičemž počty plísni na Czapek-Doxově agaru byly v těchto sekcích velkokapacitního kravína nejvyšší. To odpovídá podle našich závěrů způsobu nastýlání a množství slámy na dojnici v obou technologiích ustájení dojníc. V prašném spadu byly identifikovány toxigenní druhy plísni, z nichž častou frekvencí výskytu vykazovaly druhy *Aspergillus fumigatus*, *A. glaucus*, *Aspergillus* sp., *Penicillium* sp., *Geotrichum* sp., *Absidia* sp., *Cladosporium* sp. Je poukázáno na souvislost mezi plísní v prašném spadu a plísněmi kontaminovaného krmiva a slámy k podestýlání. Prašný spad se stává významným sekundárním zdrojem kontaminace stájového ovzduší mikroby a plísněmi pro aerogenní působení infekčních agens při šíření respiračních infekcí, speciálně mykóz, ustájených zvířat.

jalovice; dojnice; ustájení; prašný spad; plísně; mikroby

Mikrobiální kontaminaci stájového prostředí je možno hodnotit nejméně ze tří hledisek, a to podle mikrobiální kontaminace ovzduší, mikrobiální kontaminace stájových ploch a konstrukcí a podle mikrobiální kontaminace prašného spadu.

Prachová částice se stává ve stáji pro mikroby nejen nosičem, ale s ohledem na vysoký podíl organické substance též i živnou půdou a ochranou, umožňující při příznivých podmínkách teploty a vlhkosti prostředí dlouhodobé přežívání mikrobů. Sediment stájového prachu se stává trvalým sekundárním zdrojem mikrobiální kontaminace ovzduší, když primárním zdrojem prachu jsou podestýlka a krmivo. Samotné zvíře zůstává primárním zdrojem především fekální mikroflóry. Prašnost ovzduší ve stáji závisí na více faktorech, mezi které se řadí technologie ustájení, technika krmení, větrací systém, čištění a dezinfekce stáje a zatížení plochy

a prostoru stáje zvířaty. V průběhu krmení, podestýlání a ošetřování zvířat se množství prachu v ovzduší stáje zvyšuje, v období klidu ve stáji dochází k postupné sedimentaci prachových částic na horizontální a vertikální plochy.

V předkládané práci jsme sledovali mikrobiální kontaminaci prашného sedimentu se zvláštním zaměřením na záchyt plísň při různé technologii ustájení jalovic a dojnic. Cílem práce je hodnocení mikrobiální kontaminace prашného spadu jako kritéria pro posouzení možného negativního vlivu mikrobiální kontaminace stájového prostředí na ustájená zvířata.

MATERIÁL A METODY

Mikrobiální kontaminace prашného spadu byla sledována:

- v hale monobloku velkokapacitní odchovny pro 1 200 jalovic s technologií volného bezstelivového ustájení, kde krmení bylo zajišťováno pásovým dopravníkem krmiva v krmném žlabu v úrovni stání; doba sledování byla 15 měsíců;
- ve dvou sekcích monobloku velkokapacitního kravína pro 1 300 krav s technologií volného stelivového ustájení, kde krmení bylo zajišťováno oboustranně sklopným nadžlabovým dopravníkem pro rozvoz krmiva do žlabu a steliva na stání dojnic; doba sledování byla 12 měsíců;
- ve dvou stájových sekcích pro 20 kusů dojnic spojených provozní chodbou s technologií vazného stelivového ustájení malokapacitního charakteru, kde krmení bylo zajišťováno ručně do žlabu pomocí krmného vozíku; doba sledování byla tři měsíce.

Prašný vzorek byl zachycován sedimentací prachu na dno sterilní láhve o ploše 63,58 cm² umístěné na sloupech asi 0,20 - 0,40 m na hlavami zvířat na jednom až dvou stanovištích každé stájové sekce po dobu asi 30 dnů. V laboratoři byl prашný sediment v láhvi zalit 100 ml sterilního fyziologického roztoku o pH 7, výluh byl po 24 h vytřepán na třepačce po dobu 20 min a 1 ml vzorku byl ředěn v sestupné dekadické řadě. Množství 0,2 ml z každého ředění bylo kultivováno na 4% masopeptonový agar (MPA), na krevní agar s 10 % NaCl, na Endův agar a na Czapek-Doxův agar. První tři živné půdy byly inkubovány v termostatu při teplotě 37 °C 24, 48 - 72 a 24 h, Czapek-Doxův agar byl inkubován při pokojové teplotě 5 - 7 dnů. K odečtení bylo zvoleno ředění s růstem od 30 do 300 kolonií. Výsledný přepočet udává množství mikrobů v prашném spadu na ploše 1 cm² za 24 hodin.

Z Czapek-Doxova agaru byly dále izolovány a identifikovány nejčastěji se vyskytující plísňové kolonie. K izolaci těchto kolonií byly použity i Petriho misky se Czapek-Doxovým agarem použité při záchytu mikrobů z ovzduší sedimentační metodou. Hodnocení mikrobiální kontaminace ovzduší sledovaných stájí je předmětem jiného sdělení (F i š e r , 1991).

VÝSLEDKY

Z grafického znázornění na obr. 1 vyplývá, že celkové počty mikrobů na MPA (A) v prašném spadu jsou v průměrných i maximálních hodnotách nejvyšší v sekcích velkokapacitního kravína, tj. $2,2 \cdot 10^6/\text{cm}^2/24 \text{ h}$. V hale monobloku pro odchov jalovic byly zjišťovány počty mikrobů na MPA v prašném spadu o něco nižší, řádově však na stejné úrovni, tj. $1,1 \cdot 10^6/\text{cm}^2/24 \text{ h}$. V klasickém malokapacitním vazném ustájení dojníc na stlaném stání je záchyt celkových počtů mikrobů na MPA v prašném spadu nejnižší, tj. $5,3 \cdot 10^5/\text{cm}^2/24 \text{ h}$ a pouze v maximální absolutní hodnotě $1,4 \cdot 10^6/\text{cm}^2/24 \text{ h}$ dosahuje průměrů, které byly zjišťovány v prašném spadu obou monobloků. Podobné závěry jsou platné i pro záchyt mikrokoků na krevním agaru s 10 % NaCl v prašném spadu (B), avšak s počty mikrokoků řádově nižšími ve srovnání s počty mikrobů na MPA (A), tj. $6,8 \cdot 10^5$ resp. $2,5 \cdot 10^5$ resp. $7,7 \cdot 10^4/\text{cm}^2/24 \text{ h}$.

Počty L+ (C) a L- (D) mikrobů zachycené na Endův agar jsou nejnižší v prašném spadu sekcí velkokapacitního kravína, tj. $0,48 \cdot 10^1$ resp. $3,2 \cdot 10^1/\text{cm}^2/24 \text{ h}$, přičemž záchyt L+ mikrobů je nejvyšší v prašném spadu v hale monobloku pro jalovice, tj. $1,0 \cdot 10^4/\text{cm}^2/24 \text{ h}$ a záchyt L- mikrobů je nejvyšší naopak v prašném spadu sekcí malokapacitní stáje dojníc, tj. $7,8 \cdot 10^4/\text{cm}^2/24 \text{ h}$.

Počty plísní (E) jsou nejvyšší v prašném spadu sekcí velkokapacitního kravína, tj. $3,1 \cdot 10^3/\text{cm}^2/24 \text{ h}$. Počty plísní v prašném spadu haly monobloku pro odchov jalovic a malokapacitních sekcí stáje pro dojnice jsou nižší a řádově si blízké, tj. $9,1 \cdot 10^2$ resp. $7,7 \cdot 10^2/\text{cm}^2/24 \text{ h}$. Průměrné počty ostatních mikrobů zachycených na Czapek-Doxův agar (F) jsou si ve všech sledovaných stájích velmi blízké a vykazují vyšší hodnoty než jsou hodnoty zachycených plísní v prašném spadu, tj. $1,2 - 2,9 \cdot 10^5/\text{cm}^2/24 \text{ h}$.

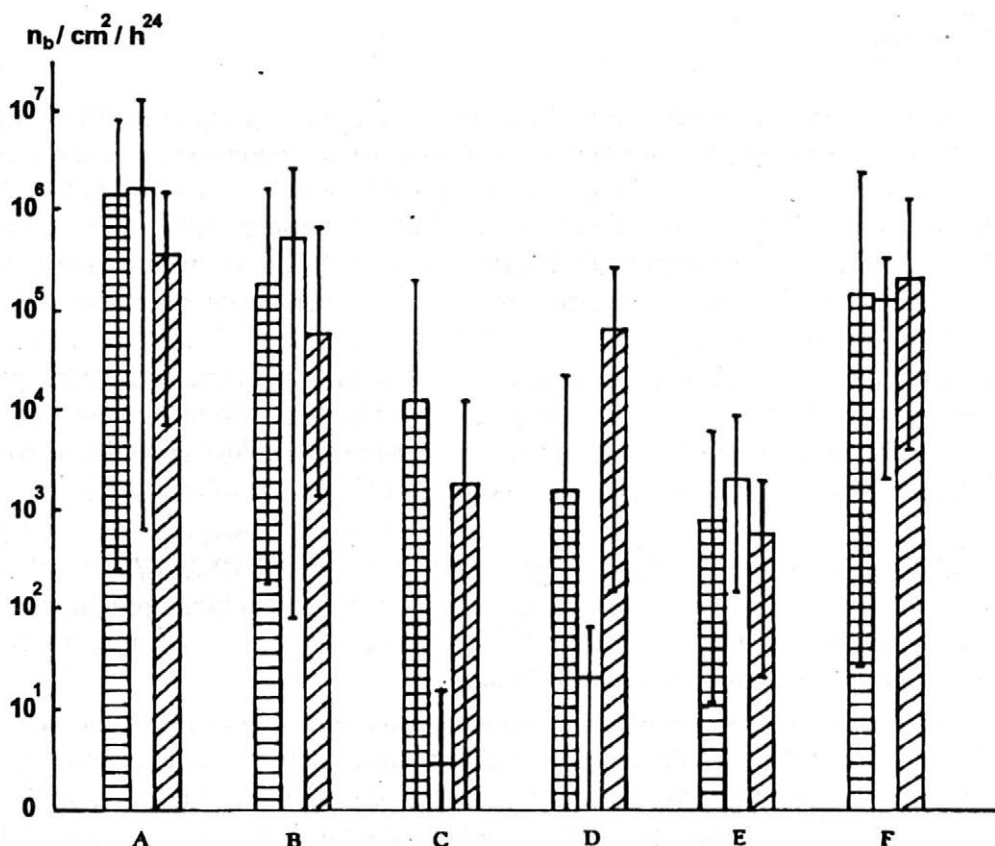
Frekvence záchytu jednotlivých druhů plísní a kvasinek je tabelárně znázorněna v hale pro odchov jalovic. Jednotlivá vyšetření prašného spadu z přední (PP) a zadní poloviny (ZP) haly jsou uvedena rozsahem písmen A - K (tab. I).

Identifikace plísní z prašného spadu sekcí velkokapacitního kravína a sekcí malokapacitní stáje pro dojnice je vyjádřena slovně s ohledem na nižší počet izolací.

Jak je zřejmé z tab. I v hale monobloku pro odchov jalovic s technologií bezstelivového ustájení bylo rozlišeno 25 druhů plísní s největší frekvencí pro *Aspergillus fumigatus* a *Cladosporium* sp. (11x), dále potom pro *Paecilomyces* sp. (7x), *Penicillium* sp. (6x), *Aspergillus* sp., *A. versicolor*, kvasinky (5x) a *Geotrichum* sp. (4x).

V sekcích velkokapacitního kravína s technologií stelivového volného ustájení dojníc bylo izolováno celkem osm druhů plísní s nízkou frekvencí výskytu, a to pro *Aspergillus* sp. *A. fumigatus* (2x), pro *Alternaria* sp., *Penicillium* sp., *Cladosporium* sp., *Trichoderma viridae*, *Geotrichum* sp. a *Paecilomyces* sp. (1x).

V malokapacitních sekcích stáje pro dojnice ve vazném ustájení na podestýlce bylo rozlišeno *Cladosporium cladosporioides* (6x), *Cladosporium* sp. a *Alternaria* sp.



1. Průměrné, maximální a minimální počty mikrobů na různých živných půdách (A-F) v prašném spadu sledovaných stájí na ploše 1 cm² za 24 hodin – Average, maximum and minimum counts of microbes on different nutrient media (A-F) in dust deposition of the investigated cowshed per 1 cm² area and 24 hours

Legenda – Legend:

Živné půdy – Nutrient media

A = 4% masopeptonový agar (MPA) - celkový počet mikrobů –

4% meat-peptone agar (MPA) - total counts of microbes

B = krevní agar s 10 % NaCl - celkový počet mikrokoků –

blood agar with 10% NaCl - total counts of micrococci

C = Endův agar - počty L+ mikrobů – End' s agar - counts of L+ microbes

D = Endův agar - počty L- mikrobů – End' s agar - counts of L- microbes

E = Czapek-Doxův agar - počty plísň – Czapek-Dox agar - counts of molds

F = Czapek-Doxův agar - počty ostatních mikrobů – Czapek-Dox agar - counts of other microbes

▨ - hala monobloku pro odchov 1 200 jalovic - technologie volného bezstelivového ustájení –
section for management of 1 200 heifers - technology of loose litterless housing

□ - sekce monobloku pro 1 300 krav - technologie volného stelivového ustájení –
section for management of 1 300 cows - technology of loose litter housing

▤ - sekce pro 20 dojnic - technologie vazného stelivového ustájení –
section for management of 20 dairy cows - technology of tie litter stall housing

I. Frekvence záchytu jednotlivých druhů plísní v prašném spadu přední (PP) a zadní (ZP) poloviny haly monobloku pro 1 200 jalovic a technologii bezstelivového ustájení – Frequency of occurrence of the mold species intercepted in dust deposition of the front (PP) and rear (ZP) part of the section for 1 200 heifers with litterless housing technology

	PP											ZP											Σ
	A	B	D	E	F	G	H	I	J	K		A	B	C	D	E	F	G	H	I	J		
<i>Aspergillus</i> sp.				X		X				X	3				X			X				2	5
<i>A. fumigatus</i>	X	X	X		X				X		5	X	X	X	X	X				X		6	11
<i>A. terreus</i>		X									1												1
<i>A. restrictus</i>									X		1												1
<i>A. versicolor</i>						X	X	X			3							X	X			2	5
<i>A. ochraceus</i>						X					1							X				1	2
<i>A. fischeri</i>															X							1	1
<i>Cladosporium</i> sp.		X	X		X	X	X		X	X	7		X				X	X		X		4	11
<i>Cl. fulvea</i>						X					1												1
<i>Cl. cladosporioides</i>						X					1												1
<i>Alternaria</i> sp.																			X			1	1
<i>A. alternata</i>																		X				1	1
<i>Geotrichum</i> sp.	X	X									2		X							X		2	4
<i>Absidia</i> sp.		X									1												1
<i>A. corymbifera</i>					X						1												1
<i>Paecilomyces</i> sp.		X			X	X			X	X	5	X					X					2	7
<i>Trichoderma viridae</i>															X							1	1
<i>Penicillium</i> sp.			X			X	X				3			X		X		X				3	6
<i>P. vermiculatum</i>			X								1			X							1	2	
<i>Sarcina</i>			X								1												1
<i>Fusaria</i>						X					1				X		X					2	3
<i>Aureobasidium</i> pol.								X			1								X			1	2
<i>Botrytis cinerea</i>									X		1								X			1	2
<i>Scopulariopsis brev.</i>																	X	X		X		3	3
Kvasinky ¹	X								X	X	3								X	X		2	5

¹ yeasts

(4x), *Mycelia sterilia* a kvasinky (3x), *Rhizomucor pusillus* a *Gliocladium* sp. (2x) a *Acremonium mucorum*, *Paecilomyces niveus*, *Fusarium* sp., *Streptomyces* sp., *Alternaria alternata*, *Aspergillus glaucus*, *A. flavus* a *A. fumigatus* a *Cladosporium fulvum* (1x).

Jak vyplývá z mikrobiologického vyšetření prашného sedimentu ve sledovaných stájích, je osazení 1 cm² horizontálních ploch mikroby v prachu značné. Sedimentovaný prach se stává ve stáji sekundárním, ale významným zdrojem hygienicky významných mikrobů, které mohou kontaminovat ovzduší a působit na dýchací cesty zvířat, případně znečišťovat povrch kůže a sliznic zvířat.

Zde je na místě vysvětlit použitou metodiku záchytu a vyhodnocení prашného sedimentu v naší práci. Ve stájovém prostředí se zvířaty dochází sice na určitou dobu k devitalizaci některých mikrobiálních druhů v důsledku dehydratace, avšak v důsledku trvalé obnovy zdrojů stájové mikroflóry defekací zvířat, přisunem krmiv a steliva, kdy při manipulaci s nimi vzniká nová další kontaminace prachových částic, nedochází v podstatě ke kvantitativnímu úbytku v mikrobiálním osazení prашného sedimentu. Jde zde o kontinuální proces, který končí teprve odsunem zvířat ze stáje při turnusovém způsobu chovu. Ve vyprázdněné stáji je proto možné po určité době sledovat úbytek mikroorganismů v prachu v důsledku jejich devitalizace (F i š e r, H u ň á t, 1976). Ve stájích obsazených zvířaty k podobnému úbytku mikroorganismů v prашném spadu nedochází, poněvadž obnova zdrojů mikrobiální kontaminace je zde trvalá a udržuje srovnatelný setrvalý stav, který je vyjádřen mikrobiální kontaminací prашného sedimentu na ploše 1 cm² za 24 h. Nejprůpřívětivější stav s ohledem na nejnižší záchyt celkových počtů mikrobů na MPA a mikrokoků na krevním agaru s NaCl byl zjištěn v malokapacitních sekcích pro 20 dojnic ve vazné technologii stlaného ustájení. V hodnocení plísňové kontaminace prachu nejsou však mezi sledovanými stájemi významné řádové rozdíly a při hodnocení fekální mikroflóry na Endově agaru (L+ a L- mikrobi) je nejprůpřívětivější situace dosahována v sekcích velkokapacitního kravína s technologií volného stelivového ustájení dojnic. Příčiny je možno v tomto ustájení hledat v relativně vysoké denní dávce stelivové slámy ve srovnání s podestýláním dojnic v malokapacitních sekcích kravína pro 20 dojnic.

S ohledem na výskyt zjišťovaných druhů plísní jsou dnes nejvíce sledovány mikroskopické houby způsobující mykotoxikózy hospodářských zvířat. Hlavním zdrojem mykotoxikóz je zaplísňené krmivo a sláma používaná k podestýlání (D a n k o, H e n g l, 1975 - cit. S m r ž, H r n ě í ř í k, 1981). Také my jsme zjišťovali v jiné práci (F i š e r aj., 1992) značně vysokou kontaminaci krmné směsi s mačkaným ovsem, slámy k podestýlání, vojtěškové směsi a šrotu a kukuřičné siláže. krmnou směs s mačkaným ovsem jsme hodnotili jako směs podprůměrné kvality pro dospělé skot (2,3.10⁵ a 2,0.10⁵ plísní v 1 g směsi) s ohledem na požadavek L a f f o n d - G r e l e t y h o (cit. L i n d e r, 1973), který udává počet 60 000 - 700 000 plísní v 1 g jako normu podprůměrnosti. Navíc kvalitativně byly identifikovány ze vzorků této směsi plísně *Rhizopus stolonifer*, *Fusarium* sp.,

Aspergillus sp., *A. flavus*, *A. glaucus*, *Absidia* sp. při sušině kolem 87 %. Posledních pět druhů plísní je považováno za toxinogenní druhy.

Také vyšetření vzorků slámy a krmiv ze žlabů malokapacitní stáje pro 20 dojníc potvrdilo výskyt toxinogenních plísní, z nichž uvádíme ve slámě zjištěný druh *Fusarium oxysporum*, rostoucí při teplotě 24 °C, *Aspergillus flavus*, *A. ustus*, *A. glaucus*, *Absidia corymbifera*, rostoucí při teplotě 37 °C. Ve směsi vojtěšky a šrotu uvádíme *Absidia* sp., *Mucor* sp., *Fusarium nivale*, *Aspergillus candidus* a *Rhizomucor pussillus*, rostoucí při teplotě 37 °C. V kukuřičné siláži uvádíme nálezy druhů *Fusarium* sp., *Absidia corymbifera*, *Aspergillus glaucus* a *A. candidus*, rostoucí při teplotě 37 °C.

Podle Smrže a Hrnčířka (1981) bylo v jimi sledovaných objektech pro chov skotu identifikováno 72 druhů mikroskopických hub, z nich 10 termofilních druhů, převážně z řádu *Mucorales* a 32 druhů mikromycetů produkujících mykotoxiny. V průběhu roku 1980 prováděli tito autoři kontrolní mykologická vyšetření zmetků skotu. Kultivačně byly potvrzeny výskyty některých druhů plísní, které se shodovaly s nálezy při ustájení skotu. Jde zejména o druhy *Absidia corymbifera*, *A. ramosa*, *Acremonium* sp., *Aspergillus amstelodami*, *A. fumigatus*, *A. ochraceus*, *A. penicilloides*, *Fusarium* sp., *Geotrichum candidum*, *Penicillium cyclopium*, *P. expansum* a *P. frequentans*, z nichž některé byly potvrzeny i v našich nálezech v prašném sedimentu (tab. I).

Mezi toxinogenní plísně se řadí především druh *Aspergillus fumigatus* produkující toxin chinon, na který jsou vnímavé všechny druhy zvířat. Skot je senzibilní vůči toxinům druhu *Aspergillus glaucus* produkující toxin antrachinon, který vyvolává haemoragický syndrom, *Aspergillus clavatus* a *A. oryzae* vyvolávající toxinem clavatinem resp. maltoryzínem neurotoxikózy a *A. flavus*, jehož produkce aflatoxinu vyvolává hepatotoxikózy (Linder, 1973). Mezi toxinogenními plísněmi, kontaminujícími v posledních letech krmiva, zaujímají přední místo plísně rodu *Aspergillus*, *Penicillium*, *Fusarium* a *Stachybotrys* (Piskáč, Kačmaraj, 1985).

Jak vyplývá z výsledků našich vyšetření při izolaci a identifikaci plísní v prašném sedimentu sledovaných stájí, byl potvrzen záchyt většiny shora uvedených druhů plísní. Lze říci, že riziko nemoci, resp. infekcí, v důsledku mikrobiální kontaminace prachu je nejvyšší v hale monobloku pro jalovice nejmladší věkové kategorie. Do této haly jsou přesouvány jalovičky ve věku 3 - 4 měsíců po skončení období mléčné výživy. Při přechodu na jiný druh krmení jsou proto tato zvířata náchylná pro vznik respiračních mykóz za předpokladu, že toxinogenní plísně v ovzduší dosahují infekční koncentrace. Také reprodukční problémy, které se v této hale v určitém období u připouštěných jalovic projevovaly, mohly mít příčinu v zastoupení diskutovaných druhů plísní v primárně kontaminovaném krmivu. V přední části haly, kde byla ustájena bezstelivově v celoroštových kotcích nej-

mladší kategorie jaloviček, bylo prokázáno zvýšení průměrných počtů L+ mikrobů v ovzduší nad horní hranicí pásma tolerance konvenčních chovů. Průměrné počty plísni v 1 m³ vzduchu zde dosahovaly 5,6.10³ jedinců, v zadní polovině haly 6,1.10³ jedinců. V ovzduší sekcí velkokapacitního kravína při stelivovém volném ustájení dojníc byly zjištěny průměrné hodnoty plísni v ovzduší řádově vyšší, tj. 2,0.10⁴/m³ (F i š e r, 1991).

Z diskutovaných zjištění je možno říci, že snížení mikrobiální a plísňové deprese prostředí lze dosáhnout především péčí o mikrobiální nezávadnost prvotních zdrojů, tj. krmiva a steliva, dále potom opatřeními k omezení prašnosti ve stájích, z nichž uvádíme odpovídající výměnu vzduchu s takovým řešením větracího systému, aby nedocházelo k nadměrným rychlostem proudění vzduchu ve stáji, a šetrné čištění horizontálních a vertikálních ploch stájových konstrukcí a zařízení.

L i t e r a t u r a

FIŠER, A.: Bioklimatické studie v chovech hospodářských zvířat. [Doktorská dizertace.] Brno 1991. 318 s. - Vysoká škola veterinární a farmaceutická.

FIŠER, A. - HUŇÁT, A.: Contamination of air and dust by coliform germs in large-scale farrowing houses. Acta Veter. (Brno), 45, 1976: 59-63.

FIŠER, A. - NOVÁK, P. - LÁNÍKOVÁ, A. - ŠOCH, M. - PAVLASOVÁ, M. - JANŠTOVÁ, B.: Dílčí zpráva VZč: Z-227, P8, DÚ 03, HS, B/76/92, VÚZT Praha-Řepy, Ústav zoohygieny VŠVF Brno, 1992. 33 s.

LINDER, Th.: Hygiene et industrialisation des productions animales. Inform. Téchn. Direct. Serv. Vétér., 1973: 45-48.

PISKAČ, A. - KAČMÁR, P. a kol.: Veterinární toxikologie. Praha, SZN 1985. 256 s.

SMRŽ, P. - HRNČÍŘÍK, K.: Termofilní mykoflóra ve velkochovech skotu. Veterinářství, 31, 1981: 299-300.

Došlo 19. 1. 1994

FIŠER, A. - LÁNÍKOVÁ, A. - NOVÁK, P. (University of Veterinary and Pharmaceutical Sciences, Brno; State Veterinary Institute, Brno):

Mold and microbial contamination of dust deposition in cowsheds for heifers and dairy cows.

Vet. Med. - Czech, 39, 1994 (5): 245-253.

A long-term observation of the microbial contamination of dust deposition per 1 cm² area and 24 hours with special respect to mold detection was performed in a section of the cowshed for management of 1 200 heifers with loose litterless housing, in two sections for management of 1 300 cows with loose litter housing and in two sections of a small stable for 20 cows with tie litter stalls. The lowest average counts of microbes intercepted in the samples of dust deposition on MPA and micrococci intercepted on

blood agar with 10% NaCl were determined in the sections of the small stable for 20 dairy cows. The lowest counts of L+ and L- microbes intercepted on End's agar from dust deposition were found out in the section of the large-capacity cowshed, while the mold counts on Czapek-Dox agar were highest in these sections of the large-capacity cowshed. According to our conclusions this is in agreement with the methods of litter use and amount per dairy cow in both technologies of dairy cow housing.

Toxinogenic species of molds were identified in dust deposition, these species occurred frequently: *Aspergillus fumigatus*, *A. glaucus*, *Aspergillus* sp., *Penicillium* sp., *Geotrichum* sp., *Absidia* sp., *Cladosporium* sp. A relationship between the detection of molds in dust deposition and the molds of contaminated feed and straw for bedding has been discovered.

Dust deposition is an important secondary source of contamination of the stable environment with microbes and molds due to aerogenic action of infectious agents during spread of respiratory infections of housed animals, especially of mycoses.

heifers; dairy cows; stables; dust deposition; molds; microbes

Contact Address:

Prof. MVDr. Antonín Fišer, DrSc., Vysoká škola veterinární a farmaceutická, Palackého 1 - 3, 612 42 Brno, Czech Republic
Tel. 05 41321107, fax 05 41211151

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

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

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

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

PRESTUP AMINOKYSELÍN CEZ BACHOROVÝ EPITEL OVIEC: INTERAKCIE MEDZI LEUCÍNOM A LYZÍNOM

Z. Faixová, J. Várady

Univerzita veterinárskeho lekárstva, Košice

Sledovali sme prestup lyzínu a leucínu cez bachorový epitel oviec v mukózo-se-róznom smere po 60-minútovej inkubácii. V prvej časti pokusu sme merali prestup lyzínu a leucínu v rôznych koncentráciách, keď obe aminokyseliny boli jedinými aminokyselinami v inkubačnom roztoku. V druhej časti pokusu sme lyzín inkubovali spolu s leucínom. Porovnávaním množstva prestúpeného lyzínu v prvej a druhej časti experimentu sme zistili, že leucín prítomný v inkubačnom médiu znižoval prestup lyzínu cez bachorový epitel oviec. 5 $\mu\text{mol/l}$ koncentrácia leucínu znižovala prestup 5 $\mu\text{mol/l}$ lyzínu o 55 %, 15 $\mu\text{mol/l}$ koncentrácia znižovala prestup lyzínu o 68 % a 20 $\mu\text{mol/l}$ koncentrácia leucínu znižovala prestup 5 $\mu\text{mol/l}$ lyzínu o 62 %. 25 $\mu\text{mol/l}$ koncentrácia leucínu znižovala prestup 25 $\mu\text{mol/l}$ lyzínu o 58 % a 75 $\mu\text{mol/l}$ koncentrácia leucínu znižovala prestup 25 $\mu\text{mol/l}$ koncentrácie lyzínu o 38 %. Na základe uvedených výsledkov predpokladáme, že obe sledované aminokyseliny môžu mať odlišné, ale tesne asociované transportné systémy, takže väzba aminokyseliny k jednému systému môže ovplyvniť väzbu aminokyselín ku ďalším systémom.

ovca; aminokyseliny; lyzín; leucín; bachor

Sliznica predžalúdkov prežúvavcov má nielen mechanickú, ale predovšetkým resorpčnú funkciu (Hofmann a Schnorr, 1982). Je schopná vstrebávať, metabolizovať a vylučovať dusíkaté zlúčeniny bielkovinového i nebielkovinového charakteru (Várady, 1985). Množstvo aminokyselín absorbovaných cez bachorovú stenu predstavuje asi 10 % z celkového dusíka absorbovaného z bachora (Hoover a Miller, 1991).

Bachorová stena nie je rovnako priepustná pre všetky aminokyseliny. Zo zmesi aminokyselín, ktoré boli podané intraruminálne ovciam, sa zistila najvyššia absorpcia aminokyselín s rozvetveným reťazcom - leucínu, izoleucínu a valínu (Leibholz, 1971a). Absorpcia histidínu cez bachorový epitel je redukovaná o 10 až 50 % v prítomnosti glycínu, arginínu, metionínu, kyseliny glutámovej a aminokyselín s rozvetveným reťazcom. Aminokyseliny s rozvetveným reťazcom a kyselina glutámová znižujú absorpciu histidínu menej ako metionín, arginín a glycín (Leibholz, 1971b).

V našej práci sme chceli zistiť, aké vzťahy existujú medzi aminokyselinami lyzín a leucín počas ich prestupu cez bachorový epitel oviec *in vitro*.

MATERIÁL A METÓDY

V experimentoch sme použili šesť oviec plemena slovenské merino s priemernou hmotnosťou 40 kg. Ovce boli kŕmené raz denne 0,4 kg priemyselne vyrábaným Melasovým krmivom a 1 kg lúčneho sena. Dietetické zloženie kŕmnej dávky: sušina 1177,58 g, stráviteľné dusíkaté látky 89 g a škrobové jednotky 0,554. Zvieratá mali voľný prístup k vode.

Po odporazení zvierat sme z brušnej dutiny odpreparovali bachor a odstránili bachorový obsah. Prázdny bachor sme premyli studenou vodou a vložili do nádoby s Thyrodeho roztokom. Z bachora sme oddelili dorzálny bachorový vak, odstránili z neho svalovú vrstvu a na vlastný pokus sme použili časť bachorového epitelu s podsliznicovým väzivom, z ktorého sme nastrihali preparáty kruhového tvaru o ploche 13,2 cm². Takto upravené preparáty bachorovej steny sme použili na sledovanie prestupu aminokyselín. V pokuse sme použili aparátúru, ktorá sa skladala z dvoch častí. Prvou vonkajšou časťou bola kadinka so 150 ml čistého Thyrodeho roztoku. V nej bola ponorená vnútorná nádoba - valec s priemerom 41 mm (naplnený 50 ml Thyrodeho roztokom s rozpustenou aminokyselinou, prípadne aminokyselinami) na konci ktorého bola fixovaná bachorová stena tak, aby epitel smeroval dovnútra valca. Prestup aminokyselín bol meraný v mukózo-seróznom smere. pH Thyrodeho roztoku v kadinke, do ktorej prestupovali aminokyseliny, bolo upravené na 7,4 a pH Thyrodeho roztoku s aminokyselinami vo valci bolo upravené na 6,9. Kadinky boli ponorené vo vodnom kúpeli, v ktorom bola udržiavaná konštantná teplota 39 °C. Roztoky v kadinkach i vo valcoch boli počas inkubácie premiešavané elektrickými miešadlami.

Na meranie prestupu aminokyselín sme použili päť preparátov z jedného bachora, z toho na štyroch preparátoch sme sledovali prestup aminokyselín a jeden preparát sme použili na kontrolu uvoľnených aminokyselín z bachorovej steny. Koncentrácie aminokyselín uvoľnených z bachorovej steny sme použili na korekciu výsledných koncentrácií aminokyselín. Pokus sme rozdelili na dve časti.

V prvej časti experimentu sme lyzín a leucín inkubovali osobitne. Použili sme tieto koncentrácie 5, 25, 50 a 75 µmol/l. Hodnoty nameraného lyzínu a leucínu sú vo výsledkoch označované ako kontrolný lyzín (lyzín K) a kontrolný leucín (leucín K).

V druhej časti experimentu bol lyzín inkubovaný spolu s leucínom:

Lys 5 µmol/l	- Leu 5 µmol/l
Lys 5 µmol/l	- Leu 15 µmol/l
Lys 5 µmol/l	- Leu 20 µmol/l
Lys 25 µmol/l	- Leu 25 µmol/l
Lys 25 µmol/l	- Leu 75 µmol/l

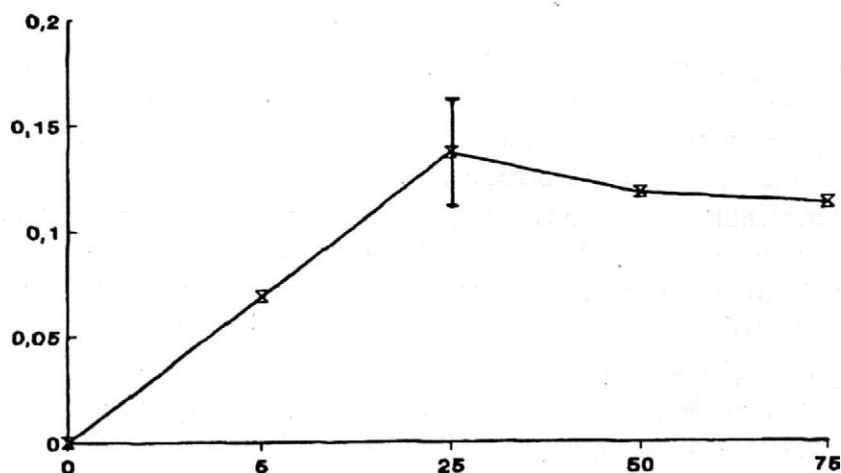
Hodnoty nameraného lyzínu v druhej časti experimentu sú vo výsledkoch označované ako pokusný lyzín (lyzín P). Koncentrácie aminokyselín sme merali po 60-minútovej inkubácii na automatickom analyzátore aminokyselín AAT 339. Použité chemikálie: L-leucín a L-lyzín.HCl (Serva, analytical grade), ostatné chemikálie (Lachema, p.a.).

Výsledky sú vyhodnotené ako aritmetický priemer $\pm$ stredná chyba priemeru (SEM). Štatistická významnosť sa stanovila párovým Studentovým t -testom.

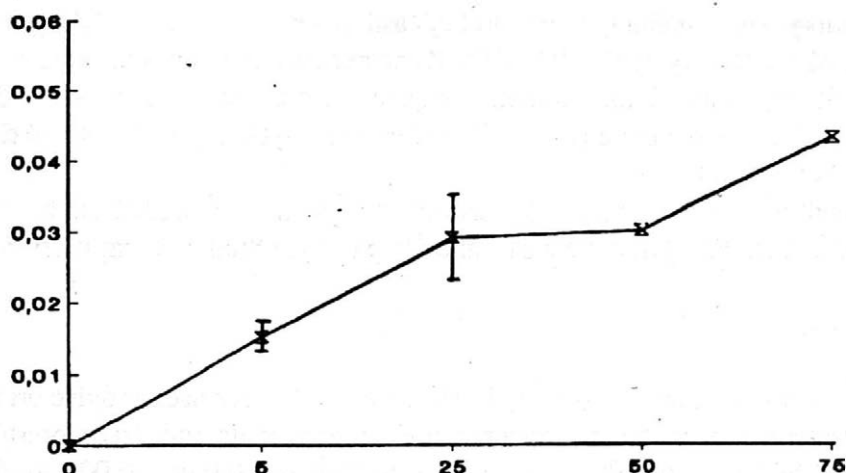
VÝSLEDKY

Na obr. 1 je znázornený prestup kontrolného lyzínu cez bachor oviec pri rôznych koncentráciách. S rastúcou koncentráciou sa zvyšovalo množstvo prestúpeného lyzínu. Kým pri 5 $\mu\text{mol/l}$ koncentrácii sme namerali $0,069 \pm 0,001 \mu\text{mol/l/cm}^2/60 \text{ min}$, pri 25 $\mu\text{mol/l}$ koncentrácii to bolo $0,137 \pm 0,031 \mu\text{mol/l/cm}^2/60 \text{ min}$. Pri 50 $\mu\text{mol/l}$ koncentrácii sa množstvo prestúpeného lyzínu ďalej nezvyšovalo a predstavovalo $0,118 \pm 0,001 \mu\text{mol/l/cm}^2/60 \text{ min}$ a pri 75 $\mu\text{mol/l}$ koncentrácii bola zistená hodnota $0,113 \pm 0,001 \mu\text{mol/l/cm}^2/60 \text{ min}$.

Na obr. 2 je znázornený prestup kontrolného leucínu cez bachor oviec pri rôznych koncentráciách. Pri 5 $\mu\text{mol/l}$ koncentrácii sme namerali $0,015 \pm 0,002 \mu\text{mol/l/cm}^2/60 \text{ min}$, pri 25 $\mu\text{mol/l}$ koncentrácii $0,029 \pm 0,006 \mu\text{mol/l/cm}^2/60 \text{ min}$



1. Množstvo lyzínu prestupujúceho cez bachorovú stenu oviec v závislosti od jeho koncentrácie na mukóznej strane (priemer $\pm$ S.E.M., $n = 6$); os x = pôvodná koncentrácia lyzínu ($\mu\text{mol/l}$), os y = koncentrácia prestúpeného lyzínu ($\mu\text{mol/l/cm}^2/60 \text{ min}$) – Lysine amount transferred through the rumen wall as depending upon its concentration on the mucosa side (mean $\pm$ S.E.M., $n = 6$); x-axis = starting lysine concentration ($\mu\text{mol/l}$), y-axis = concentration of transferred lysine ($\mu\text{mol/l/cm}^2/60 \text{ min}$)



2. Množstvo leucínu prestupujúceho cez bachorový epitel oviec v závislosti od jeho koncentrácie na mukózne strane (priemer $\pm$ S.E.M., $n = 6$); os x = pôvodná koncentrácia leucínu ($\mu\text{mol/l}$) os y = koncentrácia prestúpeného leucínu ($\mu\text{mol/l/cm}^2/60 \text{ min}$) – Leucine amount transferred through the rumen wall as depending upon its concentration on the mucosa side (mean $\pm$ S.E.M., $n = 6$); x-axis = starting leucine concentration ($\mu\text{mol/l}$), y-axis = concentration of transferred leucine ($\mu\text{mol/l/cm}^2/60 \text{ min}$)

a pri 50 a 75 $\mu\text{mol/l}$ koncentráciách bol zistený prestup 0,030 a 0,043 $\mu\text{mol/l/cm}^2/60 \text{ min}$.

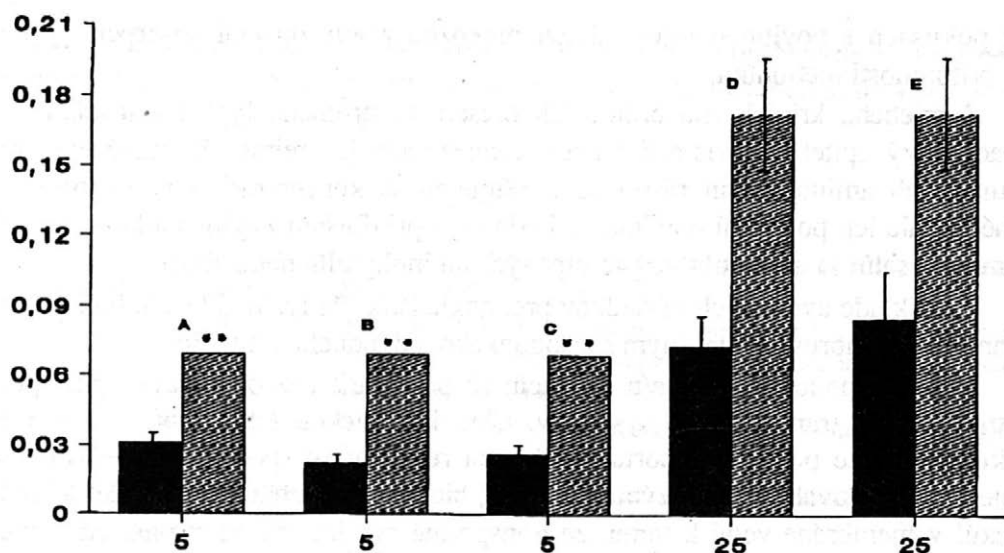
Na obr. 3 je znázornený prestup lyzínu K a lyzínu P. Porovnávali sme prestup lyzínu K, keď bol lyzín jedinou aminokyselinou v inkubačnom roztoku a prestup lyzínu P, keď bol lyzín inkubovaný spolu s leucínom. Inhibičný vplyv leucínu na prestup lyzínu je vyjadrený v percentách.

Porovnávaním prestupu lyzínu K a lyzínu P, keď pôvodná koncentrácia lyzínu pred inkubáciou bola 5 $\mu\text{mol/l}$ a leucínu 5 $\mu\text{mol/l}$, sme zistili významné zníženie prestupu lyzínu P oproti lyzínu K ($0,031 \pm 0,004$ oproti $0,069 \pm 0,001 \mu\text{mol/l/cm}^2/60 \text{ min}$; $P < 0,01$; 55 %).

Pri pôvodnej koncentrácii lyzínu 5 $\mu\text{mol/l}$ a leucínu 15 $\mu\text{mol/l}$ na mukózne strane pred inkubáciou, sme zistili významný pokles prestupu lyzínu P oproti lyzínu K ($0,022 \pm 0,005$ oproti $0,069 \pm 0,001 \mu\text{mol/l/cm}^2/60 \text{ min}$; $P < 0,01$; 68 %).

Pri pôvodnej koncentrácii lyzínu 5 $\mu\text{mol/l}$ a leucínu 20 $\mu\text{mol/l}$ pred inkubáciou na mukózne strane, sme zistili významné zníženie prestupu lyzínu P oproti lyzínu K ($0,026 \pm 0,006$ oproti $0,069 \pm 0,001 \mu\text{mol/l/cm}^2/60 \text{ min}$; $P < 0,01$; 62 %).

Pri pôvodnej koncentrácii lyzínu 25 $\mu\text{mol/l}$ a leucínu 25 $\mu\text{mol/l}$ na mukózne strane pred inkubáciou, sme zistili mierny (štatisticky nevýznamný) pokles prestupu lyzínu P oproti lyzínu K ($0,073 \pm 0,018$ oproti $0,173 \pm 0,031 \mu\text{mol/l/cm}^2/60 \text{ min}$; NS; 58 %).



3. Prestup lyzínu cez bachorový epitel oviec v mukózo-seróznom smere, keď koncentrácia leucínu v pokusnej skupine na mukóznej strane pred inkubáciou bola A - 5, B - 15, C - 20, D - 25 a E - 75 $\mu\text{mol/l}$ (priemer $\pm$ S.E.M., $n = 6$, $** P < 0,01$); os x = pôvodná koncentrácia lyzínu pred inkubáciou na mukóznej strane ($\mu\text{mol/l}$), os y = koncentrácia prestúpených aminokyselín ($\mu\text{mol/l/cm}^2/60 \text{ min}$), ■ pokusný lyzín, ▨ kontrolný lyzín – Lysine transfer through the rumen wall of sheep in the mucosa-serosa direction, when the leucine concentration on the mucosa side before incubation in the experimental group was like this A - 5, B - 15, C - 20, D - 25 and E - 75 $\mu\text{mol/l}$ (mean $\pm$ S.E.M., $n = 6$, $** P < 0.01$); x-axis = starting lysine concentration before incubation on the mucosa side ($\mu\text{mol/l}$), y-axis = concentration of transferred amino acids ($\mu\text{mol/l/cm}^2/60 \text{ min}$), ■ experimental lysine, ▨ control lysine

Pri pôvodnej koncentrácii lyzínu 25 $\mu\text{mol/l}$ a leucínu 75 $\mu\text{mol/l}$ na mukóznej strane pred inkubáciou, sme zistili mierny pokles (štatisticky nevýznamný) prestupu lyzínu P oproti lyzínu K ($0,085 \pm 0,026$ oproti $0,173 \pm 0,031 \mu\text{mol/l/cm}^2/60 \text{ min}$; NS; 38 %).

DISKUSIA

Výsledky nášho pokusu ukazujú, že leucín prítomný v inkubačnom médiu znižuje prestup lyzínu cez bachorový epitel oviec.

Naše výsledky sú podobné výsledkom Johnsa a Bergena (1973), ktorí zistili zníženú absorpciu lyzínu v prítomnosti leucínu v proximálnom jejunu oviec. Podobne Hume a i. (1972) zaznamenali pokles v absorpcii valínu, izoleucínu, glycínu, alanínu, arginínu, prolínu a kyseliny glutámovej, no predovšetkým pokles v absorpcii lyzínu po kontinuálnej infúzii leucínu do abomasu oviec.

Aj Paterson a i. (1981) zistili zníženú absorpciu lyzínu v prítomnosti alanínu v tenkom čreve potkana. Neskôr Guerino a Baumrucker (1987)

v pokusoch s bovinou intestinálnou mukózou zistili zníženú absorpciu lyzínu v prítomnosti metionínu.

Z priebehu kriviek znázorňujúcich prestup kontrolného lyzínu a leucínu cez bachorový epitel v závislosti od ich koncentrácie je zrejmé, že množstvo prestúpených aminokyselín rástlo so zvyšujúcou sa koncentráciou v inkubačnom médiu, ale len po určitú maximálnu hodnotu a pri ďalšom zvyšovaní koncentrácií aminokyselín sa už množstvo prestúpených aminokyselín nemenilo.

Na základe uvedených výsledkov predpokladáme, že lyzín aj leucín boli prenášané cez bachorový epitel iným spôsobom ako jednoduchou difúziou.

Je pravdepodobné, že lyzín aj leucín sú prenášané cez bachorový epitel prostredníctvom transportných systémov. Charakteristickou črtou tohto prenosu je skutočnosť, že počas transportu musí látka reagovať so špecifickou bielkovinou membrány. Povaha tejto enzýmu podobnej bielkoviny a obmedzený počet jej molekúl v membráne vedú k tomu, že transportné systémy sú na rozdiel od jednoduchšej difúzie saturovateľné, to znamená, že rýchlosť takto katalyzovaného transportu sa bude zvyšovať s koncentráciou len po určitú maximálnu hodnotu. Súčasne je však známe, že určitá aminokyselina v príslušnom tkanive môže byť prenášaná viacerými transportnými systémami (Christensen, 1975). Zároveň ide o bielkovinu enzymatického charakteru, takže tieto transporty sú pomerne vysoko špecifické a medzi podobnými molekulami bude existovať kompetícia (Horák a i., 1984).

Obe sledované aminokyseliny môžu mať odlišné, ale tesne asociované transportné systémy, takže väzba aminokyseliny k jednému systému môže ovplyvniť väzbu aminokyselín ku ďalším systémom.

Takto by sa dal vysvetliť pokles v prestupe lyzínu v prítomnosti leucínu cez bachor oviec.

Získané poznatky môžu byť príspevkom ku štúdiu výživy prežúvavcov. V bachorovej tekutine prevažujú voľné kyslé aminokyseliny a bázické sú len v stopách (Harmeyer a i., 1974) a podobné je aj aminokyselinové zloženie peptidov v bachorovej tekutine - v najvyšších koncentráciách sú zastúpené kyselina asparagová, kyselina glutámová, tiež alanín, glycín, kým neutrálne a aromatické sú prítomné len v nízkych koncentráciách (Wallace a McKain, 1990). Koncentrácia voľných aminokyselín v bachorovej tekutine závisí od krmiva a od času po kŕmení.

Sledované vzťahy medzi leucínom a lyzínom pri prestupe cez bachor môžu nastať pri kŕmení prežúvavcov diétou s vysokým podielom kukurice, ktorá má veľmi nízky obsah lyzínu a zároveň obsahuje veľké množstvo leucínu. Podobne pridávanie jednotlivých aminokyselín ku diéte prežúvavcov za účelom ich lepšieho využitia (napríklad pre rast vlny, mliečnu produkciu) môže viesť ku konkurenčným vzťahom medzi aminokyselinami počas ich prestupu cez stenu bachora a tenkého čreva, čo sa môže prejaviť deficienciou niektorej aminokyseliny pre organizmus

prežúvavca. Naviac, pokusmi bolo zistené, že nie jedna aminokyselina, ale zmes aminokyselín vo vhodnom pomere výraznejšie zlepšujú metabolizmus a retenciu dusíka v organizme prežúvavcov.

Literatúra

- GUERINO, F. - BAUMRUCKER, C. R.: Identification of methionine and lysine transport systems in cattle small intestine. *J. Anim. Sci.*, 65, 1987: 630-640.
- HARMEYER, J. - TIENKHO, M. - MARTENS, H.: Modellversuche über die Passage von Aminosäuren durch die Pansenwand *in vitro*. 1. Mitt.: Die Aminosäureneinstrom in den enterten und gewaschen Pansen. *Zbl. Veter.-Med., R. A21*, 1974: 465-478.
- HOFMANN, R. R. - SCHNORR, B.: Die funktionelle Morphologie Wiedekäner-Magens. Stuttgart, Enke Verlag 1982. 170 s.
- HOOVER, W. H. - MILLER, T. K.: Rumen digestive physiology and microbial ecology. *Food Anim. Pract.*, 7, 1991: 311-325.
- HORÁK, J. - KOTYK, A. - SIGLER, K.: Biochemie transportních pochodů. Praha, Academia 1984. 320 s.
- HUME, I. D. - JACOBSON, G. R. - MITCHELL, G. E., Jr.: Quantitative studies on amino acids absorption in sheep. *J. Nutr.*, 102, 1972: 495-505.
- CHRISTENSEN, H. N.: Biological Transport. 2. vyd. London, W. A. Benjamin, Inc. 1975. 514 s.
- JOHNS, J. T. - BERGEN, W. G.: Studies on amino acid uptake by ovine small intestine. *J. Nutr.*, 103, 1973: 1581-1586.
- LEIBHOLZ, J.: The absorption of amino acids from the rumen of the sheep. I. The loss of amino acids from solution placed in washed rumen *in vivo*. *Austral. J. Agric. Res.*, 22, 1971a: 639-645.
- LEIBHOLZ, J.: The absorption of amino acids from the rumen of the sheep. II. Transfer of histidine, glycine, and ammonia across the rumen epithelium *in vitro*. *Austral. J. Agric. Res.*, 22, 1971b: 647-653.
- PATERSON, J. Y. F. - SEPÚLVEDA, F. V. - SMITH, M. W.: Distinguishing transport systems having overlapping specificities for neutral and basic amino acids in the rabbit ileum. *J. Physiol.*, 319, 1981: 345-354.
- VÁRADY, J.: Výmenné procesy dusíkatých látok medzi krvou a tráviacim traktom prežúvavcov. Bratislava, Veda 1985. 142 s.
- WALLACE, R. J. - McKAIN, N.: A comparison of methods for determining the concentration of extracellular peptides in rumen fluid of sheep. *J. Agric. Sci.*, 114, 1990: 101-105.

Došlo 30. 11. 1993

FAIXOVÁ, Z. - VÁRADY, J. (University of Veterinary Medicine, Košice):

Amino acid transfer through the rumen epithelium in sheep: leucine and lysine interactions.

Vet. Med. - Czech, 39, 1994 (5): 255-262.

Experiments were conducted on six head of sheep of the Slovak Merino breed with average live weight of 40 kg. The sheep received 0.4 kg of industrially produced

molasses feed M and 1 kg of meadow hay once a day. The feed ration for a head of sheep per day contained: 1177.58 g dry matter, 89 g digestible crude protein (SNL), 0.554 starch units. The animals had free choice of water.

Rumen epithelium with submucosa was used in the experiment. Amino acid transfer was measured in a mucosa-serosa direction. Amino acids were dissolved in Thyrode's solution with pH value 6.9 on the mucosa side and 7.4 on the serosa side. A constant temperature of 39 °C was maintained during the experiment. The epithelium area was 13.2 cm² for either part of the experiment.

Lysine and leucine were incubated separately in the first part of experiment. These concentrations were used: 5, 25, 50 and 75 µmol/l. The values of lysine and leucine readings are denoted as control lysine (lysine K) and control leucine (leucine K) in the result section.

Lysine and leucine were incubated simultaneously in the second part of experiment: Lys 5 µmol/l - Leu 5 µmol/l; Lys 5 µmol/l - Leu 15 µmol/l; Lys 5 µmol/l - Leu 20 µmol/l; Lys 25 µmol/l - Leu 25 µmol/l; Lys 25 µmol/l - Leu 75 µmol/l.

The values of lysine readings on the other part of experiment are denoted as experimental lysine (lysine P.)

Figs. 1 and 2 show transfer of control lysine and leucine through the rumen epithelium as depending upon their concentrations. The shape of the curves shows that the amount of amino acid transfer was increasing with the growing concentration in incubation medium but up to a certain maximum value while the amount of amino acid transfer did not increase any more although the concentrations of amino acids were rising.

Fig. 3 shows transfer of lysine K and lysine P. Lysine K transfer was compared when lysine was the only amino acid in the incubation solution and lysine P transfer when lysine and leucine were incubated simultaneously.

Leucine significantly reduced lysine transfer at leucine concentrations 5, 15 and 20 µmol/l. Leucine can inhibit lysine transfer approximately by more than 50%, while inhibition is largest at concentrations of 5, 15 and 20 µmol/l.

sheep; amino acids; lysine; leucine; rumen

Contact Address:

MVDr. Zita F a i x o v á , Univerzita veterinárskeho lekárstva, Komenského 73,
041 81 Košice, Slovak Republic
Tel. 095 32111-15, fax 095 767675

POLYMORFIZMUS ALFA_S-KAZEÍNOV U KOZY BIELEJ KRÁTKOSRSTEJ BEZROHEJ

J. Banykó

Ústav experimentálnej veterinárnej medicíny, Košice

Sledovali sme distribúcie alel alfa_S-kazeínového komplexu u kozy plemena biela krátkosrstá bezrohá. Popri bežných alelách alfa_{S1}-Cn^A a ^B popisujeme aj výskyt alely alfa_{S1}-Cn^E, ktorá nebola u tohto plemena zatiaľ pozorovaná. Nepotvrdili sme však existenciu alely alfa_{S1}-Cn^C. Vyskytuje sa aj minimálne jedna alela z troch defektných mutantov (alfa_{S1}-Cn^{D,F} a ⁰), ich identifikáciou sme sa však nezaoberali. Zistili sme takýto percentuálny výskyt týchto alel: alfa_{S1}-Cn^A = 11,30; alfa_{S1}-Cn^B = 38,26; alfa_{S1}-Cn^C = 0; alfa_{S1}-Cn^E = 17,39; alfa_{S1}-Cn^X = 33,04 (defektné mutanty, bez určenia ich typu a počtu). Boli sledované aj alely alfa_{S2}-kazeínu. Upozorňujeme na existenciu elektroforetického variantu alfa_{S2}-kazeínu (suspektná mutácia) nachádzajúceho sa tesne v blízkosti formy B, a z toho dôvodu sme ho označili písmenom B'. Vyskytuje sa aj samostatne, bez prítomnosti typov B a A. Nami vypočítané frekvencie alel sú: alfa_{S2}-Cn^A = 0,672; alfa_{S2}-Cn^B = 0,237 a alfa_{S2}-Cn^{B'} = 0,089. Cieľom tejto práce je prispieť k poznatkom o distribúcii alel alfa_{S1}- a alfa_{S2}-kazeínu v populáciách tohoto u nás pomerne rozšíreného plemena kozy domácej. Prvoradý význam pritom podľa nás môžu mať výsledky o zastúpeniach alel alfa_{S1}-kazeínu, pomocou ktorých sa naskytne reálnejší obraz o rozšírení jednotlivých typov alfa_{S1}-kazeínu a zároveň - vzhľadom na kvantitatívnu variabilitu produktov polymorfného lokusu alfa_{S1}-Cn - o hladine tejto bielkoviny v mlieku kôz skúmaného plemena. Preto popisované údaje o percentuálnom zastúpení alel alfa_{S1}-kazeínu u kozy bielej krátkosrstej bezrohej môžu byť zaujímavé nielen pre vedeckých pracovníkov, ale rovnako môžu zaujať pozornosť aj plemenárov a producentov kozieho mlieka a mliečnych výrobkov, keď ako je vidieť (49,5% zastúpenie „silných alel“ A, B a C) máme ešte značné rezervy, pokiaľ ide o selekčné práce smerujúce k zvyšovaniu podielu silných alel alfa_{S1}-kazeínu za účelom zvyšovania celkového obsahu kazeínov v mlieku kôz.

kozie mlieko; alfa_{S1,2}-kazeíny; polymorfizmus; izoelektrická fokusácia; mliečná úžitkovosť

Na elektroforetickú heterogenitu niektorých bielkovín v kozom mlieku poukázali viacerí autori (Zittle et al., 1966; Kalan et al., 1967 - cit. Mácha, 1970; Mácha, 1970), ale poskytnúť presvedčivý dôkaz, ktorý by jednoznačne potvrdil genetickú povahu popisovanej mnohotvárnosti sa im nepodarilo. Tohto času medzi geneticky polymorfné bielkoviny kozieho mlieka sa rátajú predovšetkým

kazeínny. Známy je polymorfizmus u alfas₁-kazeínu (B o u l a n g e r et al., 1984; G r o s c l a u d e et al., 1987; M a h é et al., 1989), alfas₂-kazeínu (B o u l a n g e r et al., 1984), kapa-kazeínu (R u s s o et al., 1986; D i L u c c i a et al., 1990), a beta-kazeínu (M a h é et al., 1993). Spomedzi bielkovín mliečného séra genetické varianty existujú u beta-laktoglobulínu (B o g d a n o v et al., 1972 - cit. T r a k o v i c k á, 1992); kým v prípade alfa-laktalbumínu doteraz boli pozorované len ich rozdielne elektroforetické formy (S c h m i d t et al., 1972).

Alfas₁-kazeín vykazuje zložitý a zároveň aj výnimočný obraz kvantitatívnej alelickej variability. Rozsiahly polymorfizmus tejto bielkoviny je u kôz pod kontrolou siedmich autosomálnych alel, ako alfas₁- Cn^{A, B, C, D, E, F} a⁰, ktoré sa štiepia podľa Mendelových pravidiel (B o u l a n g e r et al., 1984; G r o s c l a u d e et al., 1987; M a h é et al., 1989). Analýzou polymorfizmu reštrikčných fragmentov boli objavené ešte ďalšie dve formy, alfas₁-Cn⁰⁻ a^{F-} (L e r o u x et al., 1990). Podľa G r o s c l a u d e et al. (1987), alely A, B a C sú spojené s vysokým obsahom alfas₁-kazeínu v mlieku (3,6 g/l), alely D a F s nízkou (0,6 g/l) a alela E so strednou koncentráciou tejto bielkoviny (1,6 g/l).

Z dôvodu, že toto zistenie aj podľa nás skrýva v sebe možnosti hospodárskeho významu, sme sa rozhodli analyzovať výskyt týchto alel u plemena koza biela krátkosrstá bezrohá s cieľom posúdiť aj túto stránku genetickej konštitúcie mliečnej úžitkovosti.

Sledovali sme aj polymorfizmus alfas₂-kazeínu.

MATERIÁL A METÓDA

Napriek skutočnosti, že niektoré typy alfas₁-kazeínu sa dajú identifikovať len špeciálnymi elektroforetickými postupmi, ako to uvádzajú G r o s c l a u d e et al. (1987), zvolili sme si metódu izoelektrickej fokusácie, ktorá umožňuje detekciu variantov A, B, C a E, t.j. z možných sedem štyri.

Vzorky mlieka v počte 145 boli odobraté od kôz plemena biela krátkosrstá bezrohá pochádzajúcich predovšetkým z chovu fy Joveko v Nálepkove a čiastočne od zvierat rovnakého plemena z experimentálneho chovu nášho ústavu.

Používali sme odtučené lyofilizované mlieko (20 mg/ml), rozpusteného v roztoku 50 mM ditiotreitolu (LKB Bromma) a 8 M močoviny (Lachema, čistota p.a.).

Izoelektrická fokusácia bola prevedená v ultratenkom polyakrylamidovom géle (265 x 125 x 0,25) T = 5%, C = 3% podľa metodiky K r a u s e h o et al. (1988), s prímiesou 8 M močoviny. Pri zložení amfotérnych roztokov sme sa pridržovali metodiky M a h é et al. (1993). Na separáciu sme používali aparát Multiphor II (Pharmacia-LKB), podľa pokynov vyššie citovanej metodiky. Gél sme farbili farbivom Coomassie blue R 250 (LKB Bromma), podľa K r a u s e h o et al. (1988).

Na výpočet frekvencií alel sme používali bežný vzorec, ktorý uvádza aj T r a k o v i c k á (1992). V prípade alfas₁-kazeínu sme nerátali zastúpenie jednotlivých

alel v populácii, ale počty zvierat, u ktorých sledované alely sa nachádzali. Z metodických dôvodov totiž nebolo možné odlišovať homozygotov od tých heterozygotov, u ktorých by mohli byť prítomné aj defektné mutantné alely $\alpha_{S1}\text{-Cn}^{D, F}$ alebo 0 . Z toho dôvodu vykazujeme percentuálny podiel jedincov s pozorovanými fenotypmi.

VÝSLEDKY A DISKÚSIA

V súbore 115 kôz sme identifikovali výskyt alel $\alpha_{S1}\text{-Cn}^{A, B, E}$ a X . Napriek očakávaniu sa nám nepodarilo potvrdiť existenciu alely C. Celkom určite sa vyskytuje aspoň jeden z troch defektných mutantov (D, F alebo 0), čo sme označovali písmenom X. Namiesto frekvencií alel uvádzame percentuálny výskyt jednotlivých alel v skúmanom súbore (tab. I), a to z dôvodu, že rozlišovanie homozygotnej formy alel A, B, C, E od heterozygota (A, B, C, E)X vyžaduje pričlenenie aditívneho metodického rozboru, čím sme sa v tejto práci nezaoberali. Frekvencie alel $\alpha_{S2}\text{-kazeínu}$ sú uvedené v tab. II. Na elektroforeogramoch sme v niektorých prípadoch identifikovali aj ďalší pruh, tesne pod variantom B, a bližšie k anóde asi

I. Výskyt alel $\alpha_{S1}\text{-kazeínu}$ v súbore zvierat ($n = 115$) – Percentage of occurrence of the $\alpha_{S1}\text{-Cn}$ alleles in goats ($n = 115$)

	Alely ³				
	A	B	C	E	X
Percento výskytu alel ¹	11,30	38,26	0	17,39	33,04
Počet zvierat ²	13	44	0	20	38

X = indicates defective mutant alleles of the $\alpha_{S1}\text{-Cn}$ without specifying of them

¹percentage of occurrence, ²number of animals, ³alleles

II. Frekvencie alel $\alpha_{S2}\text{-kazeínu}$ u kôz ($n = 145$) – Allele frequencies of $\alpha_{S2}\text{-Cn}$ in goats ($n = 145$)

	Alely ⁴		
	A	B	B ⁻
Frekvencie alel ¹	0,672	0,237	0,089
Počet homozygotov ²	61	9	2
Počet heterozygotov ³	73	51	22

¹allele frequencies, ²number of homozygotes, ³number of heterozygotes, ⁴alleles

o 1 mm. Preto sa domnievame, že sa nedá vylúčiť existencia ďalšej alely $\text{alfas}_2\text{-kazeínu}$. Túto, zatiaľ hypotetickú, mutáciu génu $\text{alfas}_2\text{-Cn}$ sme označili ako B^- . Náš predpoklad o existencii novej alely $\text{alfas}_2\text{-kazeínu}$ zatiaľ podporuje len tá skutočnosť, že na elektroforeogramoch existuje aj v homozygotnej forme, t. j. bez prítomnosti pruhov bežných foriem A a B. Dokazovanie tohto pozorovania samozrejme bude vyžadovať analýzy iného druhu.

Pri výpočtoch frekvencií alel sme vychádzali jednak z predpokladu doteraz odpublikovaného dvojalelového systému $\text{alfas}_2\text{-kazeínu}$ (Boulanger et al., 1984), ale navyše prikladáme aj frekvenciu suspektnej alely B^- .

Trakovická (1992) vo svojej práci, kde na separáciu bielkovín používa elektroforézu v škrobovom géle, uvádza takéto frekvencie alel: $\text{alfas}_1\text{-Cn}^A = 0,446$; $\text{alfas}_1\text{-Cn}^B = 0,539$; $\text{alfas}_1\text{-Cn}^C = 0,016$. Pri porovnávaní týchto výsledkov s našimi treba mať na zreteli, že výpočet frekvencií alel je obmedzený faktom, že defektné mutanty, vzhľadom na ich skrytú povahu pri bežných elektroforetických technikách, môžu byť prítomné popri zdanlivo čisto homozygotných formách ostatných alel.

Grosclaude et al. (1987) u francúzskeho plemena Saanen (naše plemeno je koza sánskeho typu), najvyššie frekvencie zistil u alely F (0,43), pritom takisto udáva nulovú frekvenciu v prípade alely C. Boulanger et al. (1984) však vyrátal frekvenciu C = 0,03.

Napriek odlišným prístupom k výpočtu zastúpenia alel, porovnávanie je možné. Je vidieť, že naše výpočty sa výrazne líšia od výsledkov citovaných autorov predovšetkým vyšším (francúzskimi autori), resp. nižším (v porovnaní s výsledkami Trakovíkej, 1992) poddielom alely $\text{alfas}_1\text{-Cn}^A$. Podiel vyššieho výskytu alely B je tiež výrazný, a tiež sa líši od výsledkov Trakovíkej (1992), ktorá skúmala totožné plemeno kozy. Naše výsledky sú ináč v súlade s pozorovaním, podľa ktorého majú nefrancúzske európske plemená frekvencie tzv. „silných“ alel ($\text{alfas}_1\text{-Cn}^{A,B,C}$) vyššie (Grosclaude et al., 1992 - cit. Mahé et al., 1993) ako francúzske.

Trakovická (1992) u $\text{alfas}_2\text{-kazeínu}$ udáva takéto frekvencie: $\text{alfas}_2\text{-Cn}^A = 0,717$; $\text{alfas}_2\text{-Cn}^B = 0,283$. Nami vyrátané frekvencie sa o niečo líšia. Škoda, že autorka neudáva počet testovaných zvierat. U Boulanger et al. (1984), ktorí sledovali polymorfizmus u kôz plemien Saanen, Alpine a ich krížencov, frekvencie týchto alel sú takmer identické: u lokusu $\text{alfas}_2\text{-Cn}^A$ je to v rozmedzí 0,85 - 0,87, teda vyššie, ako nami pozorované.

Celkove sa dá konštatovať, že genetická konštitúcia kozy bielej krátkosrstej bezrohej z hľadiska zastúpenia alel $\text{alfas}_1\text{-kazeínu}$ (so zreteľom na tým súvisiacou úrovňou syntézy $\text{alfas}_1\text{-kazeínu}$) je taká, že „silné“ alely sú zastúpené do výšky 49,505 % t. j., predstavujú takmer polovicu všetkých alel $\text{alfas}_1\text{-kazeínu}$. Alela so strednou úrovňou syntézy má 17,39% podiel, kým zvyšok patrí alelám, ktoré

zodpovedajú buď za nulovú (žiaden α_{s1} -kazeín) alebo za nízku hladinu α_{s1} -kazeínu v mlieku (33,04 %). To znamená, že pri teoreticky možných distribúciách u 11 - 33 % kôz sledovaného plemena môže úplne chýbať α_{s1} -kazeín v mlieku, resp. nepresahuje hodnotu 0,6 g/l mlieka u 16,5 - 33 %.

Dôležité sú poznatky, podľa ktorých kozie mlieko s mutantnými variantmi α_{s1} -kazeínu má kratší čas koagulácie; ale z mlieka kôz s typmi α_{s1} -kazeínu A, B a C sa získava pevnejšia syrenina, ktorá je zároveň lepšieho chemického zloženia (Ambrosoli et al., 1988). Vyššia je aj výťažnosť syrov z neho vyrobených a mlieko sa vyznačuje vyšším obsahom tuku (Ambrosoli et al., 1988). To je dôvod, že mlieko od francúzskeho plemena Alpine, v porovnaní s mliekom kozy Saanen má výrazne lepšie koagulačné vlastnosti (Ambrosoli et al., 1988). U plemena Alpine pre alely α_{s1} -kazeínu sú charakteristické takéto frekvencie: A = 0,14; B = 0,05; C = 0,01; E = 0,34; F = 0,41; O = 0,05 (Grosclaude et al., 1987). Na porovnanie udávame frekvencie „silných“ alel aj u plemena Saanen: A = 0,07; B = 0,06; C = 0,0 (Grosclaude et al., 1987). Na základe tejto úvahy kozy plemena biela krátkosrstá bezrohá vzhľadom na vyššie percentuálne zastúpenie alel A a B produkujú prevážne mlieko dobrých koagulačných vlastností, ale zároveň vysoký je podiel rozšírenia defektných mutantov. Podľa nášho názoru stojí za námahu, aby sa u nás (v dobe, keď sme svedkami oživenia chovu kôz, resp. akéhosi znovuoživenia hodnoty kozieho mlieka) pristúpilo k selekcii kozy bielej krátkosrstej bezrohej so zameraním na rozšírenie alel α_{s1} -Cn^A a ^B (poprípade α_{s1} -Cn^C), za predpokladu, že nie sú vo väzbe s alelami zodpovednými za nežiadúce vlastnosti. Je to prirodzená cesta k zvyšovaniu produkcie kozieho mlieka s vysokým obsahom kazeínu a zlepšeniu výťažnosti a kvality kozích mliečnych produktov.

Podakovanie

Ďakujem pani Marie-Francoise Mahéovej, I.N.R.A., Jouy-en-Josas, Francúzsko, za poskytnutie lyofilizovaných vzoriek kozieho mlieka, ktoré slúžili ako referenčné vzorky, pani Zsuzsa Böszöveovej, Ústav poľnohospodárskej biotechnológie, Gödöllő, Maďarsko, za technickú pomoc a pánom inžinierom J. Herichovi a J. Hamrákovi, fy Joveko, Nálepkovo, za umožnenie odberu vzoriek mlieka a za trpezlivosť prejavovanú v priebehu odberov.

Literatúra

- AMBROSOLI, R. - DI STASIO, L. - MAZZOCCO, P.: Content of α_{s1} -casein and coagulation properties in goat milk. J. Dairy Sci., 71, 1988: 24-28.
- BOULANGER, A. - GROSCLAUDE, F. - MAHÉ, M. F.: Polymorphisme des caséines α_{s1} et α_{s2} de la chèvre (*Capra hircus*). Génét. Sél. Evol., 16, 1984: 157-176.

- DI LUCCIA, A. - MAURIELLO, R. - CHIANESE, L. - MOIO, L. - ADDEO, F.: Kappa-casein polymorphism in caprine milk. *Sci. Tech. Latt. Casearia*, 41, 1990: 305-314.
- GROSCLAUDE, F. - MAHÉ, M. F. - BRIGNON, Gh. - DI STASIO, L. - JEUNET, R.: A Mendelian polymorphism underlying quantitative variations of goat α casein. *Génét. Sél. Evol.*, 19, 1987: 399-412.
- KRAUSE, I. - BUCHBERGER, J. - WEIß, G. - PFLÜGLER, M. - KLOSTERMEYER, H.: Isoelectric focusing in immobilized pH gradients with carrier ampholytes added for high-resolution phenotyping of bovine beta-lactoglobulins: Characterisation of a new genetic variant. *Electrophoresis*, 9, 1988: 609-613.
- LEROUX, C. - MARTIN, P. - MAHÉ, M. F. - LEVÉZIEL, H. - MERCIER, J. C.: Restriction fragment length polymorphism identification of goat α casein alleles: a potential tool in selection of individuals carrying alleles associated with a high level protein synthesis. *Anim. Genet.*, 21, 1990: 341-351.
- MAHÉ, M. F. - GROSCLAUDE, F.: α casein-Cn^D, another allele associated with a decreased synthesis rate at the caprine α casein locus. *Génét. Sél. Evol.*, 21, 1989: 127-129.
- MAHÉ, M. F. - GROSCLAUDE, F.: Polymorphism of beta-casein in the Creole goat of Guadeloupe: evidence for a null allele. *Génét. Sél. Evol.*, 25, 1993: 403-408.
- MÁCHA, J.: Polymorfismus bílkovin v mléce koz. *Živoč. Vyr.*, 15, 1970: 801-805.
- RUSSO, V. - DAVOLI, R. - DALL'OLIO, S. - TEDESCHI, M.: Ricerche sul polimorfismo del latte caprino. *Zoot. Nutr. Anim.*, 12, 1986: 55-62.
- TRAKOVICKÁ, A.: Genetický polymorfizmus krvi a mlieka kôz bieleho bezrohého krátkosrstého plemena. [Autoreferát dizertačnej práce.] Nitra 1992: 3-26. - Vysoká škola poľnohospodárska.
- SCHMIDT, D. V. - EBNER, K. E.: Multiple forms of pig, sheep and goat alpha-lactalbumin. *Biochim. Biophys. Acta*, 263, 1972: 714-720.
- ZITTE, C. A. - CUSTER, J. H.: Identification of the kappa-casein among the components of whole goat casein. *J. Dairy Sci.*, 49, 1966: 788-791.

Došlo 2. 2. 1994

BANYKÓ, J. (Research Institute of Experimental Veterinary Medicine, Department of Genetics, Košice):

Polymorphism of α caseins in the White Shorthaired Polled goat

Vet. Med.- Czech, 39, 1994 (5): 263-269.

Distribution of alleles of the α casein complex was studied by isoelectric focusing in the White Shorthaired Polled goat according to the method of Krause et al. (1988) and Mahé et al. (1993). In addition to the common alleles α casein-Cn^A and ^B, the α casein-Cn^E allele is described; it has not yet been observed in this breed. We are not able to confirm the occurrence of the α casein-Cn^C allele. At least one out of three defective mutants (α casein-Cn^{D,F} and ⁰) was found, nevertheless their identification was not discussed. The following percentile occurrence (Tab. I) of the above-mentioned alleles of α casein was determined: α casein-Cn^A = 11.30; α casein-Cn^B = 38.26; α casein-Cn^C = 0; α casein-Cn^E = 17.39; α casein-Cn^X = 33.04 (the letter X indicates the defective mutants without specifying their type and number). Our results differ signifi-

cantly from those of Boulanger et al. (1984), Grosclaude et al. (1987) and Trakovická (1992). Higher (in contrast to the French authors) and lower α_{S1} -casein allele rates (as compared to Trakovická, 1992) were observed. The higher occurrence of the α_{S2} -Cn^B is also conspicuous. However, our observations correspond to those according to which the „strong“ alleles have higher frequencies in European breeds than in the French ones (Grosclaude et al., 1992 - cit. Mahé et al., 1993). The alleles of α_{S2} -casein were also investigated. The electrophoretic variant of the α_{S2} -casein was observed next to the type B and located closer to the anode (suspected mutation); on that account it was named B-. This variant was also seen in a homozygous form. The frequencies of alleles were as follows: α_{S2} -Cn^A = 0.672; α_{S2} -Cn^B = 0.23; α_{S2} -Cn^{B-} = 0.089 (Tab. II).

goat milk; $\alpha_{S1,2}$ -caseins; polymorphism; isoelectric focusing

Contact Address:

RNDr. Juraj B a n y k ó , Ústav experimentálnej veterinárnej medicíny, Škultétyho 3,
040 01 Košice, Slovak Republic
Tel. 095 6220074, fax 095 31853



ADEKO a. s. Vám nabízí

- ☐ **FINANČNÍ LEASING**
- ☐ **ZPROSTŘEDKOVATELSKOU OBCHODNÍ ČINNOST**
- ☐ **PORADENSTVÍ V OBLASTI PODNIKÁNÍ, FINANCOVÁNÍ A ORGANIZACE**

ADEKO a. s.
Slezská 7
120 56 Praha 2

tel.: 258 342 fax: 207 229



EPIZOOTOLOGIE A PATOGENEZE AVIÁRNÍ MYKOBAKTERIÓZY RACKA CHECHTAVÉHO (*LARUS RIDIBUNDUS*)

K. Hejliček, F. Tremel

Vysoká škola veterinární a farmaceutická, Brno

V práci byl sledován výskyt aviární mykobakterií a vnímavost k *M. avium* u racka chechtavého. Patologickomorfologickým a kultivačním vyšetřením 35 jedinců racka chechtavého ulovených ve čtyřech různých lokalitách České republiky se nepodařilo zjistit tuberkulózní změny ani izolovat mykobakterie. Po experimentální intramuskulární infekci suspenzí *M. avium* byly u racků nalezeny makroskopické tuberkulózní změny v místě vpichu po 35 dnech, v játrech a ve slezině po 70 dnech od počátku infekce. U současně infikovaného kura domácího byly nalezeny po 35 dnech makroskopické změny v místě vpichu, ve slezině a v játrech. Za 35 dnů po infekci byly z obou druhů izolovány mykobakterie z více orgánů a tkání. Po perorální infekci krmivem kontaminovaným játry tuberkulózní drůbeže byly u racků nalezeny za 118 dnů tuberkulózní změny v játrech, slezině a ve střevech. U kura domácího za 118 dnů pouze ve slezině. Mykobakterie byly u obou druhů prokázány po 118 dnech, u racka chechtavého z jater, sleziny, střeva, resp. mozku, u kura domácího pouze ze sleziny. Významný je nález tuberkulózních změn ve stěně střevní u racka chechtavého (za 118 dnů po infekci) a v té době i přítomnost mykobakterií v trusu. Podle výsledků experimentálních infekcí je rack chechtavý stejně vnímavý k infekci *M. avium* jako kur domácí. Výskyt aviární mykobakterií u racka chechtavého závisí zřejmě na místní epizootologické situaci, především výskytu zdrojů *M. avium* a přístupu k nim. Vzhledem k afinitě *M. avium* ke střevům racka chechtavého je nutno infikované jedince považovat za významný zdroj a šířitele aviárních mykobakterií.

rack chechtavý (*Larus ridibundus*); aviární mykobakterií; experimentální infekce

Rackové (*Larinae*) tvoří v některých lokalitách podstatnou složku ptačí biocenózy. Při svém způsobu života, a zejména při potravních návycích, se mohou infikovat různými původci infekčních chorob a přispívat k jejich dalšímu šíření. Jednou z takových chorob je aviární tuberkulóza.

Tuberkulózu racků, resp. izolaci mykobakterií ze tkání racků, popsala řada autorů. Jacob (1953), Poulding (1957), Wilson (1960) u racka stříbřitého (*L. argentatus*), Smith aj. (1987) u racka bouřního (*L. canus*), Poulding (1957), Wilson (1960), MacDonald (1962) a Smith aj. (1987) u racka chechtavého (*L. ridibundus*). Pokud byly vyšetřovány větší

soubory ptáků výskyt tuberkulózních změn byl různý podle zjištění jednotlivých autorů: S m i t h aj. (1987) - 1 %, P l u m (1942) - 5,8 %, R o b i j n s (1960) - 8,7 %, P o u l d i n g (1957) - 10,3 %. Mohou se však vyskytovat i rozdíly ve výskytu tuberkulózy u racka na území jednoho státu. Tak R o b i j n s (1960) našel u vyšetřovaných ptáků v provincii Zealand tuberkulózu v 19 %, zatímco v provincii Nord-Holland jen v 0,3 %.

Vzhledem k tomu, že racek chechtavý se vyskytuje v některých částech České republiky v hojných počtech, rozhodli jsme se orientačně vyšetřit na výskyt tuberkulózních změn a přítomnost mykobakterií jedince ulovené ve volné přírodě. Dále pak experimentálními infekcemi, ve srovnání s kurem domácím, zjistit vnímavost racka chechtavého k *M. avium*.

MATERIÁL A METODY

RACKOVÉ

V letech 1984 - 1989 jsme vyšetřili patologickomorfologicky a kultivačně 35 racků chechtavých, získaných odstřelem ve čtyřech různých lokalitách. Jednalo se o rybníční oblasti ve volné přírodě s výskytem početných kolonií racka chechtavého.

Racky pro experimentální infekci jsme získali odchylem do sítí v početné kolonii racka, hnízdící v prostředí rybníka, rovněž ve volné přírodě.

METODY VYŠETŘENÍ

K experimentální intramuskulární (*i. m.*) infekci bylo použito suspenze kmene *M. avium* (1 mg/kg ž. h.), izolovaného z kura domácího. Kmen vyvolával v dávce 1 mg/kg ž. h. *i. m.* generalizovanou tuberkulózu a sérologicky byl určen jako *M. avium* sérotyp 2.

K perorální (*p. o.*) infekci bylo použito krmivo kontaminované tuberkulózně změněnými játry kura domácího (9 dílů krmiva 1 díl jater).

Pro srovnání byl současně s racky infikován stejným způsobem i tuberkulin negativní kur domácí.

Celkem bylo infikováno *i. m.* 9 racků a 15 jedinců kura domácího, *p. o.* kontaminovaným krmivem 14 racků a 13 jedinců kura domácího. Pokud dříve neuhynuli, byli ptáci po skupinách utráceni za 12 - 70 dnů po *i. m.* infekci a za 70 - 180 dnů po *p. o.* infekci.

Ptáci byli vyšetřeni patologickoanatomicky, jednotlivé tkáně a orgány kultivačně. Kultivováno bylo na půdu podle Petragnaniho a tekutou ascitovu půdu po předchozí preparaci suspendované tkáně 10% kyselinou sírovou s následnou neutralizací 8% louhem sodným. Kultivace byla ukončena po dvouměsíční inkubaci v termostatu při teplotě 37 °C. Izolované kmeny mykobakterií byly dále určeny biochemicky a sérologicky.

VÝSLEDKY

VYŠETŘENÍ VOLNĚ ŽIJÍCÍCH RACKŮ

Vyšetřením 35 jedinců racka chechtavého, pocházejících ze čtyř různých lokalit České republiky jsme neprokázali patologickoanatomické tuberkulózní změny, ani se nepodařilo izolovat mykobakterie.

EXPERIMENTÁLNÍ INFEKCE

Po *i. m.* infekci (obr. 1) byly u racka chechtavého i u kura domácího nalezeny makroskopické tuberkulózní změny v místě vpichu 35. den, v játrech a ve slezině u kura domácího po 35 dnech, u racka chechtavého po 70 dnech. Pokud pomineme ojedinělý kultivační průkaz *M. avium* u racka chechtavého za 12 dnů po infekci, byly u obou druhů za 35 dnů po infekci izolovány mykobakterie z více orgánů a tkání.

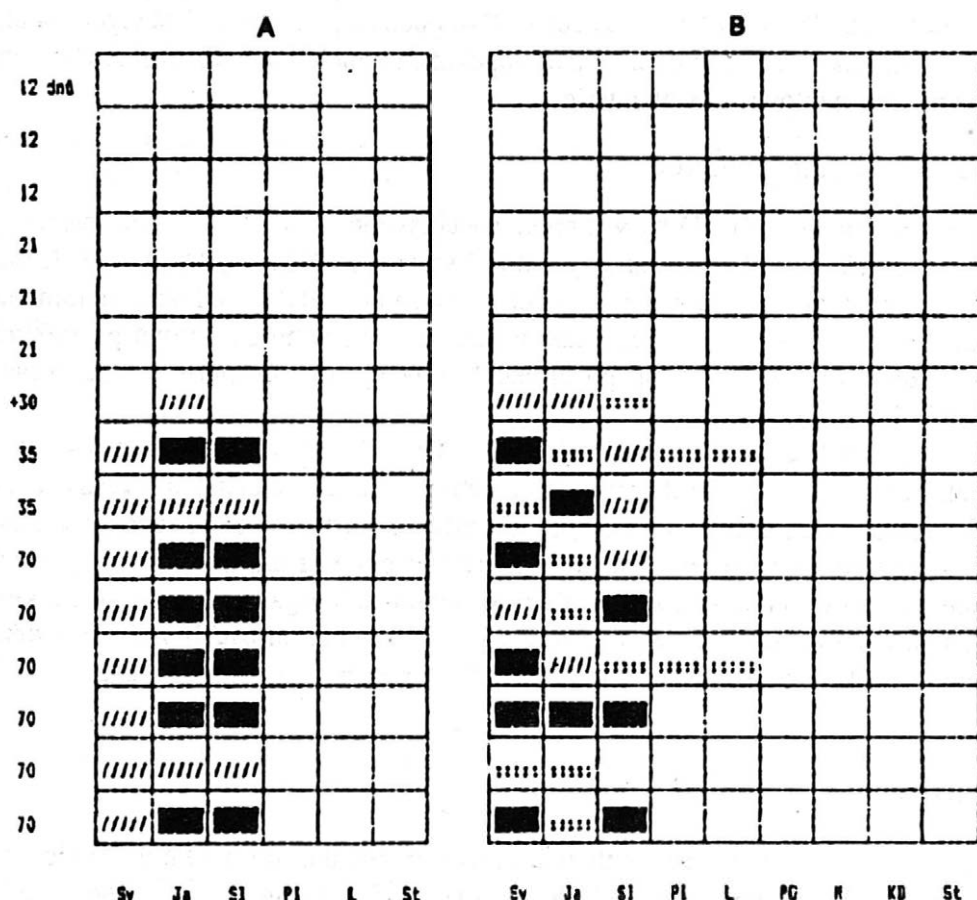
Po *p. o.* infekci kontaminovaným krmivem (obr. 2) byly nalezeny u racka chechtavého izolované tuberkulózní změny v játrech, slezině a ve střevě po 118 dnech. U kura domácího byly po 118 dnech nalezeny změny pouze ve slezině. Kultivačně se podařilo izolovat mykobakterie z obou druhů ptáků po 118 dnech a sice u racka chechtavého z jater, sleziny, pohlavních orgánů resp. mozku, u kura domácího pouze ze sleziny. Významný je nález tuberkulózních změn ve stěně střevní u racka (za 118 dnů) a v té době i přítomnost mykobakterií v trusu.

DISKUSE

Poměrně častý popis tuberkulózy a nálezů mykobakterií u racků v různých zemích nás vedl k orientačnímu vyšetření jedinců racka chechtavého z volné přírody. Poměrně malý počet vyšetřených ptáků byl ovlivněn opatřeními omezujícími lov racka chechtavého. U vyšetřovaných 35 jedinců racka chechtavého jsme nenalezli tuberkulózní změny, ani se nám nepodařilo izolovat mykobakterie. Ptáci byly uloveni v rybníčních oblastech, kde neměli možnost kontaktu s tuberkulózní drůbeží.

K ověření skutečné vnímavosti racka chechtavého jsme proto infikovali experimentálně jednu skupinu ptáků klasickou intramuskulární metodou aplikací suspenze kultury *M. avium*, druhé skupině jsme podali krmivo kontaminované tuberkulózními játry. Tento druhý způsob má svůj praktický význam vzhledem ke známé oblibě racka k živočišné bílkovině. Srovnání s kurem domácím ukázalo, že po intramuskulární infekci je racek jen o něco méně vnímavý než kur domácí. Naopak po perorální infekci kontaminovaným krmivem se vyvinuly u racka za stejnou dobu tuberkulózní procesy ve více orgánech. Mykobakterie byly prokázány

KUR

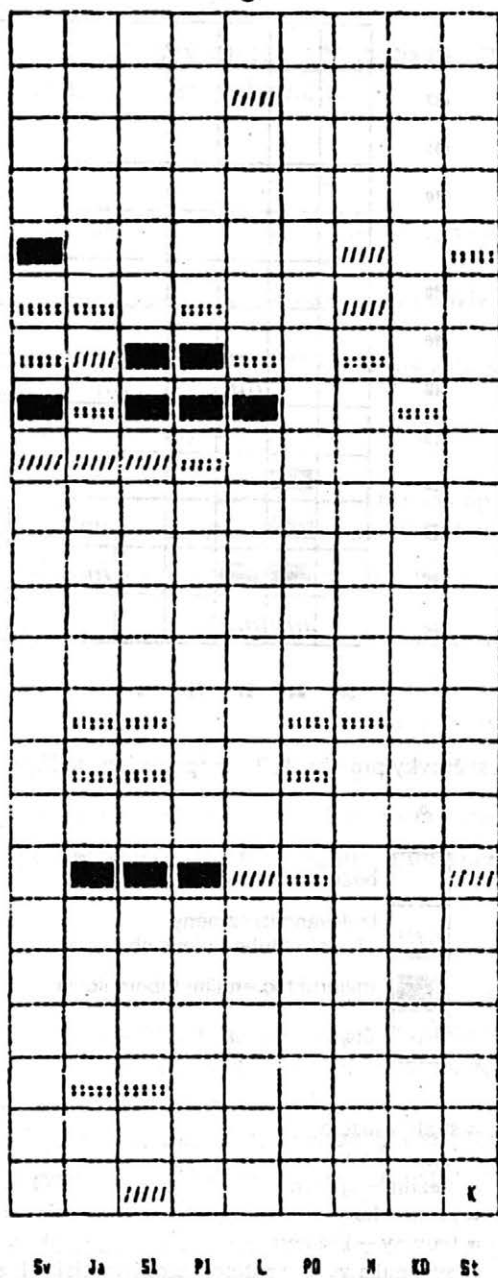
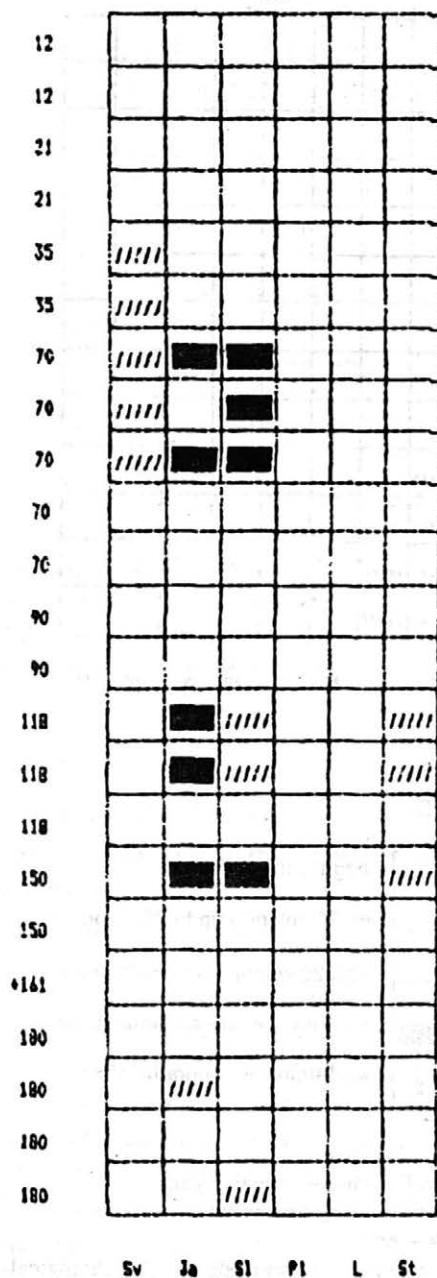


sice ve stejnou dobu (118 dnů), avšak u racka z více orgánů. Významné je, že aviární mykobakterie se nalézaly i v jeho trusu. Lze tedy předpokládat, že racek chechtavý se snadno infikuje, přijde-li do styku s tuberkulózně změněnou tkání. To může nastat jak při kontaktu s kadávery či odpadky z tuberkulózní drůbeže, tak kadávery vlastních jedinců uhynulých či nemocných tuberkulózou. Naproti tomu kontakt s tuberkulózní drůbeží jako cesta infekce se nezdá být v poměrech České republiky tak významný. Vodní drůbež chovaná na rybnících, u níž se racek chechtavý často přizívuje, nebývá tuberkulózou postižena. Do chovů hrabavé drůbeže, zejména malochovů s častějším výskytem aviární tuberkulózy, rackové nezaletávají. Tím si vysvětlujeme i negativní výsledek námi vyšetřovaného souboru racka chechtavého z volné přírody.

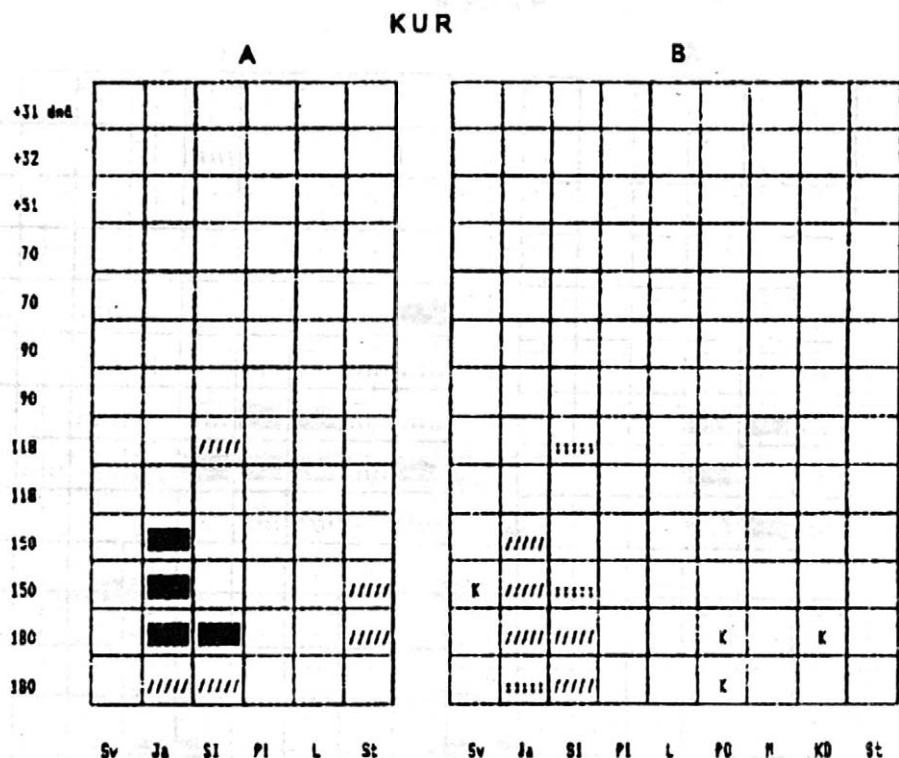
RACEK

A

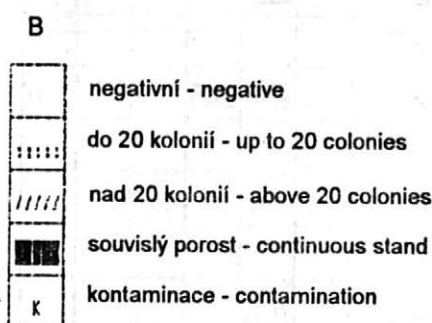
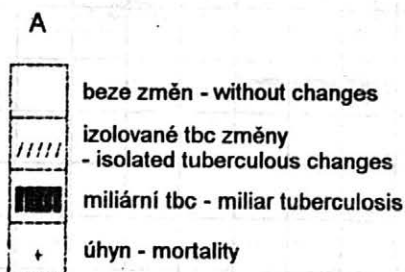
B



2. Výsledky patologickoanatomického a kulturačního vyšetření ptáků, infikovaných perorálně, krmivem kontaminovaným játry TBC kura – The results of pathological-anatomical and culture examination of birds infected perorally by feed contaminated with TBC liver of the fowl)



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



Sv = sval - muscle

Ja = játra - liver

SI = slezina - spleen

Pl = plíce - lungs

L = ledviny - kidneys

A = dynamika vývoje patologickoanatomických změn - dynamics of development of pathological-anatomical changes

B = kulturační vyšetření - cultivation examination

dnů - days, kur - fowl, racek - gull

St = střevo - intestine

PO = pohlavní orgány - sexual organs

KD = kostní dřeň - bone marrow

M = mozek - brain

Lze vyslovit předpoklad, že různá incidence tuberkulózy racka v jednotlivých zemích je dána především různou epizootologickou situací v tuberkulóze drůbeže a i různými krajinnými podmínkami. Nelze ani vyloučit cirkulaci a šíření aviárních mykobakterií v populaci racků, podmíněnou pozřením tkání uhynulého jedince stíženého tuberkulózou jinými ptáky v hejnu.

Jako animální druh je racek chechtavý velmi vnímavý k infekci *M. avium* a v případě nakažení se může stát nebezpečným zdrojem aviární tuberkulózy.

Literatura

- JACOB, E.: Tuberkulose in freier Natur: Fund bei eine Silbermöve. Berl. Münch. tierärztl. Wschr., 66, 1953: 358-360.
- MacDONALD, J. W.: Mortality in wild birds with some observations on weight. Bird Study, 9, 1962: 147-167.
- PLUM, N.: Studies on the occurrence of avian tuberculosis among wild birds, especially gulls and sparrows, and in rats and hares. Skand. Vet.-Tidskr., 32, 1942: 465-487.
- POULDING, R. H.: Tuberculosis in gulls: A preliminary investigation. Bull. Brit. Ornithol., 77, 1957: 144.
- ROBIJNS, K. G.: Het voorkomen van aviaire tuberculosis in Zeeland en invloed hiervan op de rundertuberculosebestrijding. Ph. D. Thesis, University of Utrecht, The Netherlands, 1960. 191 s.
- SMITH, T. - EGER, A. - HAAGSMA, J. - BAKHUIZEN, T.: Avian tuberculosis in wild birds. J. Wildl. Diseases, 23, 1987: 485-487.
- WILSON, J. E.: Avian tuberculosis: An account of disease in poultry, captive birds and wild birds. Brit. Vet. J., 116, 1960: 380-393.

Došlo 17. 1. 1994

HEJLÍČEK, K. - TREML, F. (University of Veterinary and Pharmaceutical Sciences, Brno): Epizootology and pathogenesis of avian mycobacteriosis in the laughing gull (*Larus ridibundus*).

Vet. Med. - Czech., 39, 1994 (5): 271-278.

The occurrence of avian mycobacteriosis and sensitivity to *M. avium* were investigated in the laughing gull in this paper. The patho-morphological and culture examination of 35 individuals of the laughing gull caught at four different localities of the Czech Republic did not reveal any tuberculous lesions nor did it enable to isolate mycobacteria. After experimental intramuscular infection by suspension of *M. avium* macroscopic tuberculous lesions were found at the spot of puncture in 35 days, in liver and spleen in 70 days since the beginning of infection. In the simultaneously infected domestic fowl the lesions were determined at the spot of puncture, in spleen and liver in 35 days. Mycobacteria were isolated from several organs and tissues in both species in 35 days after infection. Tuberculous lesions were found in liver, spleen and intestines of the laughing gull in 118 days since peroral infection by feed contaminated with the liver of

tuberculous fowl. This finding was identical in spleen of the domestic fowl only in 118 days. Mycobacteria were demonstrated in both species in 118 days, in liver, spleen, intestine and/or brain in the laughing gull, while in spleen only in the domestic fowl. Intestinal tuberculosis was determined in the laughing gull in 118 days after infection. The results of experimental infections show that the sensitivity of the laughing gull to *M. avium* is the same as in the domestic fowl. The occurrence of tuberculosis in the laughing gull is apparently depending upon the local epizootological situation, particularly upon the occurrence of *M. avium* sources and their accessibility. The infected individuals of the laughing gull must be considered as an important source and vector of avian tuberculosis with regard to *M. avium* affinity to their intestines.

laughing gull (*Larus ridibundus*); avian mycobacteriosis; experimental infection

Contact Address:

Doc. MVDr. František T r e m l, CSc., Vysoká škola veterinární a farmaceutická, Palackého 1-3, 612 42 Brno, Czech Republic
Tel. 05 41321241, fax 05 41211241

INFORMACE - STUDIE - SDĚLENÍ

PRVNÍ PŘÍPADY ZJIŠTĚNÍ SPONTÁNNÍ NÁKAZY SKOTU *CRYPTOSPORIDIUM MURIS* TYZZER (1907), 1910 V ČESKÉ REPUBLICĚ

I. Pavlásek

Kokcidie rodu *Cryptosporidium* (*Apicomplexa*: *Cryptosporidiidae*) jsou parazitické prvoci, jejichž vývoj probíhá v mikrovilózní zóně slizničních epitelů většinou trávicího ústrojí, ale i jiných orgánů. Ještě donedávna byla kryptosporidíóza považována za poměrně vzácné onemocnění zvířat a byla téměř neznámou oportunní protozoární infekcí u lidí, zvláště u dětí a pacientů s AIDS. Tzipori (1988) např. uvádí, že procento prevalence kryptosporidíózy u lidí v Evropě se pohybuje od 2 do 5, v Americe od 0,6 do 4,3, v Austrálii, Novém Zélandu a Indii byly kryptosporidie zaregistrovány u 1,3 až 22 % pacientů. Výrazně vyšší je výskyt *Cryptosporidium* sp. u pacientů s AIDS. Chacin-Bonilla aj. (1992) zjistili, že tímto prvokem bylo infikováno 12 (41,3 %) ze 29 imunodeficitních pacientů ve Venezuele. Soave a Johnson (1988) uvádějí, že na Haiti a v Africe byla kryptosporidíóza diagnostikována u 50 % lidí s AIDS.

V průběhu několika posledních let se názory na *Cryptosporidium* sp. výrazně změnily zejména proto, že řadou autorů byla zjištěna a potvrzena nízká hostitelská specificita kryptosporidií a také skutečnost, že kryptosporidíóza byla zařazena mezi zoonózy. Za zdroj nákaz pro člověka jsou považována různá domácí i divoce žijící zvířata, velmi často zejména spontánně nakažená telata. Miron aj. (1991) uvádějí, že jedenáct z 19 (58 %) dětí ve věku 10 - 15 měsíců, jejichž rodiny byly v kontaktu s nemocnými telaty, bylo nakaženo kryptosporidii. Oocysty kryptosporidií byly zjištěny v odpadových povrchových vodách i v řekách. Za velmi zajímavou lze považovat zprávu z tisku v USA (Michigan). Na jaře roku 1993 v jedné oblasti došlo ke vzplanutí epidemie kryptosporidíózy, při které onemocnělo více jak 50 % obyvatel. Ve stolici nemocných lidí byly prokázány oocysty *C. parvum* a tento druh byl u všech označen za původce klinických příznaků vodnatých průjmů a žaludečních potíží. Bylo zjištěno, že zdrojem nákazy byla vodovodní voda. Po selhání filtračního systému v jedné vodárně byla voda čerpána z Michiganského jezera, která byla podle určitých názorů kontaminována výkaly skotu, které se do jezera dostaly z polí při jarním tání sněhu.

Z výše uvedených recentních příkladů proto vyplývá, že je velmi důležité sledovat incidenci této protozoární infekce u domácích i divoce žijících zvířat, s kterými může člověk přicházet do těsného kontaktu.

V literatuře je uváděno nejméně 20 druhů kryptosporidií, které byly zaregistrovány u ryb, plazů, ptáků a savců včetně člověka (P a v l á s e k , 1989). Vycházíme-li ze současných poznatků o druhovém spektru těchto prvoků u savců, jsou za platné druhy považovány *C. muris* Tyzzer (1907), 1910 a *C. parvum* Tyzzer, 1912. Ty z z e r (1910, 1912) skutečně velmi originálně popsal tyto druhy kryptosporidií a jasně dokumentoval jejich strukturální a vývojovou odlišnost.

V dnešní době existují již stovky publikací a různých pojednání o vývojovém cyklu, ultrastruktuře, rozšíření, diagnostice, patogenitě apod. u druhu *C. parvum*. Poznatky o druhu *C. muris* jsou však i po více jak 80 letech, které uplynuly od jeho objevení, velmi neúplné a k dispozici jsou pouze jednotlivé informace z několika publikací. Doposud chybí základní údaje o biologických vlastnostech *C. muris* a jeho významu pro veterinární a humánní medicínu.

O nálezech oocyst tzv. „velkého typu“, připomínajících druh *C. muris*, ve výkalech telat ustájených ve stáji Auburnské univerzity v období vzplanutí novorozeneckého kryptosporidiového onemocnění, se poprvé zmiňují R e e s e aj. (1982). U p t o n a C u r r e n t (1985) použili materiál zmíněných autorů k popsání oocyst *C. muris* a *C. parvum* z výkalů spontánně nakažených telat. Uvádějí také osobní sdělení B. C. A n d e r s o n a , který nacházel v průběhu tří let „velké oocysty“ kryptosporidií v průměru u 5 % vzorků výkalů získaných od dospělého skotu mléčného plemene, ve stádě o počtu 350 - 390 kusů, ve státě Idaho (USA) a R. B. W e s c o t t a , který zjistil podobný typ oocyst u dvoutýdenních až dvouletých zvířat masného plemene ve stádě náležejícího Washingtonské státní univerzitě. O dvou formách oocyst savčích kryptosporidií („malých a velkých“) patřících druhům *C. parvum* a *C. muris* u spontánně nakažených potkanů (*Rattus norvegicus*) v Japonsku informuje I s e k i (1986). A n d e r s o n (1987) nacházel oocysty podobné druhu *C. muris* u jednoho šestitýdenního telea a u devíti volků ve výkrmu. Endogenní vývojová stadia prvoka byla lokalizována v žaludečních žlázách zvířat a autor označil onemocnění jako slezovou kryptosporidíózu.

V tomto sdělení informujeme o prvním zjištění výskytu spontánní kryptosporidiové nákazy způsobené druhem *C. muris* u skotu v České republice. Pokud je nám známé z dostupné literatury, jedná se s největší pravděpodobností současně i o první záchyt tohoto prvoka v Evropě.

Vzorky výkalů skotu různých věkových kategorií, zasílaných ke koprologickému vyšetřování do parazitologické laboratoře Státního veterinárního ústavu (SVÚ) v Praze, byly vyšetřovány flotačně-centrifugační metodou podle B r e z y (1957) a metodou nativního preparátu s použitím glycerínu podle P a v l á s k a (1991). Intenzita výskytu oocyst kryptosporidií byla zjišťována v 1 ml vyšetřovaného homogenátu (1 - 3 g výkalů byly zhomogenizovány v 10 ml vody, přečezeny přes čajové sítko, tekutina byla doplněna v centrifugační zkumavce vodou do celkového objemu 10 ml, ze středu sloupce homogenátu byl pipetou odebrán příslušný vyšetřovaný vzorek tekutiny a intenzita oocyst byla hodnocena v Bürkerově počítací komůrce).

Poprvé byly nalezeny velmi početné oocysty *C. muris* při preventivním vyšetřování vzorků výkalů od dvouletého plemenného býka zaslaných na SVÚ 15. 9. 1993. Býk byl

zapůjčen inseminační stanicí jedné farmě. Po dobu osmi týdnů zde působil na krytí přebíhajících se krav. Vzhledem k pozitivnímu nálezu bylo jeho opětovné vrácení na inseminační stanici pozastaveno. Býk byl umístěn do karanténní stáje a v období od 15. 9. 1993 do 1. 2. 1994 byly jeho výkaly vyšetřovány výše uvedenými metodami ve dvou- až 14denních intervalech. Počátkem měsíce října 1993 byla na farmě, ve které působil plemenný býk, uskutečněna jednorázová koprologická vyšetření, speciálně cílená na průkaz oocyst *C. muris* u následujících zvířat s tímto výsledkem:

1. Z celkového počtu 96 krav ustájených vazně v kravínu, v jehož přístavku byl v boxu umístěn kryptosporidii infikovaný plemenný býk, byly oocysty *C. muris* nalezeny ve výkalech čtyř dojnic ve věku 2 - 4 roky.

2. Negativní byly výsledky vyšetření 28 telat (ve věku 10 - 75 dnů) narozených od krav ustájených v uvedeném kravínu a odchovávaných ve venkovních individuálních boudách.

3. Oocysty *C. muris* nebyly zjištěny ani u tří- až šestiměsíčních telat v teletníku, do kterého jsou zvířata z této farmy navážena.

4. Při technologii pastevního a volného způsobu ustájení 22 krav a 9 býků ve věku 1 - 4 roky, s kterými byl plemenný býk v kontaktu, nebyly oocysty *C. muris* prozatím nalezeny u žádného z těchto zvířat.

V listopadu 1993 bylo na inseminační stanici, ze které pocházel plemenný býk koprologicky vyšetřeno 46 býků ve věku 1 - 11 let. Morfologicky stejný typ oocyst kryptosporidie byl zjištěn u jednoho zvířete narozeného 14. 10. 1989.

V prosinci 1993 bylo k parazitologickému vyšetření zasláno na SVÚ 15 vzorků výkalů od pasoucích se jalovic a ve dvou případech byl zjištěn pozitivní nález oocyst *C. muris*. Ve stejném měsíci byly vyšetřeny z další soukromé farmy dva směsné vzorky výkalů od šesti- až 12měsíčních býčků. Oocysty *C. muris* byly detekovány v obou vzorcích. Na naše požádání byly v lednu 1994 majitelem této farmy odebrány rektálně vzorky výkalů od 19 býčků výše uvedeného věku a oocysty *C. muris* byly zjištěny u 11 (57,9 %) zvířat.

Z těchto našich výsledků vyplývá, že *C. muris* byl zaregistrován u skotu různého věku na pěti různých lokalitách. Zjistili jsme, že plemenný býk, u kterého jsme ve výše uvedených intervalech prováděli opakovaná koprologická vyšetřování, vylučoval oocysty *C. muris* permanentně po dobu téměř pěti měsíců a s velmi vysokou intenzitou; v 1 ml homogenátu výkalů bylo 4 - 6.10⁵ oocyst. Podobný je i výsledek více jak čtyřměsíčního sledování jedné pozitivní dojnice z farmy, ve které byl ustájen v přístřešku kravína kryptosporidii nakažený plemenný býk.

Na rozdíl od oocyst *C. parvum* (parazita zejména mláďat hospodářských zvířat, ale také člověka), které jsou kulovité a často jsou označovány jako „malý typ“ oocyst savčích kryptosporidií, jsou oocysty *C. muris* vejčité a v průměru o 2 - 3 μm větší (odtud proto označení oocyst tohoto druhu jako „velké“). Na základě našich vlastních sledování uvádíme morfometrickou charakteristiku oocyst *C. muris*. V nativním preparátu i po flotaci s použitím Brezova flotačního roztoku (B r e z a , 1957) byla po proměření vždy 100 oocyst z výkalů pozitivních zvířat jejich velikost 7,2 - 8,16 x 4,8 - 6,4 μm (průměr

7,89 ± 0,2 x 5,75 ± 0,3 μm). Nejčastější rozměr oocyst byl 8,0 x 5,6 μm. Index oocyst byl:

a) délka/šířka: 1,25 - 1,56 (průměr 1,3 ± 0,6),

b) šířka/délka: 0,6 - 0,8 (průměr 0,73 ± 0,04).

V oocystě je uprostřed přítomné sférické globulární tělísko, jehož průměrná velikost je 3,2 μm. Je ohraničeno membránou a v optickém mikroskopu se jeví jako světlý útvar. Kolem tělíska jsou 2 - 4 větší jasně zřetelná granula a větší počet malých granul. Jsou uspořádána buď pravidelně a tvoří jakýsi prstenec ve tvaru kruhu či oválu nebo jsou nepravidelně roztroušena v blízkosti membrány tělíska a uložena excentricky k jedné stěně oocysty. Ve vysporulovaných oocystách jsou kolem zbytkového tělíska umístěni čtyři sporozoit. Jejich průměrná velikost byla po excystaci *in vitro* 11,2 x 1,2 μm.

Pro porovnání našich údajů uvádíme metrické hodnoty oocyst *C. muris* ze skotu podle Upton a Currenta (1985): 6,6 - 7,9 x 5,3 - 6,5 μm (průměr 7,4 x 5,6 μm), index oocyst (délka/šířka) 1,1 - 1,5 (průměr 1,3). Velikost oocyst *C. muris* ze spontánně nakažených potkanů v Japonsku byla podle údajů Iseki (1986) 7,5 - 9,8 x 5,5 - 7,0 μm (průměr 8,4 x 6,3 μm).

Z výsledků našich dlouhodobých opakovaných vyšetřování výkalů plemenného býka a dojnice vyplývá, že *C. muris* se kromě morfometrických údajů oocyst odlišuje od *C. parvum* také neobvykle dlouhým obdobím trvání patentní periody (více jak pětíměsíční), během které je do vnějšího prostředí vylučováno výkaly značné množství oocyst. Průměrná délka patentní periody u *C. parvum* je uváděna v rozmezí 10 - 14 dnů (Pavlašek, 1981, 1982; Anderson, 1982). Z našich dosavadních zkušeností je dále zřejmé, že *C. muris* se vyskytuje u skotu starších věkových kategorií, zatímco *C. parvum* především u jedno- až čtyřtydenních telat v souvislosti s výskytem novorozeneckých průjemových onemocnění.

První experimentální infekce laboratorních myší, které jsme nakazili oocystami získanými z výkalů plemenného býka, byly úspěšné. Výsledky těchto počátečních přenosových studií naznačují, že s největší pravděpodobností je směna také této kryptosporidie mezi různými vnímavými hostiteli možná.

Nález *C. muris* u skotu na našem území pokládáme za velmi zajímavý a významný. Výsledky zjištění výskytu *C. muris* u dospělého skotu, šesti- až 12měsíčních býčků a jalovic uvedené v tomto sdělení zatím vycházejí z vyšetření omezeného počtu zvířat z pěti různých lokalit při odlišné technologii jejich ustájení a odchovu. Proto úvahy o prevalenci tohoto prvoka a identifikaci možných původních zdrojů nálezů zvířat by byly předčasné. Doposud absolutní neznalost vlivu tohoto parazita na zdárný odchov a užitkovost hospodářských zvířat podtrhuje objektivní potřebu studia této protozoární infekce.

Pokud vznikne jakákoliv potřeba v jakékoliv diagnostické parazitologické laboratoři v souvislosti s tímto, pro nás zatím zcela novým prvokem, je možné se obrátit na autora sdělení. Na pracovišti SVÚ Praha jsou nyní deponovány všechny dnes platné druhy kryptosporidií: *C. parvum*, *C. muris* (savčí druhy) a *C. meleagridis*, *C. baileyi* (ptačí druhy).

Poděkování

Autor práce si dovoluje vyslovit poděkování všem zúčastněným pracovníkům při zajišťování pravidelných odběrů vzorků výkalů od dlouhodobě sledovaných zvířat. Poděkování za obětavou spolupráci na překladu rozšířeného souhrnu do angličtiny patří rovněž prom. fil. Z. Polákoví, pracovníku Státního veterinárního ústavu v Praze.

Literatura

- ANDERSON, B. C.: Cryptosporidiosis: a review. J. Amer. Vet. Med. Assoc., 180, 1982: 1455-1457.
- ANDERSON, B. C.: Abomasal cryptosporidiosis in cattle. Vet. Path., 24, 1987: 235-238.
- BREZA, M.: Niekoľko praktických poznatkov a námetov k helmintokoprologickéj diagnostike. Helminológia, 1, 1957: 57-63.
- CHACIN-BONILLA, L. - GUANIPA, N. - CANO, G. - RALEIGH, X. - QUIJADA, L.: Cryptosporidiosis among patients with acquired immunodeficiency syndrome in Zulia State, Venezuela. Amer. J. trop. Med. Hyg., 47, 1992: 582-586.
- ISEKI, M.: Two species of *Cryptosporidium* naturally infecting house rats, *Rattus norvegicus*. Jap. J. Parasit., 35, 1986: 521-526.
- MANGINI, A. C. S. - DIAS, R. M. D. S. - GRISI, S. J. F. E. - ESCOBAR, A. M. U. - TORRES, D. M. A. G. V. - ZUBA, I. P. R. - QUADROS, C. M. S. - CHIEFFI, P. R.: Parasitismo por *Cryptosporidium* sp. em crianças com diarreia aguda. Rev. Inst. Med. Trop. (Sao Paulo), 34, 1992: 341-345.
- MIRON, D. - KENES, J. - DAGAN, R.: Calves as a source of an outbreak of cryptosporidiosis among young children in an agricultured closed community. Pediat. Infect. Diss. J., 10, 1991: 438-441.
- PAVLÁSEK, I.: First record of *Cryptosporidium* sp. in calves in Czechoslovakia. Folia parasit. (Praha), 28, 1981: 187-189.
- PAVLÁSEK, I.: Dynamics of the release of oocysts of *Cryptosporidium* sp. in spontaneously infected calves. Folia parasit. (Praha), 29, 1982: 295-296.
- 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: 255-256.
- REESE, N. C. - CURRENT, W. L. - ERNST, J. V. - BAILEY, W. S.: Cryptosporidiosis of man and calf. A case report and results of experimental infections in mice and rats. Amer. J. Trop. Med. Hyg., 31, 1982: 226-229.
- SOAVE, R. - JOHNSON, W. D. Jr.: *Cryptosporidium* and *Isospora belli* infections. J. Infect. Diseases, 157, 1988: 225-229.
- TYZZER, E. E.: A protozoan found in the peptic glands of the common mouse. Proc. Soc. Exp. Biol. Med., 5, 1907: 12-13.
- TYZZER, E. E.: An extracellular coccidium *Cryptosporidium muris* (gen. et sp. nov.) of the gastric glands of the common mouse. J. Med. Res., 23, 1910: 487-509.

TYZZER, E. E.: *Cryptosporidium parvum* (sp. nov.) a coccidium found in the small intestine of the common mouse. Arch. Protistenkd., 26, 1912: 349-412.

TZIPORI, S.: Cryptosporidiosis in perspective. Adv. Parasit., 27, 1988: 63-127.

UPTON, S. J. - CURRENT, W. L.: The species of *Cryptosporidium* (Apicomplexa: Cryptosporidiidae) infecting mammals. J. Parasit., 71, 1985: 625-629.

Došlo 9. 12. 1993

The first cases of spontaneous infection of cattle by *Cryptosporidium muris* Tyzzer (1907), 1910 in the Czech Republic

Coccidia of the genus *Cryptosporidium* (Apicomplexa: Cryptosporidiidae) are parasitic protozoa developed inside the zone of microvilli of epithelium mostly of the digestive tract but also of other organs. A significant causal agent of gastroenteritis and diarrheas of newborn calves, lambs and kids is *C. parvum* Tyzzer, 1912. This protozoon drew a lot of attention in the last decade not only in young farm animals but also in connection with an increasing number of positive findings of the parasite in children and in patients with AIDS.

Until now, however, we have been missing the basic data on biological properties, spread and importance for veterinary and human medicine in the case of the second recognized species of mammalian cryptosporidia - *C. muris* Tyzzer (1907), 1910. In this short communication we give information on the first findings of *C. muris* in naturally infected adult cattle from three different localities of the Czech Republic and, with the highest probability, the first cases in Europe as well.

The first positive finding of a very high number of oocysts with morphometrical data corresponding to the *C. muris* species was registered in feces of a two-year breeding bull sent for preventive coprological examination to parasitological laboratory of the State Veterinary Institute in Prague. One A. I. station lent this bull for 8 weeks to cover repeat-breeder cows on one of the farms. Feces from this animal were examined by flotation-centrifugation method according to Breza (1957) and the method of native preparation according to Pavlák (1991) in 2 - 7 day intervals (3-month examination time at present). In the same way, particular coprological examinations aimed especially at the detection of oocysts of this *Cryptosporidium* were carried out in the following animals with the results given below:

1. From totally 96 cows tied up in the cowshed with adjoining building where the breeding bull infected with *Cryptosporidium* was housed in the box, *C. muris* oocysts were found in the feces of four dairy cows 2 - 4 years old.

2. In 28 calves 10 - 75 days of age born to cows housed in the cowshed mentioned above and then reared in outdoor individual sheds the results were negative.

3. Oocysts of *C. muris* have not been found either in 3 - 6 months calves housed in the calfhouse in which calves from the farm are gathered.

4. In 22 cows and 9 bulls 1 - 4 years old on pasture and loose housing regime of husbandry and in contact with the infected breeding bull, no *C. muris* oocysts have been observed until now.

5. At the A. I. station, the place of origin of this bull, 46 animals of 1 - 11 years of age were examined. Morphologically the same type of *Cryptosporidium* oocysts has been found in one 4 year bull.

6. In two out of 15 heifers on pasture from another farm, the feces of which were sent to parasitological laboratory of the State Veterinary Institute in Prague for routine preventive coprological examination, oocysts of *C. muris* were present.

7. In December 1993 *C. muris* oocysts were found in two pooled (mixed) samples of feces from 6 - 12 months bulls. In January 1994 19 bulls of the same age were investigated individually from this farm and oocysts of the above mentioned parasite were detected in 11 (57.9 %)

The size of oval to egg-shaped oocysts as a result of measuring always 100 oocysts in native preparation from feces of positive animals (ocular H 8x, objective 100x) was $7.2 - 8.16 \times 4.8 - 6.4 \mu\text{m}$ with the mean of $7.89 \pm 0.2 \times 5.75 \pm 0.3 \mu\text{m}$. The size most frequently observed was $8.0 \times 5.6 \mu\text{m}$. The index of the oocysts was follows:

a) length/width: $1.25 - 1.56$ with the mean of 1.3 ± 0.6 ,

b) width/length: $0.6 - 0.8$ with the mean of 0.73 ± 0.04 .

In the centre of the oocyst spherical globular body is present, the mean size of which is $3.2 \mu\text{m}$. In the optical microscope this body appears as a light formation round which there are 2 - 4 bigger and clearly distinguishable granules and higher number of smaller granules. There are arranged either regularly, resulting in the shape of a ring, circular or oval, or dispersed irregularly near the membrane of the residuum oocyst and positioned excentrically towards one of its walls. In sporulated oocysts 4 sporozoites are found round the residual body. Their mean size, after excystation of the oocysts *in vitro*, is $11.2 \times 1.2 \mu\text{m}$ and they are of typical banana shape.

In the feces of positive animals enormous quantity of oocysts of *C. muris* was present. One ml homogenous mixture examined (1.3 grams of feces homogenized in 10 ml of water) yielded $4 - 6 \cdot 10^5$ oocysts. At present, coprological examinations of the breeding bull in intervals mentioned above and lasting just three months currently gave proof of permanent excretion of *C. muris* oocysts during the whole observation time with considerably high and nearly unchanged intensity. In one of the positive dairy cows the result after more than two months of observation is the same.

Our first experimental infections of laboratory mice with oocysts isolated from feces of the naturally infected breeding bull were successful. The results of these initial

transmission studies suggest that, with the highest probability, mutual interchange of this *Cryptosporidium* species among different susceptible hosts in the environment is possible as well and similarly like *C. parvum*, *C. muris* will also be characterized by low host specificity.

The State Veterinary Institute in Prague currently has a bank of all four valid coccidial species of the genus *Cryptosporidium*: *C. muris*, *C. parvum* (mammalian sp.) and *C. baileyi* and *C. meleagridis* (avian sp.).

Cryptosporidium muris; oocysts; cattle; prevalence

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

OBSAH – CONTENTS

Bouda J., Doubek J., Mužík J., Toth J.: Indukce porodu u krav a její vliv na vývoj biochemických a hematologických ukazatelů v krvi telat – Induction of parturitions in cows and its effect on development of biochemical and hematological indicators in the blood of calves.....	223
Doubek J., Illek J., Ondráček J.: Preklinická diagnostika metabolických osteopatií u býků ve výkrmu – Pre-clinical diagnosis of metabolic osteopathy in fattened bulls.....	231
Fišer A., Láníková A., Novák P.: Plísňová a mikrobiální kontaminace prašného spadu ve stájích pro jalovice a dojnice – Mold and microbial contamination of dust deposition in cowsheds for heifers and dairy cows.....	245
Faixová Z., Váradý J.: Prestup aminokyselin cez bachorový epitel oviec: interakcie medzi leucínom a lyzínom – Amino acid transfer through the rumen epithelium in sheep: leucine and lysine interactions.....	255
Banykó J.: Polymorfizmus alfa _s -kazeínov u kozy bielej krátkosrstej bezrohej – Polymorphism of alfa _s -caseins in the White Shorthaired Polled goat.....	263
Hejlíček K., Tremel F.: Epizootologie a patogenéze aviární mykobakterií racka chechtavého (<i>Larus ridibundus</i>) – Epizootology and pathogenesis of avian mycobacteriosis in the laughing gull (<i>Larus ridibundus</i>).....	271
INFORMACE - STUDIE - SDĚLENÍ	
Pavlásek I.: První případy zjištění spontánní nákazy skotu <i>Cryptosporidium muris</i> Tyzzer (1907), 1910 v České republice.....	279

UPOZORNĚNÍ PRO ODBĚRATELE

Od letošního roku vyřizuje veškeré služby spojené s distribucí časopisu Veterinární medicína vydavatel - Ústav zemědělských a potravinářských informací Praha.

Objednávky na předplatné posílejte na adresu:

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

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 Zemědělských a potravinářských informací, Praha 1994

Rozšiřuje Ústav zemědělských a potravinářských informací, referát odbytu, Slezská 7, 120 56 Praha