

ÚZPI

ÚSTAV ZEMĚDĚLSKÝCH A POTRAVINÁŘSKÝCH INFORMACÍ

VETERINÁRNÍ MEDICÍNA

Veterinary Medicine – Czech

ČESKÁ AKADEMIE ZEMĚDĚLSKÝCH VĚD

4

VOLUME 40 (LXVIII)
PRAHA
APRIL 1995
CS ISSN 0375-8427

Mezinárodní vědecký časopis vydávaný z pověření České akademie zemědělských věd a s podporou Ministerstva zemědělství České republiky

An international journal published by the Czech Academy of Agricultural Sciences and with the promotion of the Ministry of Agriculture of the Czech Republic

Editorial Board – Redakční rada

Chairman – Předseda

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

Members – Členové

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

Doc. MVDr. Ivan Herzig, CSc., Veterinary Research Institute, Brno, Czech Republic

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

Prof. MVDr. Bohumil Ševčík, DrSc., BIOPHARM – Research Institute of Biopharmacy and Veterinary Drugs, a. s., Jilové u Prahy, Czech Republic

Prof. MVDr. Zdeněk Věžík, DrSc., Veterinary Research Institute, Brno, Czech Republic

Editor-in-Chief – Vedoucí redaktorka

Ing. Zdeňka Radošová

Cíl a odborná náplň: Časopis uveřejňuje původní vědecké práce a studie typu review ze všech oblastí veterinární medicíny.

Časopis Veterinární medicína uveřejňuje práce v češtině, slovenštině a angličtině.

Časopis je citován v bibliografickém časopise Current Contents – Agriculture, Biology and Environmental Sciences a abstrakty z časopisu jsou zahrnuty v těchto databázích: Agri, CAB Abstracts, Current Contents on Diskette – Agriculture, Biology and Environmental Sciences, Czech Agricultural Bibliography, Toxline Plus, WLAS.

Periodicita: Časopis vychází měsíčně (12x ročně), ročník 40 vychází v roce 1995.

Přijímání rukopisů: Rukopisy ve dvou vyhotoveních je třeba zaslat na adresu redakce: Ing. Zdeňka Radošová, vedoucí redaktorka, Ústav zemědělských a potravinářských informací, Slezská 7, 120 56 Praha 2, tel.: 02/25 75 41–9, fax: 02/25 70 90. Den doručení rukopisu do redakce je uváděn jako datum přijetí k publikaci.

Informace o předplatném: Objednávky na předplatné jsou přijímány pouze na celý rok (leden–prosinec) a měly by být zaslány na adresu: Ústav zemědělských a potravinářských informací, vydavatelské oddělení, Slezská 7, 120 56 Praha 2. Cena předplatného pro rok 1995 je 396 Kč.

Aims and scope: The journal publishes experimental papers and reviews from all fields of veterinary medicine.

The journal Veterinární medicína publishes original scientific papers written in Czech, Slovak or English.

The journal is cited in the bibliographical journal Current Contents – Agriculture, Biology and Environmental Sciences, abstracts from the journal are comprised in the databases: Agri, CAB Abstracts, Current Contents on Diskette – Agriculture, Biology and Environmental Sciences, Czech Agricultural Bibliography, Toxline Plus, WLAS.

Periodicity: The journal is published monthly (12 issues per year), Volume 40 appearing in 1995.

Acceptance of manuscripts: Two copies of manuscript should be addressed to: Ing. Zdeňka Radošová, editor-in-chief, Institute of Agricultural and Food Information, Slezská 7, 120 56 Praha 2, tel.: 02/25 75 41–9, fax: 02/25 70 90. The day the manuscript reaches the editor for the first time is given upon publication as the date of reception.

Subscription information: Subscription orders can be entered only by calendar year (January–December) and should be sent to: Institute of Agricultural and Food Information, Slezská 7, 120 56 Praha 2. Subscription price for 1995 is 92 USD (Europe), 96 USD (overseas).

FINDS OF SARCOCYSTIOSIS IN SLAUGHTER ANIMALS DURING VETERINARY INSPECTION

ZÁCHYTNOSŤ SARKOCYSTÓZY U JATOČNÝCH ZVIERAT PRI VETERINÁRNEJ PREHLIADKE

P. Maľa, M. Baranová

University of Veterinary Medicine, Košice, Slovak Republic

ABSTRACT: The objective of our study was to acquire objective data on the finds of sarcocystiosis incidence in particular species of farm animals during veterinary inspection and to compare the efficiency of different direct diagnostic methods: compression and digestion methods. The examined and observed animals involved sheep, cattle, pigs and goats slaughtered in the packing plants at Ružomberok, Rimavská Sobota, Trstená, Sabinov and Košice. The animals were subjected to regular veterinary inspection including aspection focused on predilection spots of sarcocyst incidence. Sarcocysts were investigated in detail in 353 head of sheep, 27 goats, 350 head of cattle and 1,409 pigs. The examination consisted in inspection of the whole body, of cross-sections of muscles and organs. The rate of sarcocyst invasion in meat as well as the size of cysts were largely variable. The highest incidence in sheep was observed on the inner surface of ventral muscles in the region of diaphragmatic ribs (21.4%) and in the region of intercostal muscles (39.6%). The rate of sarcocyst invasion in the organs was highest in the gullet with cysts of various forms and size (in 47% of sheep). Veterinary inspection of the total number of 27 goats revealed at aspection the presence of macrocysts in eight goats, which makes 29.62%, and in six head of cattle (1.7%) and in 13 pigs (0.9%). Regular finds of sarcocysts on a slaughter line were confronted with direct diagnostic methods: compression and digestion methods (Fig. 1, Tabs. I, II and III). Direct diagnostic method confirmed different results, while only the digestion method – trypsin digestion of muscle – can be considered as diagnostically reliable.

sarcocystiosis; sheep; goats; cattle; pigs; meat; organs; macrocysts; microcysts; diagnostics

ABSTRAKT: Cieľom našej práce bolo získanie objektívnych údajov o záchytnosti výskytu sarkocystózy u jednotlivých druhov hospodárskych zvierat pri veterinárnej prehliadke a porovnanie účinnosti záchytu medzi jednotlivými priamymi diagnostickými metódami: kompresnou a tráviacou metódou. Vyšetrovaným a skúmaným materiálom boli ovce, hovädzí dobytok, ošípané a kozy zabíjané v mäsokombinátoch Ružomberok, Rimavská Sobota, Trstená, Sabinov a Košice. Zvieratá boli sledované v rámci bežnej veterinárnej prehliadky adspekciou so zameraním na predilekčné miesta výskytu sarkocýst. Sarkocysty sme podrobne sledovali u 353 oviec, 27 kôz, 350 kusov hovädzieho dobytku a 1409 ošípaných. Vyšetrenie sme previedli obhliadkou celého tela, na priečnych rezoch svaloviny a orgánoch. Stupeň invadovanosti mäsa ako aj veľkosti cýst boli značne variabilné. Najväčšia intenzita výskytu u oviec bola na vnútornom povrchu brušných svalov v oblasti rebrovej časti bránice (21,4 %) a v oblasti medzirebrových svalov (39,6 %). V invadovanosti orgánov prioritné miesto predstavoval pažerák s rôznymi formami a veľkosťou cýst (u 47 % oviec). Z celkového počtu 27 kôz vyšetrených v rámci veterinárnej prehliadky sme zistili adspekciou prítomnosť makrocýst u ôsmich kôz, čo predstavuje 29,62 %, u šiestich kusov hovädzieho dobytku (1,7 %) a 13 ošípaných (0,9 %). Bežné zisťovanie sarkocýst na porážkovej linke sme konfrontovali s priamymi diagnostickými metódami: kompresnou a tráviacou metódou (obr. 1, tab. I, II, III). Priame diagnostické metódy potvrdili rozdielnu záchytnosť. Ako diagnosticky spoľahlivú je možné považovať len metódu tráviacu – natrávenie svaloviny pomocou trypsinu.

sarkocystóza; ovce; kozy; hovädzí dobytok; ošípané; mäso; orgány; makrocysty; mikrocysty; diagnostika

ÚVOD

Nové poznatky o výraznom rozšírení sarkocystózy, jej zvýšená záchytnosť pri veterinárnej prehliadke nielen u oviec, ale aj u iných jatočných zvierat (hovädzí dobytok, ošípané a kozy) podnietili potrebu riešenia tejto problematiky v širších súvislostiach i z hľadiska hygieny potravín a surovín živočíšneho pôvodu.

Záujem veterinárnych hygienikov o parazity vyskytujúce sa v mäse jatočných zvierat sa v poslednej dobe posunul z makroparazitov typu pásomnice, hlísty, svaľovce smerom k jednobunečným parazitom, ako sú sarkosporídie (*Sarcocystis*).

V literárnych údajoch existuje veľká pestrosť a často aj diametrálnosť údajov o výskyte a klasifikácii sarkocýst. Z veterinárno-hygienického hľadiska je potrebné

venovať zvýšenú pozornosť sarkocystóze, lebo v rade prípadov bola potvrdená reálna možnosť prenosu prvokov rodu *Sarcocystis* zo zvierata na človeka a naopak (Dubey a Fayer, 1983).

Nakoľko laboratórna diagnostika, ako aj prípadná terapia majú ešte veľa nedoriešených uzlov, celá problematika sarkocystózy sa odvíja od postmortálnych nálezov markocýst pri veterinárnej prehliadke (Árva y a Voško, 1984).

Z praktického hľadiska treba zdôrazniť najmä diagnostickú preukázanosť priamej detekcie tkanivových kokcií rodu *Sarcocystis*, ktorá sa v prípade pozitívnych nálezov rovná ich záchytnosti. Takými sú metódy: kompresná, histologická, homogenizačná a tráviaca, poskytujúce však rozdielne výsledky (Fassi-Fehri a i., 1978; Bratberg a i., 1982; Černá a Merhautová, 1981).

Nedávne porovnávacie štúdie ukázali, že metódy enzýmového trávenia (za pomoci natravovania vzorky svaloviny pepsínom, hlavne však trypsínom) sú najcitlivejšie pri určovaní invázie. Ich výhoda je aj v možnosti použitia väčšej vzorky svaloviny ako 1 g (až 15 g) – Boch a i. (1980), Erber (1982), Gut (1982). Enzymatické metódy však neumožňujú presné morfológické pozorovania, lebo vedú k deštrukcii obalov cýst (charakteristického rozlišovacieho znaku jednotlivých druhov).

Cieľom našej práce bolo získanie objektívnych údajov o záchytnosti výskytu sarkocystózy u jednotlivých druhov hospodárskych zvierat pri veterinárnej prehliadke a porovnanie účinnosti záchytu medzi jednotlivými priamymi diagnostickými metódami: kompresnou a tráviacou metódou.

MATERIÁL A METÓDY

Vyšetrovaným a skúmaným materiálom boli ovce, kozy, hovädzí dobytok a ošípané zabíjané v mäsokombinátoch Ružomberok, Rimavská Sobota, Trstená, Sabinov a Košice. Sarkocysty sme podrobne sledovali u 353 oviec, 27 kôz, 350 kusov hovädzieho dobytku a 1 409 ošípaných. Vyšetrenie sme previedli obhliadkou celého tela, na priečnych rezoch svaloviny a orgánov. Zvieratá boli sledované v rámci bežnej veterinárnej prehliadky aspekciou so zameraním na predilekčné miesta výskytu sarkocýst. Prehliadka bola doplnená o aspekciu pomocou špeciálnej optiky – binokulár zn. Jena.

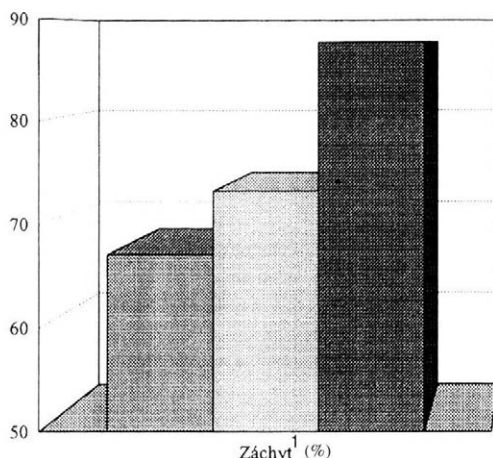
Vzorky z pažerákov, bránice, srdca, telových výsteliak a hrubej svaloviny, trupu a končatín boli ďalej podrobené kompresnej a tráviacej metóde (Nevoľe a Lukešová, 1981) a vzájomne porovnávané.

VÝSLEDKY

Makrocysty sme podrobne sledovali u 353 invadovaných oviec. Vyšetrenie sme previedli voľným okom –

obhliadkou celého tela, na priečnych rezoch svaloviny a orgánov. Stupeň invadovanosti mäsa, ako aj veľkosť cýst boli značne variabilné. Veľkosť cýst sa pohybovala od 2 do 25 mm. Sarkocysty sa v svalovine javili ako matnobiely útvary od hrúbky nite, cez veľkosť ovseného zrnka až po najväčšie formy, dosahujúce veľkosť fazule. Rozdielny bol aj ich tvar – okrúhly, oválny až pretiahly eliptický. Pri silnej invadovanosti zvlášť na pažeráku dochádzalo k vzájomnému združovaniu cýst do rôzne veľkých súvislých zhlukov. Najväčšia invadovanosť výskytu u oviec bola na vnútornom povrchu brušných svalov v oblasti rebrovej časti bránice (*pars costalis diaphragmatis* 21,4 %) a v oblasti medzirebrových svalov (*m. intercostalis* 39,6 %). Tu bola najčastejšie zachytená eliptická forma veľkosti ryže. Táto forma cýst bola zisťovaná aj pri hĺbkových rezoch v svalovine stehna (*m. rectus femoris* 14,1 %), ako aj v hlbokom prsnom svalu (*m. pectoralis profundus* 6,8 %) po odplecení. V ojedinelých prípadoch (2,7 % boli zistené cysty aj v žuvacích svaloch). V invadovanosti orgánov prioritné miesto predstavoval pažerák s rôznymi formami a veľkosťou cýst (u 47 % oviec). V svalovine myokardu boli cysty nájdené ojedinele (2,5 %). V tráviacom trakte nebola zistená prítomnosť cýst. U jariek do jedného roka, ako aj u brojlerov nebol zistený výskyt makrocýst.

Celé vizuálne sledovanie postmortálnej diagnostiky sarkocýst bolo skombinované sledovaním cýst pomocou špeciálnej zväčšovacej optiky (binokulár), používanej v mikrochirurgii. Hoci optika nesplnila naše očakávania jej využitia priamo v praxi veterinárno-hygienickej



1. Záchytnosť sarkocystózy u oviec priamymi diagnostickými metódami – Finds of sarcocystosis in sheep obtained by direct diagnostic methods

- adspekcia – aspersion
- ▨ kompresná metóda – compression method
- tráviaca metóda – digestion method

¹ finds

služby, pri hlbšom štúdiu kostrovej svaloviny nám pomohla zachytiť aj malé formy makrocýst voľným okom ťažko postrehnuteľné.

Bežné zisťovanie sarkocýst na porážkovej linke veterinárnu hygienickú službu sme konfrontovali s priamymi diagnostickými metódami: kompresnou a tráviacou metódou. Porovnanie zachytu sarkocýst sme vykonali adspekciou, kompresiou a tráviacou metódou u 97 kusov oviec (obr. 1). Najvyššiu zachytnosť sarkocýst 87,6 % vykazovala tráviaca metóda pomocou trypsínu. Kompresnou metódou bolo zachytené 73,19 %, kým adspekciou len 67 %.

Z celkového počtu 27 vyšetrených kôz v rámci veterinárnej prehliadky sme zistili adspekciou prítomnosť makrocýst u ôsmich kôz (29,62 %). Po mikroskopikom vyšetrení svaloviny a orgánov tráviacou metódou sme zistili prítomnosť sarkocýst u 15 zvierat, čo je 55,5 %. Najviac postihnutá bola bránica (55,5 %), sva-

lovina stehna a jazyka (44,4 %), pažerák (40,7 %) a srdce (37,03 %) – tab. I. Makrocysty podobného tvaru a veľkosti ako *S. gigantea* sme zisťovali najčastejšie na bránici, pažeráku a jazyku.

Sarkocystózu u hovädzieho dobytku sme sledovali v svalovine a orgánoch zvierat zabíjaných v závoде Mäsovýchod a. s. Košice, Vizop Prešov a Tauris Rimavská Sobota. Celkove sme vyšetrili 350 kusov hovädzieho dobytku v rámci veterinárnej prehliadky, pričom adspekciou sme zistili prítomnosť makrocýst u šiestich kusov, čo je 1,7 %. Predilekčnými miestami boli pažerák – distálna časť a bránica. Kompresnou metódou bola zistená prítomnosť sarkocýst v svalovine bránice u 29 zvierat, t. j. 8,29 % a v pažeráku u 40 zvierat (11,45 %). Tráviacou metódou bola zachytená prítomnosť sarkocýst v svalovine bránice u 47 zvierat (13,42 %) a vo vzorkách z pažeráka u 74 zvierat, čo je 21,14 %. Výskyt sarkocystózy u hovädzieho dobytku z jednotlivých závodov udáva tab. II.

Výskyt sarkocystózy u ošípaných sme sledovali v závoде Mäsovýchod a. s. Košice. Z celkového počtu 1 409 vyšetrených ošípaných pochádzajúcich z jednotlivých chovov sme pri veterinárnej prehliadke zistili prítomnosť makrocýst u 13 kusov, čo predstavuje 0,9 %. Tráviacou metódou sme zistili invadovanosť u 314 ošípaných, čo činí 22,28 %. Vzorky svaloviny k zisťovaniu tráviacou metódou sme odoberali z bránice, pažeráka, jazyka a srdca. V natrávanej svalovine sme pri 40–60násobnom zväčšení registrovali prítomnosť cýst a zoitov, v bránici u 314 kusov zvierat (22,28 %), pažeráku u 293 ks (20,79 %), srdci u 67 ks (4,7 %) a jazyku u 186 ks (13,2 %) – tab. III.

I. Zachytnosť výskytu sarkocystózy u kôz – Finds of sarcocystiosis incidence in goats

Druh vzorky ¹	Počet vzoriek ²	Zachytnosť ³		
		adspekciou ⁴	tráviacou metódou ⁵	percento výskytu ⁶
Pažerák	27	7	11	40,7
Bránica	27	8	15	55,5
Srdce	27	6	10	37,0
Jazyk	27	7	12	44,4
Svalovina	27	6	12	44,4

¹type of sample, ²number of samples, ³finds, ⁴by aspection, ⁵by digestion method, ⁶percent incidence

II. Zachytnosť sarkocystózy u hovädzieho dobytku – Finds of sarcocystiosis in cattle

Závod ¹	Druh vzorky ²	Počet zvierat ³	Zachytnosť ⁴					
			adspekciou ⁵	percento výskytu ⁶	kompresnou metódou ⁷	percento výskytu	tráviacou metódou ⁸	percento výskytu
Košice	bránica ⁹	250	2	0,8	13	5,2	21	8,4
	pažerák ¹⁰	250	2	0,8	21	11,6	49	18,8
Prešov	bránica	50	3	6,0	7	14,0	11	22,0
	pažerák	50	4	8,0	9	18,0	11	22,0
Rimavská Sobota	bránica	50	–	0	9	18,0	15	30,0
	pažerák	50	–	0	10	20,0	14	28,0

¹packing plant, ²type of sample, ³number of animals, ⁴finds, ⁵by aspection, ⁶percent incidence, ⁷by compression method, ⁸by digestion method, ⁹diaphragm, ¹⁰gullet

III. Výskyt sarkocystózy vo vyšetrovaných vzorkách u ošípaných – Incidence of sarcocystiosis in the examined samples of pigs

Závod ¹	Druh vzorky ²	Počet zvierat ³	Zachytnosť ⁴		
			adspekciou ⁵	tráviacou metódou ⁶	percento výskytu ⁷
Mäsovýchod a. s. Košice	bránica ⁸	1 409	13	314	22,28
	pažerák ⁹	1 409	9	293	20,79
	srdce ¹⁰	1 409	2	67	4,7
	jazyk ¹¹	1 409	5	186	13,2

¹packing plant, ²type of sample, ³number of animals, ⁴finds, ⁵by aspection, ⁶by digestion method, ⁷percent incidence, ⁸diaphragm, ⁹gullet, ¹⁰heart, ¹¹tongue

Rozhodujúci význam pre zisťovanie objektivity výskytu sarkocystózy u všetkých hospodárskych zvierat má zvolenie a použitie vyšetrovacích metód. Vzhľadom k tomu, že voľba vyšetrovacej metodiky môže podstatne ovplyvniť výsledky, pokúsili sme sa porovnať metódy priamej detekcie (adspekciu, kompresnú a tráviacu metódu) pri diagnostike sarkocystózy.

Priame diagnostické metódy vykazujú rozdielnú zachytnosť a ako diagnosticky spoľahlivú u všetkých jatočných zvierat je možné považovať len metódu tráviacu – natrávenie svaloviny pomocou trypsínu (Maľa a Baranová, 1994). K podobným výsledkom dospeli pri vyšetrení oviec aj Nevoľe a Lukešová (1981). Podľa citovaných autorov za diagnosticky najspoľahlivejšiu možno považovať tráviacu metódu. Ostatné metódy sú pomocné (doplňkové) slúžiace pre špecifické účely. Nároky na laboratorné vybavenie tejto metódy sú nízke a možno ju vykonávať vo všetkých veterinárnych laboratóriách. Všetky použité chemikálie sú dostupné a metódu je možné použiť pri sledovaní sarkocystózy u ošipáných, oviec, hovädzieho dobytku a iných zvierat. Miesto odberu je však treba prispôbiť a odoberať vzorky zo svaloviny s najväčším predilekčným výskytom sarkocyst (Pleva a i., 1987).

V rámci veterinárnej prehliadky sa nezachytí prítomnosť mikrocyt ani mikroforiem makrocyt a svalovina takto invadovaných zvierat nemusí byť objektívne a správne posúdená (Beličková a i., 1991). Bežné vyšetrovacie metódy pri posudzovaní hygienickej nezávadnosti mäsa, jatočných zvierat aj napriek tomu, že sú v súlade s právnymi predpismi neumožňujú zistenie invázie týchto parazitov, hlavne niektorých foriem, čím nie sú zaznamenávané v dokladoch o úradnom vyšetrení mäsa.

ÁRVAY, Š. – VOŠKO, L.: Skúsenosti s postmortálnou diagnostikou sarkocystózy oviec v MK Ružomberok a jej vplyv na zhodnocovanie ovčieho mäsa pri nákupe zvierat a ich spracovaní. In: Ved. Konf. Veterinárne vedy a prax, Košice, 5.–6. 9. 1984.

BELIČKOVÁ, E. – MALA, P. – VOŠKO, L.: Sarkocystóza z aspektu hygieny potravín. Zbor. Ved. Prác VII, ÚEVM Košice, 1991: 31–34.

BOCH, J. – HENNINGS, R. – ERBER, M.: Die wirtschaftliche Bedeutung der Sarkosporidiose (*Sarcocystis suis*) in der Schweinemast. Auswertung eines Feldversuches. Berl. Münch., Tierärztl. Wschr., 93, 1980: 420–423.

BRATBERG, B. – HELLE, O. – HILALI, M.: *Sarcocystis* infection in sheep from southwestern Norway. Acta Vet. Scand., 23, 1982: 221–234.

ČERNÁ, Ž. – MERHAUTOVÁ, V.: *Sarcocystosis* in cattle and sheep at Prague abattoir. Folia Parasit. (Praha), 28, 1981: DUBEY, J. P. – FAYER, R.: Zoonoses in practice – *sarcocystosis*. Brit. Vet. J., 139, 1983: 371–377.

ERBER, M.: Life cycle of *Sarcocystis tenella* in sheep and dog. Z. Parasitenkunde, 68, 1982: 171–180.

FASSI-FEHRI, N. – CABARET, J. – AMAQDOUF, A. – DARDAR, R.: La sarcosporidiose des ruminants au Maroc. épidémiologique par deux techniques histologiques. Ann. Rech. Vétér., 9, 1978: 409–417.

GUT, J.: *Sarcocystis* in mammals in Czechoslovakia. J. Protozool., 29, 1982: 506.

MALA, P. – BARANOVÁ, M.: Sarkocystóza oviec. In: Zbor. Ref. Aktuálne problémy chovu, ekonomiky a zdravia malých prežúvavcov, Košice, 28.–29. 4. 1994: 129–131.

NEVOLE, M. – LUKEŠOVÁ, D.: Metody přímé detekce sarkocyst a jejich diagnostická spolehlivost. Vet. Med. (Praha), 26, 1981: 581–583.

PLEVA, J. – MALA, P. – BELIČKOVÁ, E. – BARANOVÁ, M. – SIKLENKA, P. – JACKOVÁ, A. – VOŠKO, L.: Sarkocystóza oviec z aspektu hygieny potravín a surovín. [Závěrečná správa.] Košice, ÚEVM 1987.

Došlo 8. 7. 1994

Kontaktná adresa:

Doc. MVDr. Pavel Maľa, CSc., Univerzita veterinárskeho lekárstva, Komenského 73, 040 01 Košice, Slovenská republika
Tel. 095/321 11, fax 095/76 76 75

THE EFFECTS OF FEEDING EMISSIONS FROM A METAL-PRODUCING PLANT UPON THE IMMUNE SYSTEM OF SHEEP

VPLYV SKRMOVANIA PRIEMYSELNEJ EMISIE Z KOVOHUT NA IMUNITNÝ SYSTÉM U OVIEC

P. Naď¹, M. Bírešová¹, J. Legát²

¹Research Institute of Experimental Veterinary Medicine, Košice, Slovak Republic

²University of Veterinary Medicine, Košice, Slovak Republic

ABSTRACT: The aim of our study was to assess the effects of feeding emissions of a plant producing metals from heavy metal-containing ore upon the humoral immunity in sheep. Three-year-old sheep of the Wallachian breed were included in an experiment and they were divided into two groups. The experimental group (5 animals) was administered emission-containing (prevalingly Cu and Zn) capsules for 3 weeks at a dose amounting to the twofold and during week four the threefold of the daily intake of sheep bred in the exposed area. The animals were subcutaneously immunized with ovalbumin (OVA, SIGMA A 5503) in 10% alhydrogel at a dose of 2 mg/100 kg l.w. In weekly intervals, blood samples were analyzed for specific antibody and total immunoglobulin levels. In both groups, OVA antibody formation was most pronounced in the 3rd and 5th weeks of observation. It was significantly ($P < 0.01$) higher in the experimental animals than in the controls (1.021, 0.641 and 1.138 vs. 0.435, 0.265 and 0.673 in the 3rd, 4th and 5th weeks, respectively). In the experimental group, total immunoglobulin concentrations slightly increased from 33.5 U ZST (starting value) to 38.72 U ZST (final value). As to the total immunoglobulin levels, no significant differences were determined between the two groups. It can be seen from the results that short-term administration of emissions promotes increased specific OVA antibody formation and a slight increase in total immunoglobulin levels. At the same time the ELISA method was proved to be suitable for specific antibody detection as a part of humoral immunity assessment.

specific antibodies; ELISA; total immunoglobulins; industrial emissions; sheep

ABSTRAKT: Cieľom sledovania bolo posúdiť vplyv skrmovania emisie zo závodu na spracovanie rúd ťažkých kovov na humorálnu imunitu u oviec. Do experimentu bolo zaradených 10 oviec plemena valaška vo veku troch rokov, rozdelených do dvoch skupín. Pokusnej skupine (5 ks) bola v toboľkách podávaná emisia s najväčším zastúpením Cu a Zn po dobu troch týždňov v dávke, ktorá predstavovala dvojnásobok a štvrtý týždeň trojnásobok bežného denného príjmu sledovaných prvkov u oviec chovaných v oblasti vystavenej emisnému spádu. Ovce boli subkutánne imunizované ovalbumínom (OVA, SIGMA A 5503) v 10% alhydrogeli v dávke 2 mg/100 kg živej hmotnosti. V týždňových intervaloch boli v krvnom sére stanovované špecifické protilátky a celkové imunoglobulíny. Tvorba protilátok na OVA bola v oboch skupinách najvýraznejšia v 3. a 5. týždni sledovania, pričom v 3., 4. a 5. týždni v pokusnej skupine (1,021; 0,641; 1,138) bola oproti kontrole (0,435; 0,265; 0,673) významne vyššia ($P < 0,01$). Koncentrácie celkových imunoglobulínov v pokusnej skupine mierne narastali z počiatočnej hodnoty 33,5 U ZST na 38,72 U ZST v poslednom týždni sledovania. Medzi skupinami neboli zistené štatisticky významné rozdiely v obsahu celkových imunoglobulínov. Z dosiahnutých výsledkov vyplýva, že krátkodobá aplikácia emisie z kovohút vyvolávala u oviec zvýšenú tvorbu špecifických protilátok na OVA a mierne zvýšenie tvorby celkových imunoglobulínov. Súčasne sa potvrdila vhodnosť ELISA metódy na detekciu špecifických protilátok ako súčasť posúdenia humorálnej imunity.

špecifické protilátky; ELISA; celkové imunoglobulíny; priemyselná emisia; ovce

INTRODUCTION

Intoxication of sheep by copper compounds may be of different etiology. For ruminants, the fallout regions of copper-producing plants present the major risk of increased copper intake (Parada et al., 1987; Gum-

mov et al., 1991). Copper intoxication in sheep caused by emissions of an ore-processing plant under both spontaneous and experimental conditions was first described by Vrzgula et al. (1986) and Bíreš et al. (1993).

From the viewpoint of predisposition, sheep are the species that is the most susceptible to Cu surplus (So-

li, 1980; Kimberling and Arnold, 1983). Goats and cattle are more resistant to increased Cu doses (Fetcher, 1983).

Copper intoxication affects hepatocytes, erythrocytes, the tubular epithelium of the kidneys, the reproductive organs of females and males, the immune system and the genetic apparatus.

The aim of this work was to assess the effects of industrial emission feeding upon the immune system of sheep by observing total immunoglobulin levels and the dynamics of specific antibody formation after antigen administration.

MATERIALS AND METHODS

Five sheep of the Wallachian breed were included in an experiment; the animals were aged 3 years and came from an area exposed to emissions of the metallurgical plant. The average daily intake of the toxic elements by one sheep was determined from the amount of emission fallout and the analysis of feed ration components and is illustrated in Tab. I. The ewes were transported into experimental premises where, after a short adaption phase, during the first three weeks they were given the emissions at an amount representing the twofold and during week four the threefold of the average daily heavy metal intake of sheep reared in the affected area. The control group comprised 5 sheep imported from an unpolluted area. The feeding ration in both the control and the experimental group consisted of hay and a feed mixture. Water was accessible *ad libitum*.

I. The average daily intake of heavy metals per animal (mg/kg) in an area contaminated by emissions from a metallurgical plant

Cu - 187.70	Zn - 8.60	Hg - 4.53	Pb - 0.64
Fe - 45.20	As - 5.80	Cr - 4.10	Cd - 0.24

At the start of the experiment and 3 weeks later repeated vaccination was carried out with ovalbumin (OVA) at a dose of 2 mg/100 kg l.w.

Blood samples for analysis were obtained from the jugular vein prior to the first immunization and then in 3-week-intervals throughout the experimental period. Specific OVA antibodies were determined in the blood serum using a modified ELISA method (Břířová et al., 1994). For absorbance measurements at 405 nm the ELISA reader (MULTISKAN PLUS, LABSYSTEM) was used. The results of these measurements are given as the mean values of absorbance ($\bar{x}$) and the standard deviation ($\pm$ SD). Total immunoglobulins (Ig) were determined turbidimetrically according to the method developed by McEwan et al. (1970).

Statistical evaluation of the differences between the experimental and the control groups was carried out by Student's *t*-test.

RESULTS

The values of absorbance in the experimental and the control sheep are given in Tab. II; the dynamics of specific OVA antibodies is presented in Fig. 1.

II. OVA antibody absorbance values at 405 nm

Week	0	1	2	3*	4*	5*
P	$\bar{x}$ 0.063 $\pm$ s 0.034	0.032 0.029	0.149 0.148	1.021 0.558	0.641 0.311	1.138 0.515
K	$\bar{x}$ 0.066 $\pm$ s 0.068	0.016 0.009	0.077 0.054	0.435 0.436	0.265 0.253	0.673 0.659

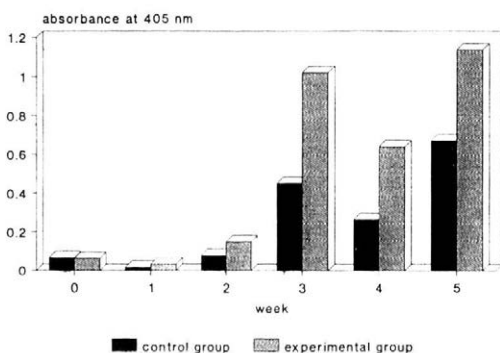
P - experimental group

K - control

$\bar{x}$ - mean

$\pm$ s - standard deviation

* - significant difference



I. Dynamics of OVA antibody formation in sheep after emission feeding

The starting values of anti OVA Ig were even-levelled in both groups. In the second post-vaccination week an increase of antibody formation could be observed in the experimental group (0.149 vs. 0.077 in the controls); in the 3rd, 4th and 5th weeks this increase became significant at the levels of $P < 0.01$. The highest specific antibody levels were stated in weeks 3 and 5 (1.021 ± 0.558 and 1.138 ± 0.515 , respectively).

Specific OVA antibody formation was more pronounced in the experimental animals which were given a mixture containing Pb, Cd, Hg, Cr, As, Fe, Cu and Zn, the two latter elements having the highest proportion.

The starting total Ig levels were evenly distributed and reached similar values in both the control and the experimental groups (35.69 ± 4.76 and 33.50 ± 6.57 U ZST, respectively; Tab. III). Throughout the observation period the values of the control group remained at the starting level. In the experimental group a slight increase in Ig levels from 33.50 ± 6.57 to 38.72 ± 5.11 U ZST was seen (Fig. 2). As to the total Ig levels, no significant difference was recorded between the control and the experimental groups.

III. Total immunoglobulin levels in sheep (U ZST)

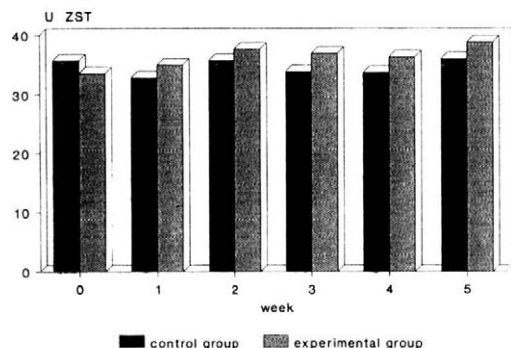
Week	0	1	2	3	4	5
P						
$\bar{x}$	33.50	34.92	37.60	36.85	36.24	38.72
$\pm s$	6.57	3.44	4.59	4.76	4.33	5.11
K						
$\bar{x}$	35.69	32.78	35.70	33.80	33.49	35.91
$\pm s$	4.76	5.86	5.78	5.85	5.85	6.83

P – experimental group

K – control

$\bar{x}$ – mean

$\pm s$ – standard deviation



2. Dynamics of total immunoglobulin formation in sheep after emission feeding

DISCUSSION

In both the experimental and the control groups, the dynamics of specific OVA antibody formation reached its first peak in the 3rd week after the first vaccination, decreased to half the value in the 4th week and, in response to re-vaccination, again increased in the 5th week, when the sheep were sacrificed for patho-histological examination. Based on our earlier observations (Rosival et al., 1993; Bířšova et al., 1994) it can be supposed that the second peak of antibody formation would have appeared in the 6th week, with a subsequent decrease to the starting levels between weeks 8 and 10.

Ward et al. (1993) also tested the activity of the humoral component of the immune system by enzyme-immune determination of specific OVA antibodies, however, they did not observe the antibody production to be significantly affected by the administered concentrations of Cu in combination with Mo and S.

Bířšova et al. (1994) used the ELISA method to determine the influence of emissions from an aluminium-producing plant (containing mainly F and Al) upon the humoral immune response in sheep. The experiments described in this study were organized in the same manner and were designed to test the emissions of the Krompachy metallurgical plant in which the individual elements were present at different proportions,

with Cu and Zn reaching the maxima. In addition to ELISA, the effects of these emissions upon humoral immunity were tested by determining the total immunoglobulin levels. In spite of the different composition of the emissions, similar results were achieved in both experiments. Hence it can be stated that a short-time exposition to the toxic elements contained in emissions from two different source had stimulatory effects upon specific antibody formation (in our experiment also upon immunoglobulin formation) and, that the immunosuppressive effects became evident only after prolonged exposition.

Bířš et al. (1990), who observed Cu distribution from the emission substrate in the sheep organism, claimed that a Cu surplus brought about not only fertility disturbances and decreased yield but also negative effects upon cellular and humoral immunity; this was also confirmed by Chandra et al. (1985). The positive effect upon humoral immunity observed in animals receiving the substrate can be explained by the fact that the exposure to high Cu levels was of short duration and the organism responded by mobilizing its defense mechanisms. In addition to its immune stimulating function, the increased Zn level in the substrate has also lead to an important reduction of absorption by interaction with Cu (Richards, 1989).

Intramuscular administration of high doses of Zn leads to major reduction of Cu absorption, and vice versa, a Cu surplus decreases the absorption of Zn (Van Campen et al., 1967; Sutomo et al., 1992).

In their experiments Hill et al. (1984) verified the effects of parenteral administration of depot Zn upon Cu metabolism. In comparison to the controls the treated animals were shown to have increased plasma levels of Cu and Zn. In the Zn-receiving group the increase in Zn and decrease in Cu levels in the liver, kidneys and spleen proved to be significant. Parenteral gavage of Zn increased Cu excretion into the urine.

Bremner et al. (1976) also confirmed the positive effects of high dietary doses of Zn upon the development of chronic Cu toxicosis. Dietary supplementation of Zn caused a decrease in Cu levels in the liver by as much as 40%, however, at long-lasting Cu surplus the toxic effects of the latter upon the liver cells and plasma enzyme activities could not be fully eliminated.

In experiments on ewes of the Improved Wallachian breed which received Cu, Fe, Zn, Mo, Se, As, Cd and Pb-containing emissions daily by an oesophageal tube, Bířš et al. (1990) in addition to other parameters also observed the effects of the emissions upon the immune system of the animals. At the end of the experiment IgC levels in the experimental animals were significantly decreased when compared to the controls ($P < 0.05$; 37.12 ± 2.65 vs. 43.47 ± 6.74 U ZST). Based on the dynamics of selected indices of the cellular and humoral immunity they confirmed the immunosuppressive effects of emissions from the Cu- and Zn-producing plant.

It follows from our results that short-term administration of emissions from metal-ore-processing plants had immunostimulatory effects; the latter became evident in the increased formation of specific OVA antibodies and a moderate increase in total immunoglobulins.

In our experiments aimed at the assessment of the humoral immune response in animals exposed to the intake of risk elements the suitability of the modified ELISA method was confirmed again.

REFERENCES

- BÍŘEŠ, J. – VRZGULA, L. – HOJEROVÁ, A.: Zmeny fagocytárnej aktivity leukocytov, hladiny plazmových IgA a albumínu u oviec po skrmovaní emisného substrátu. *Živoč. Výr.*, 35, 1990: 763–772.
- BÍŘEŠ, J. – VRZGULA, L. – KONRÁD, V.: Spontane und experimentelle Kupfer-Intoxikation bei Schafen: Klinik und Pathologie Tierärztl. Umsch., 48, 1993: 661–669.
- BÍŘEŠOVÁ, M. – NAĎ, P. – BÍŘEŠ, J. – ROSIVAL, I.: Dynamika tvorby špecifických protilátok u oviec počas príjmu priemyselného substrátu z hliníkárne. *Vet. Med.–Czech*, 39, 1994: 67–74.
- BREMMER, I. – YOUNG, B. W. – MILLS, C. F.: Protective effect of zinc supplementation against copper toxicosis in sheep. *Brit. J. Nutr.*, 36, 1976: 551–561.
- FETCHER, A.: Liver diseases of sheep and goats. *Veterinary Clinics of North America. Large Anim. Pract.*, 5, 1983: 525–538.
- GUMMOV, B. – BOTHA, C. J. – BASSON, A. T. – BASTIANELLO, S. S.: Copper toxicity in ruminants: air pollutions as a possible cause Onderstepoort. *J. Vet. Res.*, 58, 1991: 33–39.
- HILL, M. G. – BREWER, J. G. – HOGIKYAN, N. D. – STELLIN, M. A.: The effect of depot parenteral zinc on copper metabolism in the rat. *J. Nutr.*, 114, 1984: 2283–2291.
- CHANDRA, R. K. – PURI, S.: Trace element modulation of immune responses and susceptibility to infection. In: CHANDRA R. K. (ed.): *Trace elements in nutrition of children.. Nestle Nutr. Vet., Raven Press*. 1985: 87–105.
- KOMBERLING, C. V. – ARNOLD, K. S.: Diseases of the urinary system of sheep and goats. *Veterinary Clinics of North America. Large Anim. Pract.*, 5, 1983: 637–655.
- McEWAN, A. D. – FISHER, E. W. – SELMAN, J. E.: Observation on the immunoglobulin levels of neonatal calves and their relationship to disease. *J. Comp. Path.*, 80, 1970: 259–265.
- PARADA, R. – GONZALES, S. – BERGQVISTE, E.: Industrial pollution with copper and other heavy metals in beef cattle ranch. *Vet. Hum. Toxicol.*, 29, 1987: 122–126.
- RICHARDS, M. P.: Recent developments in trace element metabolism and function: role of metallothionein in Cu and Zn metabolism. *J. Nutr.*, 119, 1989: 1062–1070.
- ROSIVAL, I. – NAĎ, P. – BÍŘEŠOVÁ, M. – KRAJNÝ, P.: Vplyv výživy zvierat na obranyschopnosť a niektoré regulačné mechanizmy organizmu. [Záverečná správa.] Košice, Ústav experimentálnej veterinárnej medicíny 1993.
- SOLI, N. E.: Chronic copper poisoning in sheep. *Nord Veter. Med. (Praha)*, 32, 1980: 75–89.
- SUTOMO, F. X. – WOUNTENSEN, R. A. – VAN DEN HAMER, C. J. A.: Effects of elevated zinc intake on the copper metabolism and the pancreas of the mouse. *J. Trace Elem. Electrolyt. Hlth Disord.*, 6, 1992: 75–80.
- VAN CAMPEN, D. R. – SCAIFE, P. U.: Zinc interference with copper absorption in rats. *J. Nutr.*, 91, 1967: 473 s.
- VRZGULA, L. – BÍŘEŠ, J. – KONRÁD, V.: Prvý výskyt intoxikácie meďou pri ovciach – klinika, patológia. *Živoč. Výr.*, 31, 1986: 463–468.

Arrived on 8th July 1994

Kontaktná adresa:

MVDr. Pavol Naď, CSc., Ústav experimentálnej veterinárnej medicíny, Hlinkova 1/A, 040 01 Košice, Slovenská republika
Tel. 095/318 52, fax 095/ 318 53

MORPHOLOGICAL PICTURE OF THE TESTES OF BREEDING RAMS AFTER EXPERIMENTAL LOAD WITH COPPER-CONTAINING INDUSTRIAL EMISSIONS

MORFOLOGICKÝ OBRAZ SEMENNÍKOV PLEMENNÝCH BARANOV PO EXPERIMENTÁLNEJ ZÁŤAŽI PRIEMYSELNOU EMISIOU S OBSAHOM MEDI

M. Vrzgulová, L. Vrzgula, J. Bíreš

University of Veterinary Medicine, Košice, Slovak Republic

ABSTRACT: The aim of this work was to experimentally evaluate the effect of feeding industrial emissions from a copper-producing plant upon Cu accumulation in the testes of six Merino breeding rams. In the experimental animals (4) the daily copper intake from the exhalations was 15 mg/kg l.w. Administration was continued until the haemolytic crisis appeared (on day 42 in one animal and on day 50 of the experiment in the other animals). The tissue of the testes was examined by both optic and electron microscopy. The patho-anatomical picture of the organs was characterized by general icterus which was also evident on the sectional surfaces of the testes. In the right and left testis of the experimental animals Cu levels were found that were twice higher than those of the controls (Tab. IV). The toxic effect of copper became evident by the destruction of all developmental stages of germinative cells mainly by that the integrity of the cell membranes was damaged thus resulting in a gradual release of the germinative cells, into the tubular lumen. In extreme cases the tubules were lined with nuclei only and the residual cytoplasm of Sertoli cells (Sertoli cells – only syndrome). Ruptures of the cytoplasmic membranes were also observed on the Leydig cells. Thickening of the tubular *lamina propria* was caused by homogenization and enormous invagination of the lamellar layer, which was rather predominant on the periphery of the organ (Fig. 2). In the deeper layers of the testes reduction of the cellular and non-cellular layers of the tubular walls occurred which frequently resulted in the rupture of the basement membrane. In this way spermatogonia and Sertoli cells became parts of the interstitium. In addition to interstitial cells the intertubular space also contained erythrocytes that floated through the damaged wall of the blood capillaries. The finding proves heavy injury to the haemotesticular barrier with consequent stagnation of spermiogenesis up to gradual involution of the tubules. The injuries to the germinative epithelium found are of an irreversible nature and can participate to an important extent in the decrease in the reproduction percentage of sheep on the farm in the vicinity of the copper-producing plant.

breeding rams; experimental intoxication; copper; testes

ABSTRAKT: Cieľom práce bolo v experimente posúdiť u šiestich plemenných baranov plemena merino vplyv skrmovania priemyselnej emisie zo závodu na výrobu medi na kumuláciu Cu v semenníkoch. U pokusných zvierat (4) denný príjem medi z exhalátu bol 15 mg na 1 kg živej hmotnosti. Podávanie trvalo do objavenia sa hemolytickej krízy, (u jedného na 42. a u ostatných na 50. deň pokusu). Tkanivo zo semenníkov sa posudzovalo metódami optickej i elektrónovej mikroskopie. Patologicko-anatomický obraz orgánov bol charakterizovaný generalizovaným ikterom, ktorý bol evidentný i na rezných plochách semenníkov. V pravom i ľavom semenníku pokusných zvierat boli vyššie množstvá Cu ako u kontrolných. Toxický účinok medi sa prejavuje deštrukciou všetkých vývojových štádií zárodočných buniek predovšetkým tým, že sa poškodzuje celistvosť bunčných membrán, čo má za následok postupné uvoľňovanie zárodočných buniek do lúmenu kanálikov. V extrémnych prípadoch boli kanáliky lemované len jadrami a zbytkovou cytoplazmou Sertoliho buniek (Sertoli cells - only syndrome). Ruptúry cytoplazmatických membrán boli zaznamenané i na Leydigových bunkách. Menila sa štruktúra kanálikových stien. Zhrubnutie *lamina propria* kanálikov bolo spôsobené homogenizáciou a enormnou invagináciou lamelárnej vrstvy, čo dominovalo viac na periférii orgánu. V hlbších vrstvách semenníkov dochádzalo k redukcii bunčných i nebunčných vrstiev stien kanálikov, ktoré často spôsobovali i ruptúru bazálnej membrány, čím sa stávali spermatogónie a Sertoliho bunky súčasťou interstícia. Okrem intersticiálnych buniek intertubulárny priestor obsahoval aj erytrocyty, ktoré sa vyplavovali cez poškodenú stenu krvných kapilár. Nález svedčí o ťažkom poškodení hemotestikulárnej bariéry s následnou stagnáciou spermiogenézy až postupnou involúciou kanálikov. Zistené poškodenia germinatívneho epitelu, mali irreverzibilný charakter a mohli sa významne podieľať na znížení percenta reprodukcie oviec v chove v blízkosti závodu na výrobu medi.

plemenní barani; experimentálna intoxikácia; meď; semenníky

Vplyv priemyselných emisií s obsahom ťažkých kovov na zdravotný stav zvierat je determinovaný ich kvalitatívnym zastúpením, zdrojom, množstvom, dĺžkou kontaminácie a druhom zvierat. Pre druhovú citlivosť k Cu sú v oblastiach závodov na výrobu medi najviac postihnuté ovce. Prvý výskyt priemyselnej intoxikácie meďou zaznamenal v jednom chove Vrzgula a i. (1986). Podrobne popísali výskyt, kliniku, patológiu, biochemický profil krvi, orgánov, krmiva i pôdy. Bola rozpracovaná a aplikovaná aj liečba (Vrzgula a i., 1987). Kuprikóza u oviec bola vyvolaná aj experimentálne, emisiou zo závodu na výrobu medi (Vrzgula a i., 1988).

V chove oviec v blízkosti závodu na výrobu medi boli zaznamenané značné ekonomické straty. Produkcia vlny bola podpriemerná; výroba syra v dôsledku nízkej mliečnej produkcie neekonomická. Často sa rodili mŕtve plody, resp. retardované jahňatá s častými malformáciami. Ekonomicky neúnosné boli aj priame straty hynutím postihnutých oviec. Zvlášť nízka bola aj plodnosť bahnic, ktorá sa pohybovala od 56 do 74 %. Do akej miery sa na znížení plodnosti oviec mohli podieľať aj zmeny na reprodukčnom aparáte baranov a zistiť ich morfológický obraz je predmetom tejto práce.

I. Denný príjem Cu v mg z priemyselnej emisie – Daily Cu intake in mg from industrial emissions

Označenie zvierat ¹	Živá hmotnosť ² (kg)	Príjem Cu ³ (mg)	Príjem exhalátu ⁴ (g)
1	49	735	4,45
2	76	1 140	6,91
3	65	870	5,27
4	56	885	5,36

¹animal no., ²live weight, ³Cu intake, ⁴exhalation intake

II. Denný príjem Cu z krmiva – Daily Cu intake from feed

Krmivo ¹	Spotreba na deň ⁶	Príjem Cu ⁷ (mg)
Lúčne seno ²	2 kg	18,5
Kŕmna zmes BAK ³	0,50	11,95
Voda ⁴	6 l	14,16
Spolu ⁵		44,61

¹feed, ²meadow hay, ³BAK feed mixture, ⁴water, ⁵total, ⁶consumption per day, ⁷Cu intake

III. Denný príjem z emisie a krmiva (mg/kus) – Daily intake from emissions and feed (mg/head)

Označenie zvierat ¹	Príjem Cu ²
1	779,61
2	1 184,61
3	914,61
4	929,61

¹animal no., ²Cu intake

K experimentu sme použili šesť plemenných baranov vo veku 4,5 až 5,5 rokov, plemeno merino, ž. h. 66,16 ± 13,18 kg. Pokusné zvieratá (4 ks) dostávali denne po rannom nakŕmení naliatím s 0,5 l vody exhalát zo závodu na výrobu medi. Denný príjem Cu z exhalátu u pokusných baranov uvádza tab. I.

Kŕmenie a ošetrovanie pokusnej a kontrolnej skupiny (2 ks) bolo rovnaké. Kŕmna dávka pozostávala z lúčneho sena, melasy a vody. Denný príjem Cu z krmiva u obidvoch skupín zvierat je zaznamenaný v tab. II.

Celkový príjem Cu z emisie a krmiva u pokusných baranov je uvedený v tab. III.

Denný príjem Cu z priemyselnej emisie predstavoval u pokusných baranov 15 mg Cu na kg živej hmotnosti. Nástup toxickej fázy intoxikácie meďou sa u prvého barana pozoroval na 42. deň, u ostatných baranov na 50. deň experimentu. Podávanie exhalátu trvalo až po objavenie sa hemolytickej krízy, ako ju pri spontánnej intoxikácii v chove oviec v blízkosti závodu na výrobu medi uvádza Vrzgula a i. (1986).

Materiál sa získaval pri eutanázii zvierat tak, že sa excízie odoberali z povrchu aj z hlbších vrstiev semenníkov. Takto odoberatý materiál sa spracoval pre histologické a submikroskopické sledovanie. Pre mikroskopické štúdium sa vzorky semenníkov fixovali v Susovom roztoku. Histologické rezy sa farbili hematoxilín-eosínom.

Excízie zo semenníkov pre posúdenie submikroskopických zmien na elektrónovom mikroskope JEOL 1200 sa vkladali do dvoch fixačných roztokov: 1% osmium tetroxid (OsO₄) vo fosfátovom pufrí pH 7,3 podľa Milloniga (2 h) a do 3% glutaraldehydu (3 h), s postfixáciou 2% OsO₄ vo fosfátovom pufrí pri pH 7,4 (1 h). Fixované častice tkaniva sa ďalej odvodňovali v stúpajúcej rade alkoholov a zalievali sa do Durcupanu. Po spolymerizovaní pri teplote 60 °C sa zhotovovali sklenenými nožmi ultratenké rezy na ultramikrotóme Tesla BS 490A. Kontrastovanie rezov sa robilo dvojfázovo uranyl-acetátom a citrátom olova (Reynolds, 1963). Rezy sa prehliadali elektrónovým mikroskopom Jeol 1200.

Pre rastrovací elektrónový mikroskop sa odoberali ďalšie excízie tkaniva, fixovali a spracovali podľa metódy autorov Mráz a Polónyi (1988). Vzorky sa potom sušili metódou kritického bodu (CPDO 20 Balzers) a pokovovali zlatom. Prehliadali sa rastrovacím elektrónovým mikroskopom Tesla BS 300, prevažne však na REM Jeol 1200.

Okrem toho bol sledovaný aj vplyv experimentálneho kŕmovania emisie na kumuláciu Cu v krvnom sére, pečeni, semenníkoch, ejakuláte a výsledky boli už zverejnené (G amčík a i., 1990, 1990a).

VÝSLEDKY

Patologicko-anatomický nález bol charakterizovaný generalizovaným ikterom, dystrofiou pečene a hemosi-

derózou obličiek. Výrazné ikterické sfarbenie vykazovali aj obaly semenníkov, *lamina parietalis tunicae vaginalis* voľne prikrývala povrch orgánu. Neboli zistené zrasty s epiorchiom. Pri pohmate tkanivo semenníka malo mäkkšiu konzistenciu. Ikterické sfarbenie javili všetky rezné plochy parenchýmom semenníka.

HISTOLOGICKÝ A SUBMIKROSKOPICKÝ NÁLEZ

Periférnejšie uložené semenotvorné kanáliky v tesnom kontakte s *tunica albuginea* ukázali stagnovanú spermiogézu. Lúmen kanálikov bol úplne, alebo čiastočne vyplnený vývojovými štádiami zárodočných buniek (obr. 1). Nezriedka bola zaznamenaná od periférie kanálikov cirkulárna dislokácia semenotvorného parenchýmu tak, že s vnútornou stenou *lamina propria* kanálikov kontaktovali len sporadicky spermatogónie a jadrá Sertoliho buniek. Zárodočné bunky podliehajú degeneratívnym zmenám s deštrukciou až cytolýzou. Nezrelé vývojové štádiá vyplňovali lúmen kanálikov.

Stena semenotvorných kanálikov bola zhrubnutá jednak v dôsledku multiplikácie lamelárnej vrstvy bazálnej membrány, ako aj čiastočnou dislokáciou jednotlivých vrstiev kanálikovej steny, čo je evidentné vo svetle elektrónmikroskopických náleзов. V extrémnych prípadoch po redukcii bunčných i nebunčných vrstiev *lamina propria* sú pôvodné kanáliky periférne lemované len lamelárnou vrstvou bazálnej membrány, ktorá svojou stavbou vykazuje enormne nepravidelný priebeh tvoriac bizarnú štruktúru. Jednotlivé lamely, sú málo kontrastné a je výrazná ich homogenizácia. Lamelárna vrstva vytvára smerom do vnútra kanálikov rôzne invaginácie, ktoré na reze sú zachytené v inkarcovanej podobe, tvoriac tak samostatnú štruktúru vo vnútri cytoplazmy Sertoliho buniek (obr. 2).

Intertubulárny priestor predovšetkým na periférii orgánu je nápadný hyperplaziou intersticiálnych buniek, ktoré zahŕňujú rôzne štádiá vývojových typov ako fibrocely, fibroblasty, až po Leydigove bunky, ktoré boli často s ruptúrou cytoplazmatickej membrány.

V excíziách hlbších vrstiev semenotvorného parenchýmu vyšetrených svetelnou mikroskopiou dominovali kanáliky čiastočne, alebo úplne evakuované, lemované z periférie len jednou bunčnou vrstvou, prípadne zbytkami zárodočných buniek, (spermatogónie, spermiocyty, spermatidy), ktoré formovali nepravidelné bunkové asociácie. Kanáliky s takto blokovanou spermiogézou, resp. kanáliky prezentované úplnou evakuáciou zárodočných buniek naznačujú postupnú stagnáciu spermiogézy. Opísané semenotvorné kanáliky s úplnou stratou bunčných zložiek boli v bezprostrednom susedstve kanálikov, ktoré ešte obsahovali všetky vývojové štádiá germinatívneho epitelu a v centrálnějších polohách aj spermie ktorých bičiky boli nasmerované do lúmenu kanálikov.

Morfologická štruktúra kanálikovej steny, ktorá tvorí mikroskelet zárodočných buniek je za fyziologických podmienok garantom fungujúcej haemotestikulárnej

filtračnej membrány medzi germinatívnym epitelom a krvným riečišťom. Ako bolo uvedené predtým, submikroskopický nález sledovaných vzoriek semenníkov ukázal markantné zmeny v skladbe tejto citlivej štruktúry. Zmeny vykazovala lamelárna vrstva, ako aj bunčné a nebunčné vrstvy, ktoré postupne strácali integritu. Vrstvy *lamina propria* kanálikových stien sa následne redukovali, alebo miestami až vytrácali. Množstvo kolagenných vlákien medzi bunčnými vrstvami kanálikových stien neukázalo výraznejšie zmnoženie.

Submikroskopický nález potvrdil skutočnosť, že toxický účinok medi sa prejavuje atakovaním membránových štruktúr buniek a ich intracytoplazmatických zložiek. V periférnej zóne kanálikov, v mieste lokalizácie jadier Sertoliho buniek, a v mieste spermatogónií vznikali vakuoly väčších rozmerov, ktoré dislokovali a vzájomne separovali tieto bunky, čím sa následne porušovalo i *syncytium* Sertoliho buniek. Dochádzalo často k ruptúre plasmalemy spermatogónií, ktoré obsahovali len zbytky cytoplazmy, s dobre definovateľným jadrom.

Centrálnějšíe uložené spermiocyty vykazovali vakuolizáciu cytoplazmy, zvrášovanie jadier, ako i zmeny na subcelulárnej úrovni. Tieto sa vyznačovali poškodením vnútornej skladby mitochondrií vedúce až k vytrácaniu mitochondriálnych krist. Pokiaľ sa spermiocyty našli bližšie k lúmenu kanálikov často mali poškodenú resp. prerušenú bunčnú membránu.

Toxický účinok medi zachytil spermatidy na rôznom stupni spermiogénogenézy. Spermatidy v štádiu zrenia (obr. 3) sa manifestovali v submikroskopickom obraze poškodením plasmalemy, napučiavaním mitochondrií, v extrémnych prípadoch aj ruptúrou akrozómového váčika a deformáciou jadra. Spermatidy vyšších štádií metamorfózy boli spravidla homogenizované, cytoplazmatická membrána miestami bola prerušená. Skupina spermií a ich poškodenie charakterizuje obr. 4 zhotovený rastrovacím mikroskopom. Na spermiách možno definovať široký rozptyl malformačných zmien na strane bičika (torzia, chýbanie mitochondriálnej časti, zdvojenie bičika), ako i poškodenie resp. deformáciu apikálneho konca spermií.

Napriek všeobecnej odolnosti Sertoliho buniek k poškodeniu rôznej etiológie, je možno konštatovať labilnosť Sertoliho buniek k toxickému účinku medi. Vakuolizácia cytoplazmy Sertoliho buniek bola často zaznamenaná pozdĺž lamelárnej vrstvy *lamina propria* na periférii kanáliku. Boli pozorované ruptúry granulárneho endoplazmatického retikula, ktoré pozdĺžne posúvali obsah Sertoliho bunky smerom od periférie, čím sa prerušoval kontakt bunky s bazálnou membránou. Táto dislokácia cytoplazmy podporných buniek signalizuje to, že príťahlý semenotvorný parenchým sa časom stane súčasťou eliminovaného obsahu kanáliku. Súčasťou cytoplazmy Sertoliho buniek bolo veľké množstvo rôzne transformovaných lyzozómov, poškodené mitochondrie. Možno konštatovať, že v cytoplazme Sertoliho buniek boli lipidy málo zastúpené.

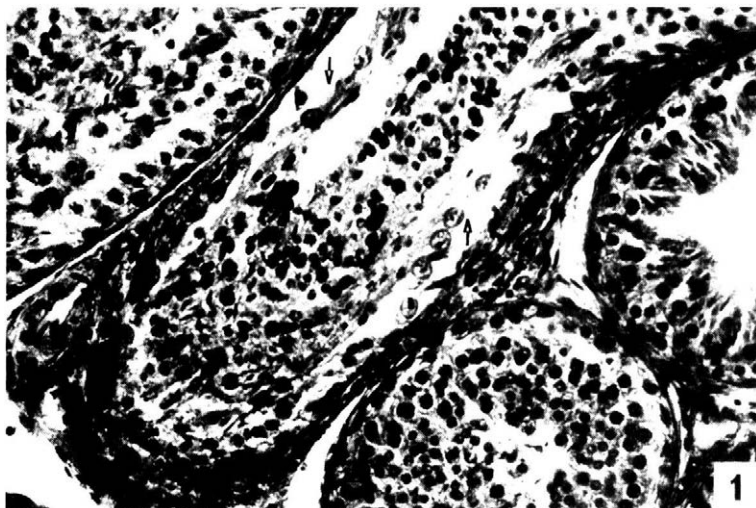
DISKUSIA

Prvé informácie morfológického charakteru o toxickom účinku z nadmerného prívodu medi na gonádu samcov boli zaznamenané v prácach Vrzgulová a i. (1990). Vrzgulová a i. (1990, 1993) a Vrzgulová (1993).

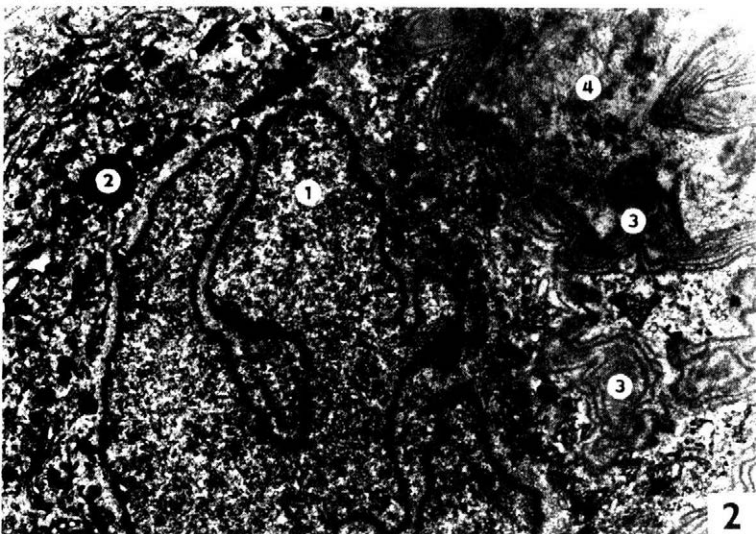
Získané nálezy porovnávame s citovanou literatúrou pri spontánnych intoxikáciách z terénnej praxe, ako aj s výsledkami štúdií pri experimentálnej intoxikácii oxidom meďnatým z tej istej emisie, ktoré boli zverejnené v práci Gamčík a i. (1990). Bezprostredné porovnanie so skupinou kontrolných baranov (2 kusy) ukázalo v obidvoch semenníkoch vyššie množstvá Cu oproti kontrole. Meranie sa udáva v mg na kg sušiny (tab. IV). Histologický profil semenotvorného paren-

chýmu u kontrolných zvierat bol vo fyziologickej norme a zodpovedá veku plemenných zvierat.

Podľa Gamčík a i. (1990) najvyššie zmeny v ejakuláte u pokusných zvierat boli na 50. deň pokusov, kedy sa znižovalo percento aktívnych spermií (45 % oproti kontrole 80–70 %), klesala koncentrácia spermií a bolo evidentné zvýšenie percenta malformovaných spermií (39,3–41,7 % oproti kontrole 18,3–17,5 %) s vyšším podielom primárnych zmien spermií. Autori posudzujú mechanizmus toxického pôsobenia Cu tak, že najskôr sa porušuje kvalita ejakulátu toxickým účinkom na semennú plazmu, čoho prejavom bol pokles percenta aktívnych spermií a naopak zvýšením percenta malformovaných spermií, čo je priamym dôsledkom poškodenia germinatívnej zložky gonád.



1. Histologický obraz semenníka barana po experimentálnej intoxikácii meďou; vrstva z periferie orgánu (kanálik uprostred); posun zárodočných buniek nižších vývojových štádií do lúmenu kanáliku (šípky); zhrubnutá stena kanáliku; farbenie: haematoxylin-eosin; zväčš. 80x – Histological picture of the testis of a breeding ram after experimental poisoning with copper; a layer from the periphery of the organ (the tubule is in the middle); release of the germ cells of lower developmental stages into the tubular lumen (arrows); thickening of the tubular wall. Staining: hematoxylin-eosine; enlarged 80x

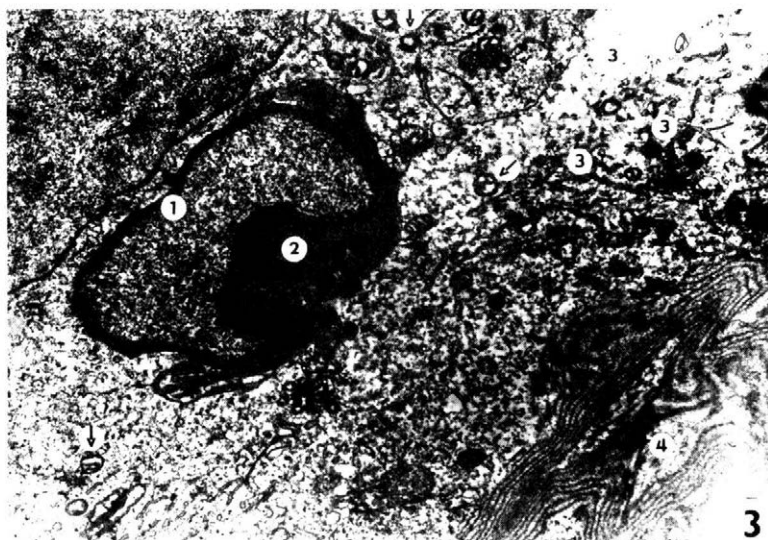


2. Elektronogram časti periferie kanáliku s prirahlou cytoplazmou Sertoliho bunky; 1 – jadro Sertoliho bunky; 2 – lyzozóm; 3 – lamelárna vrstva lamina propria tvorí invaginácie, čiastočne inkarcované do cytoplazmy Sertoliho bunky; 4 – periférnejšia nebunecná vrstva kanálikovej steny so zbytkami kolagenných vlákien; zväčš. 6 000x – Electronogram of a part of the tubular periphery with the residual cytoplasm of Sertoli cell; 1 – nucleus of Sertoli cell; 2 – lysosome; 3 – lamellar layer of the lamina propria forms invaginations, partially incarcerated in the cytoplasm of Sertoli cell; 4 – more peripheral noncellular layer of the tubular wall with residues of collagenic fibers; enlarged 6,000x

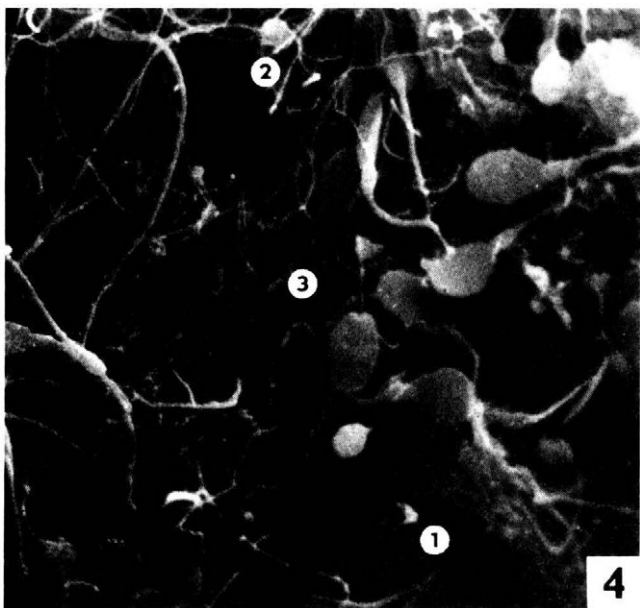
V sledovanej skupine experimentálnych zvierat (zhodne s citovanou prácou G a m ě ř k a i., 1990) histologický a submikroskopický profil semenotvorného epitelu bol posudzovaný v toxickej fáze onemocnenia t.j. na 42. resp. na 50. deň pokusov (3 ks).

Zaznamenal sa rozdielny histologický obraz podľa miesta odberu tkaniva. V periférii orgánu ukázali kaná-

liky zhrubnutú *lamina propria* v dôsledku homogenizácie, ako aj multiplikácie lamelárnej vrstvy. Kanáliky boli vyplnené zárodočnými bunkami s postupným náznakom hromadného posunu buniek do centra kanálikov. Germinatívny epitel sa dislokoval od periférie kanálika, nechávajúc v kontakte so stenou kanálika nepravidelné spermatogónie, ako i jadrá Sertoliho buniek.



3. Elektronogram zachytáva deštruovanú spermatidu (1) v periférnej zóne cytoplazmy Sertoliho bunky; akrozómové granulum vklínené do jadra bunky (2); cytoplazma Sertoliho bunky s mitochondriami s vymiznutými kristami (šípky); endoplazmatické retikulum (3) rozpadnuté s následnou tvorbou prázdnych priestorov; na periférii zachytená lamelárna vrstva kanálikovej steny s multiplikáciou a homogenizáciou lamiel (4); zväčš. 5 000x – Electronogram shows a destroyed spermatid (1) in the peripheral zone of the cytoplasm of Sertoli cell; acrosome granule inserted into the cell nucleus (2); cytoplasm of Sertoli cell with mitochondria with disappeared cristae (arrows); disintegrated endoplasmatic reticulum (3) with subsequent formation of vacant spaces; on the periphery intercepted lamellar layer of the tubular wall with lamella multiplication and homogenization (4); enlarged 5,000x



4. Detail z lúmenu kanálika (REM). Anizocytóza a porušenie vývoja bičkov spermií; 1 – deformácia apikálneho konca spermie; 2 – zdvojenie bičika; 3 – chýbanie mitochondriálnej časti bičika; zväčš. 2 600x – A detail view of the tubular lumen (REM). Anisocytosis and destruction of development of spermatozoon flagella; 1 – deformation of the apical end of the spermatozoon; 2 – double flagellum; 3 – mitochondrial part of the flagellum is missing; enlarged 2,600x

Označenie zvierat ¹	Pokus ²		Označenie zvierat ¹	Kontrola ⁵	
	ľavý semenník ³	pravý semenník ⁴		ľavý semenník ³	pravý semenník ⁴
1	101,4	101,4	5	75,0	68,7
2	81,2	75,0	6	62,5	50,9
3	114,6	141,5			
4	87,5	87,5			

¹animal no., ²experiment, ³left testis, ⁴right testis, ⁵control

Intertubulárny priestor v periférii gonád sa vyznačoval hyperplaziou intersticiálnych buniek, ktoré vyplňovali priestor medzi kanálíkmi.

Podľa nálezov z hlbších vrstiev, kde prevažovali viac kanáliky vyprázdnené možno usudzovať, že tieto sa evakuujú predovšetkým tým, že medz predominantne toxicky poškodzuje bunecné membrány. Táto skutočnosť má za následok ruptúru bunecných membrán, uvoľnenie kontaktu medzi zárodočnými bunkami a Sertolliho bunkami čím dochádza k pozvoľnému vyplavovaniu obsahu kanálikov do extratestikulárneho systému.

Pri komparácii výsledkov z prezentovanej skupiny experimentálnych zvierat, ako aj výsledkov zo štúdií semenníkov plemenných baranov pri spontánnej intoxikácii v teréne (Vrzgulová, 1993; Vrzgulová a i., 1993) jednoznačne možno konštatovať, že poškodenie spermiogenézy je podobne irreverzibilného charakteru s tým rozdielom, že rozsah poškodenia sementovných kanálikov, stupeň poškodenia zárodočných buniek všetkých vývojových štádií, ako i buniek interstícia má rozsiahlejší charakter u baranov z postihnutého chovu. Dá sa to odôvodniť dĺžkou dotovania zvierat toxickým prvkom až do objavenia sa klinických príznakov, tzv. hemolytickej krízy. Tieto symptómy nastupujú u zvierat v terénnych podmienkach až po niekoľkých mesiacoch resp. rokoch. Dotovanie toxickým prvkom na gonádu je prolongované, čo podmieňuje opísaný efekt všeobecného zániku spermiogenézy (Vrzgulová a i., 1993).

U pokusných zvierat je toxický účinok medi pravidelný a kontinuálny čoho následkom bolo aj skoršie objavenie sa klinických príznakov (50. resp. 42. deň). Tento časový interval spôsobil, že sa deštruktívne zmeny na parenchýme semenníkov prejavili síce podobne, ale s menšou intenzitou. Toxický účinok medi zastihol bunecné asociácie v kanálikoch v rôznych cykloch sementovného epitelu. Zmeny dokumentujú postupnú stagnáciu spermiogenézy s následným vyplavovaním

zložiek germinatívneho epitelu do lúmenu kanálikov. Možno vysloviť presvedčenie v prípade, že by zvieratá nehynuli za klinických príznakov funkčných porúch ostatných orgánov, že ostáva len otázkou času, kedy by zmeny v parenchýme gonád nadobudli pantestikulárny charakter s definitívnym zánikom spermiogenézy.

Dá sa predpokladať, že zistené zmeny na reprodukčnom orgáne plemenných baranov mohli sa teda významnou mierou podieľať na nízkom percente plodnosti oviec v exponovanej priemyselnej oblasti na výrobu medi.

LITERATÚRA

- GAMČÍK, P. – BÍREŠ, J. – VRZGULA, L. – MESÁROŠ, P.: Effect of experimental intoxication with copper from industrial emissions on reproductive ability in rams. *Reprod. Dom. Anim.*, 25, 1990: 235–241.
- GAMČÍK, P. – MESÁROŠ, P. – BÍREŠ, J. – VRZGULA, L.: Výskum niektorých faktorov ovplyvňujúcich plodnosť pri riadenej reprodukcií hospodárskych zvierat. [Dielčia správa čiastkovej úlohy.] Košice, Vysoká škola veterinárna 1990a. 59 s.
- MRÁZ, P. – POLÓNYI, J.: Metódy elektrónovej mikroskopie živočíšnych tkanív. Bratislava, Veda SAV 1988: 309.
- REYNOLDS, E. S.: The use of lead citrate at high pH as an electron opaque stain for electron microscopy. *J. Cell. Biol.*, 17, 1963: 208–212.
- VRZGULA, L. – BÍREŠ, J. – JENČÍK, F.: Koncentrácia Cu, Fe a Zn v pôde, krmivách a biologickom materiáli oviec v oblasti závodu na výrobu medi. *Poľnohospodárstvo*, 32, 1986: 918–926.
- VRZGULA, L. – BÍREŠ, J. – JENČÍK, F.: Síran sodný a molybden amónny v liečbe intoxikácie medou. *Živoč. Výr.*, 32, 1987: 415–421.
- VRZGULA, L. – BÍREŠ, J. – SITKO, M. – DIANOVSKÝ, J.: Experimentálne vyvolaná intoxikácia medou u oviec priemyselným exhalátom zo závodu na výrobu medi. [Záverečná správa.] Košice, Vysoká škola veterinárna 1988. 59 s.
- VRZGULOVÁ, M.: Histological and submicroscopical findings on the seminiferous parenchyma in rams after copper oxide intoxication from industrial emissions. *Funct. Develop. Morphol.*, 3, 1993: 115–119.
- VRZGULOVÁ, M. – VRZGULA, L. – BÍREŠ, J.: Vplyv intoxikácie medou z priemyselnej emisie na pohlavnú žľazu baranov. [Záverečná správa.] Košice, Vysoká škola veterinárna 1990. 52 s.
- VRZGULOVÁ, M. – VRZGULA, L. – BÍREŠ, J.: The effect of copper from industrial emissions on the seminiferous epithelium in rams. *Reprod. Dom. Anim.*, 28, 1993: 108–118.

Došlo 8. 7. 1994

Kontaktná adresa:

Doc. MVDr. Marianna Vrzgulová, DrSc., Univerzita veterinárskeho lekárstva, Komenského 73, 041 81 Košice, Slovenská republika
Tel. 095/321 11–5, fax 095/318 53

POSSIBLE WAYS OF AFFECTING BIOGENIC AMINE CONTENT IN SILAGES

MOŽNOSTI OVlivNĚNÍ OBSAHU BIOGENNÍCH AMINŮ V SILÁŽÍCH

M. Křížek

University of South Bohemia, Faculty of Agriculture, České Budějovice, Czech Republic

ABSTRACT: During silage making partial protein decomposition to peptides and amino acids is likely to occur. In the case of imperfect silage preservation these acids are further decomposed to volatile fatty acids and biogenic amines. With respect to amino acid composition of plant proteins, putrescine, cadaverine, histamine, tyramine and tryptamine are the most common amines observed. These substances exercise a negative influence on health and physical condition of livestock. A synergic effect of amines and other substances leads to decreased rumen motility. Amines have a deleterious influence on ruminal and intestinal mucous membranes. Amine detoxication causes liver and kidney damage. Negative physiological effects of biogenic amines together with their bad affecting of silage palatability result in depression of livestock performance. The influence of plant age, silage age and way of preservation on silage amine content was observed in oat silages made from plants supplied with fertilizers containing nitrogen, phosphorus and potassium. The concentration of amines in silages of good quality did not usually exceed 0.1%, in poor quality silages their percent concentration exceeded 0.1% of fresh silage. Biogenic amine concentration in silages can be reduced by maintaining the anaerobic conditions during silage making and storage. Very important is also elevated dry matter content in plants ensiled. The amine content is affected to a lesser extent by the age of silage and especially by the way of plant fertilization.

biogenic amines; toxicity; livestock; putrescine; cadaverine; histamine; tyramine; silage

ABSTRAKT: Při kvasných procesech dochází v siláži k částečnému rozkladu bílkovin na peptidy a aminokyseliny. Deaminací aminokyselin vznikají těkavé mastné kyseliny, dekarboxylace aminokyselin poskytuje tzv. biogenní aminy. Vzhledem k aminokyselinovému složení rostlinných bílkovin jsou v silážích nejhojněji zastoupeny putrescín, kadaverin, histamin, tyramin a tryptamin. Tyto látky v součinnosti s jinými složkami siláže vyvolávají útlum pohybu bachu, samy pak poškozují sliznici bachu a střev. Jejich nepříznivé fyziologické účinky spolu s negativním vlivem na chuť siláže se odrážejí ve snížení užitkovosti hospodářských zvířat. Na ovesných silážích z píce intenzivně hnojené dusíkem, fosforem a draslíkem byl ověřován vliv stáří pícniny, stáří siláže a způsobu hnojení pícniny na výsledný obsah biogenních aminů v siláži. V kvalitních silážích obsah biogenních aminů nepřesahoval desetiny hmotnostního procenta, v méně kvalitních byl zpravidla vyšší než 0,1 % čerstvé hmoty. Prvořadě je pro snížení obsahu nežádoucích aminů v siláži zachování anaerobních podmínek při silážním kvašení. Významný vliv má též vyšší obsah sušiny silážované píce při pokročilejší vegetační fázi rostliny. Méně je obsah aminů v siláži ovlivněn jejím stářím. Běžné způsoby hnojení mají na obsah aminů v siláži zanedbatelný vliv.

biogenní aminy; toxicita; hospodářská zvířata; putrescín; kadaverin; histamin; tyramin; siláž

ÚVOD

Přes velké množství poznatků v oblasti konzervace píce zůstává otázkou předvídatelnosti výsledku silážního procesu do značné míry otevřená. Je to způsobeno vysokým počtem obtížně postižitelných faktorů, ovlivňujících celý tento děj.

Skupinu tzv. biogenních aminů lze zařadit mezi přirozené antinutriční složky krmiv. Jedná se zejména o putrescín, kadaverin, histamin, tryptamin a tyramin.

Problematiku jejich výskytu v silážích do současné doby studovalo jen nemnoho pracovníků. K sledování biogenních aminů v konzervované píce mohou být, podobně jako v lidské výživě, dva obdobné hlavní důvody. Veterinární výzkum toxicity biogenních aminů není

dosud dořešen a rizikovost těchto látek pro hospodářská zvířata je nesporná.

Druhým důvodem je skutečnost, že stanovení biogenních aminů v silážích může sloužit též jako zdroj doplňující informace o jakosti konzervované píce.

Vliv aminů na zdravotní stav zvířat

Názor na otázku jedovatosti biogenních aminů prošel v historii jistým vývojem. V minulém a na začátku tohoto století byla aminům přisuzována velmi vysoká toxicita a bývaly označovány názvem ptomainy – mrtvolné jedy. Se zdokonalováním izolačních postupů bylo prokázáno, že u čistých preparátů těchto látek, zvláště

tě při perorální intoxikaci, je riziko otravy oproti starším předpokladům nižší.

Za nejedovatější se považují aromatické aminy, histamin a tyramin. Diaminy – putrescin a kadaverin jsou méně nebezpečné, avšak též méně prozkoumané.

V trávicím ústrojí jsou aminy odbourávány enzymy monoaminoxidázou a diaminoxidázou. Při perorálním podání aminů je míra ohrožení dána okamžitou kondicí organismu, zejména však geneticky podmíněnou koncentrací těchto enzymů v trávicím ústrojí. Tím lze vysvětlit, proč bývají uváděny často i velmi odlišné toxické perorální dávky aminů a proč je naopak celkem jasno v případech intravenózních aplikací.

Z pochopitelných důvodů jsou aminy lépe prozkoumány z pohledu humánní toxikologie, než veterinární.

V odborné veterinární a zemědělské literatuře se informace o aminech objevují nepříliš četně, avšak vytvářejí.

Koncem šedesátých let se Neumark a Tadmor (1968) zabývají problematikou histaminu v silážích. V pokusu s kanylovanými berany prokázali synergiismus účinku histaminu a kyseliny mravenčí při útlumu pohybu bacheru.

Před zdravotními riziky souvisejícími s konzumací siláží bohatých na aminy varují Bokori aj. (1984). Zejména při konzervaci píce znečištěné zeminou vznikají takovéto siláže. Aminy lokálně poškozují sliznici bacheru a mají negativní vliv na bacherovou mikroflóru. Jejich detoxikace zatěžuje játra i ledviny.

Na nepříznivý vliv aminů na sliznici žaludku a střev upozorňuje též Krynski (1988). V důsledku expozice aminům stává se stěna střev prostupnou pro nestrávené živiny i škodliviny z tráveniny, do trávicího ústrojí se naopak dostává krev, jež je vhodnou půdou pro rozvoj nežádoucích bakterií vyvolávajících chronický zánět.

V rozsáhlém krmeném experimentu na 16 kravách vyzkoušeli Lingaas a Tveit (1992) účinky přídatku 100 g putrescinu, 200 g kyseliny máslé a 200 g kyseliny valerové do krmené dávky. Příslušné látky byly podány vždy po krmení formou orálního aplikátoru přímo do bacheru. K nejzávažnějším změnám došlo u skupiny zvířat jimž byl podáván putrescin. Příjem sušiny poklesl o 15 %, doživost o 20 %. Hladina ketolátek v krvi těchto zvířat vzrostla.

V jiném, velmi rozsáhlém šestiletém pokusu zaměřeném na zjišťování původu acetonemie u skotu se Tveit aj. (1992) soustředili též na otázku toxicity biogenních aminů. V bacherové tekutině zjistili vysokou korelaci mezi obsahy tryptaminu, putrescinu a kadaverinu, nikoliv však korelaci mezi aminy a těkavými mastnými kyselinami a kupodivu ani mezi aminy a čpavkovým dusíkem. Obsah bacherových aminů narůstal od třetího do sedmého dne od začátku podávání nekvalitní siláže. Možný toxický efekt je dle autorů zvláště prodlouženým podáváním siláže bohaté na aminy. Tyramin má nepříznivý vliv na bacherové epithelové buňky, histamin vyvolává odlupování intestinálního epitelu u ovcí.

Výzkum aminů v silážích však není podmíněn pouze obavou z jejich jedovatosti. Svůj význam má též hledání souvislosti mezi obsahem aminů a chutností siláže s níž je spojena užitkovost zvířete. Základy pro tento výzkum položili Neumark aj. (1964), kteří rozdělili siláže ze zeleného ovsa, vikve, cukrovky a řepných skrojek podle chutnosti a poté v nich stanovili aminy. Nalezli korelaci mezi obsahem tryptaminu a chutností.

Hole (1985) srovnával příjem siláží připravených z lipnice luční a bojínku lučního. Ovce i dojnice přednostně přijímaly siláže s nízkým obsahem aminů, jejichž tvorbu dává autor do souvislosti s tlumivou kapacitou píce. Lipnicové siláže s větší tlumivou kapacitou obsahovaly podle očekávání více aminů.

Buchanan-Smith a Phillip (1986) zkoumali vliv intraruminálních infuzí isoosmotických roztoků NaCl, organických kyselin, extraktu vojteškově siláže a aminů na příjem potravy ovcemi. Došli k závěru, že žádná z testovaných látek dodaná samostatně do bacheru neovlivňovala příjem potravy. Ve směsi však organické kyseliny a aminy příjem krmiva snížily. Autoři předpokládají, že amoniak a aminy stimulují sekreci gastrinu v žaludku ovce, jenž pak může další příjem krmiva brzdít.

Co se obsahu histaminu týče, zdá se, že též snižuje chutnost, zejména v součinnosti s konzervantem formaldehydem. U siláží konzervovaných kyselinou mravenčí dochází rovněž, zřejmě v důsledku synergie s histaminem, ke snížení příjmu potravy (McDonald aj., 1991).

Biogenní aminy v silážích

V méně kvalitních silážích je značný předpoklad rozvoje nežádoucích klostridií, jež přetvářejí kyselinu mléčnou na podstatně slabší kyselinu máslou. Hodnota pH siláže vzrůstá, což přispívá k rozvoji dalších nežádoucích mikroorganismů. V konečném důsledku dochází k rozsáhlé destrukci aminokyselin spojené zejména se vznikem amoniaku, oxidu uhličitého, slabých organických kyselin a aminů.

Celkový obsah biogenních aminů se pohybuje v oblasti setin hmotnostního procenta siláže u kvalitnějších vzorků, či v oblasti desetin procenta u siláží nekvalitních. V některých případech se však zvýšené hladiny obsahu aminů mohou objevit i u kvalitnějších siláží (Kalač a Křížek, 1991).

V jakostnějších silážích stanovil biogenní aminy též Hughes (1970). Aminy tvořily v průměru 9,3 % z obsahu celkového dusíku. Případy výskytu většího množství aminů v jakostnějších silážích však nejsou obvyklé. Oshima a McDonald (1978) uvádějí, že v takovýchto silážích jsou za tvorbu aminů zodpovědné některé méně obvyklé druhy laktobacilů. Převažujícími aminy v silážích jsou putrescin a kadaverin, tvořící více než 50 % celkového obsahu aminů (Křížek, 1993a).

1. Pravděpodobný denní příjem některých aminů krávo u hmotnosti 600 kg při denní konzumaci 20 kg kukuřičné siláže (Křížek aj., 1993) – Probable daily intake of some amines by the cow weighing 600 kg at daily consumption of 20 kg corn silage (Křížek et al., 1993)

Amin ¹	Průměrný příjem ⁵		Maximální příjem ⁶	
	g/den ⁷	mg/kg ž. h. ⁸	g/den ⁷	mg/kg ž. h. ⁸
Putrescin ²	9,9	16,5	27,6	46,1
Kadaverin ³	11,9	19,8	52,8	88,0
Histamin ⁴	1,24	2,07	3,08	5,13

¹amine, ²putrescine, ³cadaverine, ⁴histamine, ⁵average intake, ⁶maximum intake, ⁷g/day, ⁸mg/kg l.w.

Ani v kukuřičných silážích nemusí být obsah aminů zanedbatelný, jak se ukázalo po analýzách 54 provozních vzorků těchto siláží (tab. I) – Křížek aj. (1993).

Ukazuje se, že způsob konzervace vzorků (zavaznutí, přidavek kyseliny mravenčí) má malý vliv na poměrně složený vytvořených aminů. Přídavek kyseliny mravenčí potlačil celkovou tvorbu aminů na 23 % jejich obsahu v kontrolních silážích. Srovnatelný účinek měla úprava píce zavaznutím na 44 % obsahu sušiny. Způsob a zejména kvalita konzervačního zásahu mají rozhodující vliv na obsah aminů v siláži (Křížek, 1993a). Zcela zásadní úlohu zde sehrává obsah sušiny v silážované píci (Křížek aj., 1993). Důležité, avšak druhořadé postavení má při tvorbě aminů typ silážované pícniny. Souvislost mezi obsahem aminokyselinových prekursorů v pícnině a obsahem příslušných aminů v silážích byla v rámci druhu pícniny nalezena. Mezi druhově však nikoli, z důvodu výraznějšího vlivu účinku vlastního konzervačního zákroku na celkovou jakost siláže (Křížek, 1993a).

U většiny siláží je patrný plynulý exponenciální nárůst koncentrace aminů, kulminující v období mezi 30.–50. dnem od silážování (Vervack, 1974; Křížek, 1993b). Poté nastává zpravidla snížení obsahu těchto látek, dosahující minima kolem 100. dne. V řadě případů byl pozorován opětý vzestup koncentrace vrcholící v období mezi 200.–230. dnem od silážování. Kolísání křivek dynamik tvorby aminů je patrně způsobeno simultánními deaminačními a dekarboxylačními procesy, s následným odbouráváním vytvořených aminů. Pro jakostnější siláže byl typický vyrovnanější průběh dynamik, méně kvalitní vzorky vykazovaly vyšší fluktuaci koncentrací aminů. Popsaný průběh tvorby byl nejtypičtější pro putrescin a kadaverin, dynamiky ostatních biogenních aminů jsou hůře předvídatelné. Značně zvýšené koncentrace dvou nejtoxičtějších aminů, histaminu a zejména tyraminu, byly nalézány zejména v silážích starších více než 180 dní (Křížek, 1993b).

MATERIÁL A METODY

Experimenty byly vykonány v letech 1991 a 1992, použité metodiky přípravy laboratorních siláží a jejich

analýzy byly popsány již dříve (Křížek, 1991; Křížek, 1993a).

Aminy byly stanovovány ve výluhu siláže 0,6 M – HClO₄. Výluh po zalkalizování hydroxidem sodným reagoval s benzoylchloridem (Schotten-Baumannova reakce), přičemž bazické aminy vytvářejí N-substituované benzamidy. Po extrakci těchto derivátů do dietylu, odpaření a rozpuštění v metanolu jsou benzamidy děleny pomocí vysokoúčinné kapalinové chromatografie (HPLC).

Těžké masné kyseliny byly stanoveny ve vodném výluhu siláže pomocí plynové chromatografie na náplňové koloně (5 % PPGS na Chromatonu N-AW).

Čpavek byl stanoven ve vodném výluhu siláže klasickou mikrodifúzní metodou s titrační koncovkou dle Conwaye.

Celkový dusík byl stanovován v laboratorní sušině silážovaného materiálu standardním postupem dle Kjeldahla.

V předložené práci byl ověřován vliv vegetační fáze pícniny na obsah aminů v siláži. Jako pokusná pícnina byl zvolen oves (*Avena sativa*) pěstovaný na třech parcelách, hnojených dvakrát dělenými dávkami dusíku (po 200 kg/ha NO₃-N), fosforu (po 70 kg/ha) a draslíku (po 200 kg/ha). Šest profilů vegetačních fází odpovídalo vývojovým fázím dle Feekese – počátek sloupkování f. č. 6, 7.–10. fáze sloupkování, metání 10. I. Podle způsobu hnojení jsou fáze dále označovány symboly 1N–6N, 1P–6P, 1K–6K. Otevírání pokusných sil proběhlo po 14, 28, 42 a 56 dnech od data silážování.

Důvodem zvýšených dávek hnojiv i silážování mladé píce (v prvních vývojových fázích) byla snaha o zachycení trendu tvorby aminů.

VÝSLEDKY A DISKUSE

Jako zásadní proměnná ovlivňující kvalitu výsledné siláže se jevil obsah sušiny úzce související s vegetační fází pícniny. Kvalitnější siláže s vyšší sušinou obsahovaly značně množství kyseliny mléčné, byla pro ně charakteristická nízká hodnota pH a nízký obsah putrescinu. Vzhledem k omezenému prostoru jsou výsledky prezentovány v tab. II jako průměrné hodnoty některých významných kritérií pro jednotlivé vegetační profily.

Statistické vyhodnocení všech naměřených výsledků metodou analýzy rozptylu bylo provedeno pomocí programu Statgraphic. Vyplývaly z něj některé důležité skutečnosti (tab. III). Celkově nejvyšší významností se vyznačoval parametr vegetační fáze silážované pícniny, dále mělo na kvalitativní kritéria vliv stáří siláže. Nejmenší byla kvalitativní kritéria ovlivněna způsobem hnojení rostlin.

Ze sledovaných aminů reagoval nejvýrazněji na stáří silážované rostliny i na stáří siláže obsah putrescinu. Do jisté míry obdobnou odezvu, avšak na nižší úrovni statistické významnosti vykazoval obsah kadaverinu v silážích. U histaminu nebylo zaznamenáno statistické

II. Průměrné hodnoty vybraných kritérií pro jednotlivé vegetační profily – Average values of some criteria for the particular vegetation profiles

	NA/NT (%)	pH	Putrescin ¹ (mg/kg)	Kadaverin ² (mg/kg)	Histamin ³ (mg/kg)	Tyramin ⁴ (mg/kg)	Sušina ⁵ (%)
1N	13,3	5,8	689	138	33	327	12
2N	12	4,5	503	205	14	602	15
3N	16	4,7	1 170	2 166	165	69	13,1
4N	10,5	4,2	742	1 260	47	787	14,2
5N	10,1	4,2	436	558	7,7	366	14,8
6N	10,3	4	302	457	44	189	16,4
1P	14,4	5,9	899	79,2	3,8	180	11,5
2P	9,9	4,1	226	33	36	439	13,5
3P	12,2	4,3	950	148	17	452	12,5
4P	9,4	3,8	469	1 324	36	1 444	14,2
5P	11,2	3,7	378	892	60	1 472	13,8
6P	9,1	3,7	292	292	18	3 919	16,6
1K	13,6	5,6	706	27,7	3	0	12
2K	7,9	4	218	27,7	0	297	13
3K	10,6	4,2	822	956	24	1 595	12,5
4K	6,9	3,7	185	222	24	249	13,3
5K	8,3	3,5	208	215	21	149	14
6K	7,8	3,7	96	258	5,6	395	17,2

NA/NT = poměr obsahu čpavkového dusíku k celkovému obsahu dusíku – ammonia nitrogen content to total nitrogen content ratio

¹putrescine, ²cadaverine, ³histamine, ⁴tyramine, ⁵dry matter

III. Analýza rozptylu, hodnoty *F* kritéria – Analysis of variance, *F* criterion values

	Vegetační fáze ¹	Způsob hnojení ²	Stáří siláže ³
Putrescin ⁴	6,318***	2,895	5,231**
Kadaverin ⁵	3,036*	2,911	2,647
Histamin ⁶	0,861	1,683	0,882
Tyramin ⁷	1,498	4,254*	3,152*
pH	41,867***	2,312	1,372
NA/NT	2,326	2,108	9,035***
Kyselina mléčná ⁸	57,483***	0,272	0,667
Kyselina octová ⁹	6,352***	6,189**	5,375**
Kyselina máselná ¹⁰	1,775	0,694	2,332

* = $P \leq 0,05$; ** = $P \leq 0,01$; *** = $P \leq 0,001$

NA/NT = poměr obsahu čpavkového dusíku k celkovému obsahu dusíku – ammonia nitrogen content to total nitrogen content ratio

¹vegetation stage, ²way of fertilizer application, ³silage age, ⁴putrescine, ⁵cadaverine, ⁶histamine, ⁷tyramine, ⁸lactic acid, ⁹acetic acid, ¹⁰butyric acid

ky významné zvýšení hodnoty *F* kritéria pro žádný ze sledovaných třech faktorů. Pouze obsah tyraminu souvisel se způsobem hnojení píce.

Oproti kvasným kyselinám je u stupně proteolýzy (NA/NT – poměr obsahu čpavkového dusíku k celkovému obsahu dusíku vyjádřený v procentech) patrná jeho výrazná souvislost se stářím siláže a naopak jeho

relativní nezávislost na stáří silážované píce (vegetační fázi). Tato vlastnost je velmi žádoucí u kritéria jakosti. V tomto směru se stupni proteolýzy nevyrovná ani běžně prováděné stanovení obsahu kyseliny máselné v siláži, ale ani stanovení obsahu putrescinu.

S výjimkou 8. fáze sloupkování bylo s postupujícím stářím siláže patrné zlepšování kvality siláže. Pouze pro kadaverin byl charakteristický odlišný průběh. V siláži z mladé píce nebyl buď vůbec zaznamenán či jeho koncentrace byly velmi nízké. Obsah tohoto aminu kulminoval kolem 8. fáze sloupkování, poté mírně klesal. V rámci tří variant hnojení byl nejvyšší obsah aminů nalezen v silážích z píce intenzivně hnojené dusíkem, nejnižší v silážích s draselným hnojením. Nezdá se však, že by rozumně řízené způsoby hnojení v praxi zásadně ovlivnily obsahy aminů v siláži.

Zvýšené hnojení dusíkem se bezpochyby promítlo do zvýšení obsahu aminokyselinových prekurzorů biogenních aminů v píce. Draslík příznivě zasahuje do metabolismu sacharidů v rostlině s možným vlivem na tvorbu pozitivně působící kyseliny mléčné v siláži.

ZÁVĚR

Ukazuje se, že obsah toxických biogenních aminů v siláži je úzce spjat s celkovou kvalitou siláže. Z tohoto důvodu se způsoby ovlivnění jejich tvorby do značné míry shodují s obecně uznávanými pravidly pro přípravu kvalitní siláže.

Pro snížení obsahu aminů lze na základě dřívějších i těchto experimentů uvést pět pravidel v pořadí dle klesající důležitosti:

1. Docílení anaerobních kvasných procesů dokonalým stlačením silážované píce a vzduchotěsným uzavřením sila.
2. Silážování píce nejdříve ve fázi metání, pokud možno o vyšší sušiny.
3. Vliv druhu pícniny – omezení silážování bílkovinné píce či snížení jejího podílu v silážované směsi pícnin.
4. Vliv stáří siláže – nejnížší obsahy aminů se vyskytují v silážích po asi 100 dnech od silážování.
5. Vliv hnojení a přijatých živin – v praxi patrně málo významný.

LITERATURA

BOKORI, J. – NAGY, B. – FEKETE, J. – CSOKAN, P.: Study of biogenic amines in silages. *Allatorv. Lapja*, 39, 1984: 279–287.

BUCHANAN-SMITH, J. G. – PHILLIP, L. E.: Food intake in sheep following intraruminal infusion of extracts from lucerne silage. *J. Agric. Sci. (Cambridge)*, 106, 1986: 611–617.

HOLE, J. R.: The nutritive value of silage made from *Poa pratensis* and *Phleum pratense*. *Sci. Rep. Agric. Univ. Norway*, 64, 1985: 1–9.

HUGHES, A. D.: The non-protein nitrogen composition of grass silages. *J. Agric. Sci. (Cambridge)*, 75, 1970: 421–431.

KALAC, P. – KRÍŽEK, M.: Biogenní aminy v kukuřičných silážích. In: 5th Int. Symp. Forage preservation, VÚŽV, Nitra, 1991: 183.

KRYNSKI, A.: Zatrucia produktami rozpadu białka. *Hodowca Drob. Inwent.*, 36, 1988: 4–5.

KRÍŽEK, M.: The determination of biogenic amines in silage. *Arch. Anim. Nutr. (Berlin)*, 41, 1991: 97–104.

KRÍŽEK, M.: The occurrence of biogenic amines in silage. *Arch. Anim. Nutr.*, 43, 1993a: 169–177.

KRÍŽEK, M.: The dynamics of the formation of biogenic amines in silage. *Arch. Anim. Nutr.*, 43, 1993b: 179–187.

KRÍŽEK, M. et al.: The occurrence of six biogenic amines in farm scale silage. *Arch. Anim. Nutr.*, 45, 1993: 131–137.

LINGAAS, F. – TVEIT, B.: Etiology of acetonemia in Norwegian cattle. *J. Dairy Sci.*, 75, 1992: 2433–2429.

MCDONALD, P. et al.: The biochemistry of silage. *Chalcombe Publ.*, Marlow 1991: 339 s.

NEUMARK, H. et al.: Amines and their effect on food intake by ruminants. *J. Sci. Food Agric.*, 15, 1964: 487–492.

NEUMARK, H. – TADMOR, A.: Effect of histamine on food intake and rumen motility of a ram. *J. Agric. Sci.*, 71, 1968: 267–270.

OSHIMA, M. – McDONALD, P.: A review of the changes in nitrogenous compounds of herbage during ensiling. *J. Sci. Food Agric.*, 29, 1978: 497–505.

TVEIT, B. – LINGAAS, F. – SVENDSEN, M.: Etiology of acetonemia in Norwegian cattle. *J. Dairy Sci.*, 75, 1992: 2421–2432.

VERVACK, W.: La formation d'amines non volatiles aux dependes acides amines dans l'ensilage. In: *Proteines et acides amines en nutrition animale*, Paris, 1974. 510 s.

Došlo 13. 7. 1994

Kontaktní adresa:

Ing. Martin Krížík, CSc., Jihočeská univerzita, Zemědělská fakulta, Studentská 13, 370 05 České Budějovice, Česká republika
Tel. 038/731 15 56, fax 038/731 15 57

**Nejčerstvější informace o časopiseckých článcích
poskytuje automatizovaný systém**

Current Contents

na disketách

Ústřední zemědělská a lesnická knihovna odebírá časopis „**Current Contents**“ řadu „**Agriculture, Biology and Environmental Sciences**“ a řadu „**Life Sciences**“ na disketách. Řada „**Agriculture, Biology and Environmental Sciences**“ je od roku 1994 k dispozici i s abstrakty. Obě tyto řady vycházejí 52krát ročně a zahrnují všechny významné časopisy a pokračovací sborníky z uvedených oborů.

Uložení informací z **Current Contents** na disketách umožňuje nejrozmanitější referenční služby z prakticky nejčerstvějších literárních pramenů, neboť báze dat je **doplňována každý týden** a neprodleně expedována odběratelům. V systému si lze nejen prohlížet jednotlivá čísla **Current Contents**, ale po přesném nadefinování sledovaného profilu je možné adresně vyhledávat informace, tisknout je nebo kopírovat na disketu s možností dalšího zpracování na vlastním počítači. Systém umožňuje i tisk žádank o separát apod. Kumulované vyhledávání v šesti číslech **Current Contents** najednou velice urychluje rešeršní práci.

Přístup k informacím **Current Contents je umožněn dvojím způsobem:**

- 1) Zakázkový přístup** – po vyplnění příslušného zakázkového listu (objednávky) je vhodný především pro mimopražské zájemce.

Finanční podmínky: – použití PC – 15 Kč za každou započatou půlhodinu
– odborná obsluha – 10 Kč za 10 minut práce
– vytištění rešerše – 1 Kč za 1 stranu A4
– žádanky o separát – 1 Kč za 1 kus
– poštovné + režijní poplatek 15 %

- 2) „Self-service“** – samoobslužná práce na osobním počítači v ÚZLK.

Finanční podmínky jsou obdobné. Vzhledem k tomu, že si uživatel zpracovává rešerši sám, je to maximálně úsporné. (Do kalkulace cen nezapočítáváme cenu programu a databáze **Current Contents**.)

V případě Vašeho zájmu o tyto služby se obraťte na adresu:

Ústřední zemědělská a lesnická knihovna
Dr. Bartošová
Slezská 7
120 56 Praha 2
Tel.: 02/25 75 41, l. 520, fax: 02/25 70 90

Na této adrese obdržíte bližší informace a získáte formuláře pro objednávku zakázkové služby. V případě „self-servisu“ je vhodné se předem telefonicky objednat. V případě zájmu je možné si objednat i průběžné sledování profilu (cena se podle složitosti zadání pohybuje čtvrtletně kolem 100 až 150 Kč).

PATHOGENESIS OF AVIAN MYCOBACTERIOSIS OF THE GOOSE (*ANSER ANSER* F. *DOMESTICA*) AND DUCK (*ANAS PLATYRHYNCHOS* F. *DOMESTICA*)

PATOGENEZE AVIÁRNÍ MYKOBakteriÓZY HUSY DOMÁCÍ (*ANSER ANSER* F. *DOMESTICA*) A KACHNY DOMÁCÍ (*ANAS PLATYRHYNCHOS* F. *DOMESTICA*)

K. Hejlíček, F. Tremel

University of Veterinary and Pharmaceutical Sciences, Brno, Czech Republic

ABSTRACT: Experimental infections enabled to test susceptibility of the goose and duck to *M. avium*. After intramuscular implantation of *M. avium* suspension, local lesions were observed at the spot of puncture in the geese, and miliary tuberculosis of spleen in 35 days, as well as miliary tuberculosis of liver after 69 days. In the ducks, local lesions were found at the spot of puncture in 35 days and miliary tuberculosis of liver and spleen in 69 days. Cultivation demonstrated mycobacteria in various tissues and organs since day 12 after infection. Peroral infection with contaminated feed caused lesions in spleen and intestine in the geese in 106 days, and then in liver and lungs in 133 days. The ducks had lesions in the intestine in 106 days, and in liver and spleen in 133 and 136 days, resp. Cultivation proved sporadic mycobacteria in liver, spleen, lungs and/or bone marrow and brain in both species. No tuberculous lesions were observed in the geese or ducks within 253 days of the experiment after infections by contacts with the TBC fowl. Cultivation demonstrated sporadic mycobacteria in liver, spleen, kidneys, lungs and bone marrow. The goose and the duck are very resistant to *M. avium* infection. The duck seems to be less susceptible than the duck.

avian mycobacteriosis; pathogenesis; goose; duck

ABSTRAKT: Experimentálními infekcemi byla ověřována vnímavost husy domácí a kachny domácí k *M. avium*. Po intramuskulární infekci suspenzí *M. avium* byly u husí nalezeny lokální změny v místě inokulace a miliární tuberkulóza sleziny po 35 dnech, po 69 dnech i miliární tuberkulóza jater. U kachen byly nalezeny lokální změny v místě inokulace po 35 dnech a po 69 dnech miliární tuberkulóza jater a sleziny. Kultivací byly prokazovány mykobakterie z různých tkání a orgánů již od 12. dne po infekci. Po perorální infekci kontaminovaným krmivem byly u husí nalezeny změny ve slezině a ve střevě po 106 dnech, po 133 dnech i v játrech a v plicích. U kachen byly zjištěny změny ve střevě po 106 dnech, po 133, resp. 136 dnech v játrech a ve slezině. Kultivací byly u obou druhů prokazovány mykobakterie ojediněle z jater, sleziny, plic, příp. kostní dřevě a mozku. Po infekci kontaktem s tuberkulózním kurem nebyly během 253 dnů pokusu nalezeny tuberkulózní změny u husí ani u kachen. Kultivací byly prokazovány mykobakterie ojediněle z jater, sleziny, ledvin, plic a kostní dřevě. Husa domácí a kachna domácí jsou velmi rezistentní k infekci *M. avium*. Kachna se zdá být méně vnímavá než husa.

aviární mykobakteriÓza; patologie; husa domácí; kachna domácí

ÚVOD

Mykobakteriální infekce husy domácí a kachny domácí jsou ve srovnání s kurem domácím popisovány velmi zřídka. Ze starších literárních údajů je patrné, že při pitvách i větších soubořích nebyly u husy nalezeny tuberkulózní změny (Eber, 1924; Eber a Pallaske-Eber, 1934; Kronberger, 1960; Prusas, 1964) nebo jen ojediněle (Laenholm, 1938). Častější výskyt však popisuje Gylstorff (1960), která v letech 1948–1959 v Bavorsku zjišťovala, s výjimkou jednoho roku, každoročně u pitvaných husí tuberkulózní změny ve 4–23,9 %. V Polsku nalezl Bekajlo

(1963) z asi 96 000 jatečných husí v 10 % makroskopické změny a u skupiny 17 bakteriologicky vyšetřených prokázal *M. avium*. Na Slovensku popsali podobný hromadný výskyt tuberkulózy u jatečných husí Flešar aj. (1968), když ze 70 808 husí nakoupených od malých chovatelů v 5,89 % konfiskovali játra. Kultivačním vyšetřením vzorků jater v 46,9 % byly prokázány mykobakterie a část kmenů určena jako *M. avium*.

V ČR popsali větší výskyt tuberkulózy chovných hus v Jihočeském kraji Racháč a Krucký (1981). Z 765 jedinců ve 4,1 % našli tuberkulózní změny. Zajíček a Pavlas (1983) zjistili u 1 500 husí poražených na jatcích ve 2 % suspektní změny

a v 1,2 % prokázali *M. avium*, sérotyp 2. Podle patologickoanatomických výsledků vyšetření SVÚ v ČR byla v letech 1971–1974 nalezena u vodní drůbeže (husy a kachny) tuberkulóza v 0,04–0,17 % pitvaných. Podle Surveillance antropozoonóz v ČR za rok 1989 nebyla na jatkách u poražené drůbeže (hrabavá i vodní) nalezena tuberkulóza. Jednalo se však výhradně o ptáky pocházející z velkochovu.

Patologickoanatomické tuberkulózní změny u hus mají obdobnou lokalizaci jako u kura domácího, tj. nejčastěji v játrech (Ščepilov, 1957; Flešar aj., 1968), resp. v játrech a ve slezině (Bekajlo, 1963) a ve slezině (Rachač a Krutcký, 1981).

Po experimentální infekci husí suspenzí *M. avium* prokázali Rossi aj. (1968) podobnou lokalizaci tuberkulózních změn. Intravenózní infekce vedla u šesti husí z 10 k úhynu do tří měsíců. Všichni tito ptáci a čtyři další, poražení za čtyři měsíce, měli miliární tuberkulózu jater, 70 % miliární tuberkulózu sleziny, 70 % změny v plicích, téměř všichni měli zachycené dlouhé rourovité kosti a 30 % mělo výrazné změny ve střevech. Po perorální infekci 10 husí byly u čtyř nalezeny málo rozsáhlé změny v játrech, u jedné ve slezině a ve střevech. K obdobným výsledkům při stejných způsobech infekce dospěli i Pavlas aj. (1983) a konstatovali vysokou rezistenci husí k infekci *M. avium*. Rozanská (1966) zjistila po 12týdenním kontaktu husí s tuberkulózním kurem domácím v 70 % tuberkulózu.

Podobně jako u husy domácí je v evropských poměrech zjišťována velmi zřídka tuberkulóza i u kachny domácí. Eber (1924) našel u pitvaných kachen tuberkulózu jen v 0,2 %, Eber a Pallaske-Eber (1934) v 0,9 %, Gylstorff (1960) ve 2 %. Kauker (1946) a Prusas (1964) tuberkulózní změny u kachen nenalezli a podobně Kronberger (1960) nezjistil ve velkém souboru kachen pitvaných v letech 1919–1958 v Drážďanech a později v Lipsku ani jeden případ tuberkulózy. Častější nálezy tuberkulózy kachen byly publikovány v Holandsku (Jansen, 1934; Jansen a Wemmenhove, 1967). Poměrně častý výskyt tuberkulózy kachen byl pozorován v Indii (Mallick aj., 1970) a v Indonésii (Mansjoer, 1962).

U nás doposud nebyl popsán větší výskyt tuberkulózy kachny domácí. V Surveillance antropozoonóz v ČR je v roce 1987 uváděn jeden případ izolace *M. avium* z kachny.

Tuberkulóza kachen je tedy většinou řídké se vyskytující onemocnění a často jsou popisovány jen kauzistické případy (Völker, 1924; Te Hennepe, 1936, 1938; Berge, 1932; Hinshaw, 1933). Nechybí však zprávy, že v zamořených hejnech kachen může být větší incidence onemocnění (Korlakowski aj., 1962; Schaaf, 1932; Filipenkoff, 1933; Craig a Davies, 1937).

Za hlavní zdroj *M. avium* pro kachny je považován kur domácí. Rozanská (1966) prokázala, že

z 20 kachen vystavených po 12 týdnů kontaktu s experimentálně infikovaným kurem reagovala jedna kachna, u níž byla tuberkulóza potvrzena. Griffith (1930), Te Hennepe (1936) a Feldman (1938) považují přenos tuberkulózy z kura na kachnu za řídký. Přenos tuberkulózy z kachny na kura prokázal za experimentálních podmínek Schaaf (1932), avšak v přirozených podmínkách takový přenos nepozoroval. Uvádí však možnost šíření nemocnými jedinci v infikovaném hejnu kachen.

Cílem naší práce bylo různými experimentálními infekcemi přispět k poznání vnímavosti husy domácí a kachny domácí k *M. avium*, k nástupu a lokalizaci tuberkulózních změn a tím i jejich epizootologickému významu jako možných šířitelů mykobakterií.

MATERIÁL A METODY

Experimentálně byly infikovány husy a kachny pocházející z chovu, kde nikdy nebyla zjištěna tuberkulóza.

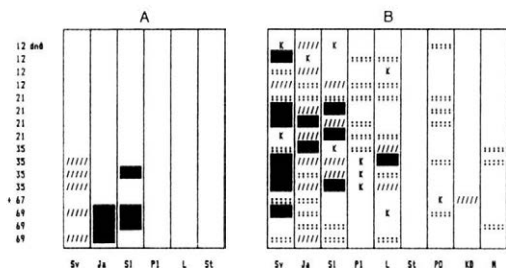
V první skupině bylo infikováno intramuskulárně (*i. m.*) suspenzí kmene *M. avium*, sérotyp 2, v dávce 1 mg/kg ž. h. 16 husí a 27 kachen. Ptáci byli usmrceni po částech v údobí 12–69 dnů po infekci.

Ve druhé skupině bylo infikováno 11 husí a 21 kachen perorálně (*p. o.*) krmivem kontaminovaným tuberkulózní změněnými játry kura domácího v poměru jeden díl bč jater a devět dílů krmiva. Kontaminované krmivo bylo podáváno po dobu sedmi dnů. Ze změněných jater byly izolovány mykobakterie určené jako *M. avium*, sérotyp 2. Ptáci byli po částech usmrceni za 106–163 dnů.

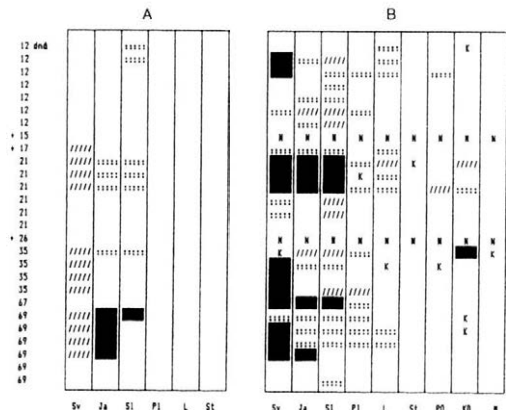
Ve třetí skupině bylo vystaveno kontaktní infekci 12 husí a 20 kachen společným umístěním s kurem domácím (15 ks) s klinikou a orgánovou tuberkulózou. Kur domácí reagoval na tuberkulin a někteří ptáci projevovali klinické příznaky onemocnění. Po usmrcení u nich byly nalezeny tuberkulózní změny v orgánech. Husy a kachny byly usmrceny po částech v údobí 157–253 dnů po infekci.

Po usmrcení byl sledován patologickoanatomický nález, jednotlivé tkáně a orgány vyšetřeny kultivací a u intramuskulárně infikovaných kachen i histologicky. Kultivováno bylo na tři pevné půdy podle Petragianiho a dvě sérové půdy pro kultivaci mykobakterií. Kultivaci předcházela preparace suspendované tkáně 10% kyselinou sírovou po dobu 20 min s následnou neutralizací 8% louhem sodným. Po dvouměsíční inkubaci v termostatu při teplotě 37 °C byla inkubace ukončena. Izolované kmeny mykobakterií byly dále určeny biochemicky a sérologicky (IHE Praha). Histologické řezy byly barveny hematoxilin-eozinem na průkaz specifické granulační tkáně a podle Ziehl-Neelsena na průkaz mykobakterií.

Husa domácí



Kachna domácí



1. Výsledky patologickoanatomického, histologického a kulti-
vačního vyšetření husy a kachny, infikovaných intramuskulárně suspenzí *M. avium* (1 mg/kg ž. h.) – The results of patho-anatomic, histological and cultivation examination of the goose and duck infected intramuscularly with *M. avium* suspension (1 mg/kg l.w.)

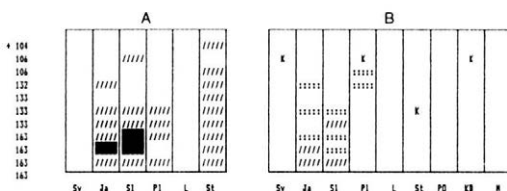
VÝSLEDKY

Výsledky experimentálních infekcí *M. avium* jsou uvedeny v obr. 1 až 3.

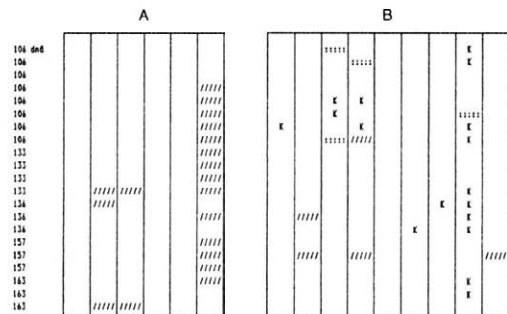
Po *i. m.* infekci (obr. 1) byly u hus nalezeny lokální změny v místě vpichu a miliární tuberkulóza sleziny po 35 dnech, po 69 dnech i miliární tuberkulóza jater. Kultivací byly prokazovány mykobakterie z různých orgánů a tkání již od 12. dne po infekci, ale většinou byl nárůst méně intenzivní. U kachen byly nalezeny histologické změny ve slezině již od 12. dne po infekci, lokální změny v místě vpichu a histologické změny v játrech po 35 dnech a po 69 dnech miliární tuberkulóza jater a sleziny. Výsledky kultivačních vyšetření jsou obdobné jako u husí.

Po *p. o.* infekci kontaminovaným krmivem (obr. 2) u husí byly pozorovány první patologickoanatomické změny po 106 dnech ve slezině a ve střevě a po 133 dnech i v játrech a plicích. U většiny ptáků byly změny ve stěně střevní. Kultivačním vyšetřením byly ojediněle prokazovány malé počty mykobakterií v plicích po 106 dnech, v plicích, játrech a ve slezině po

Husa domácí

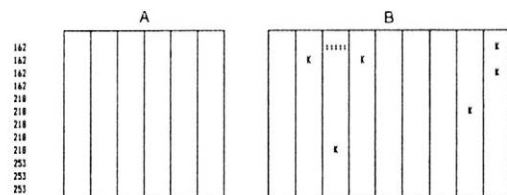


Kachna domácí

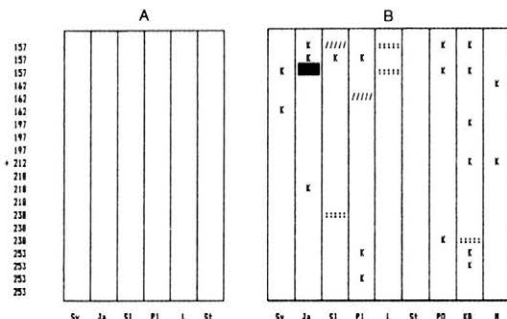


2. Výsledky patologickoanatomického, histologického a kulti-
vačního vyšetření husy a kachny, infikovaných perorálně krmivem kontaminovaným játry tbc kura (9 dílů krmiva + 1 díl tbc jater) – The results of patho-anatomic, histological and cultivation examination of the goose and duck infected perorally with feed contaminated with the liver of TBC fowl (9 portions of feed + 1 portion of the liver)

Husa domácí



Kachna domácí



3. Výsledky patologickoanatomického, histologického a kulti-
vačního vyšetření husy a kachny, infikovaných stykem s TBC kurem – The results of patho-anatomic, histological and cultivation examination of the goose and duck infected by a contact with TBC fowl

A	
	beze změn – without changes
	histologické změny – histological changes
	izolované tbc změny – isolated tuberculous changes
■	miliární tbc – miliar tuberculosis
■	nevyšetřeno – unexamined
■	úhyn – mortality

Sv = sval – muscle
 Ja = játra – liver
 Sl = slezina – spleen
 Pl = plic – lungs
 L = ledviny – kidneys
 St = střevo – intestine
 PO = pohlavní orgány – sexual organs
 KD = kostní dřeň – bone marrow
 M = mozek – brain

B	
	negativní – negative
	do 20 kolonií – up to 20 colonies
	nad 20 kolonií – above 20 colonies
■	souvislý porost – continuous stand
■	nevyšetřeno – unexamined
■	kontaminace – contamination

A = dynamika vývoje patologicko-anatomických a histologických tbc změn – dynamics of development of patho-anatomical and histological tuberculous changes
 B = kulturační vyšetření – cultivation examination

dnů = days, husa domácí = goose, kachna domácí = duck

133 dnů. U kachen první patologickoanatomické procesy byly patrné ve střevech po 106 dnech, v játrech a ve slezině po 133, resp. 136 dnech. Změny v orgánech se vyskytly jen u malé části ptáků (3 z 21), zatímco procesy ve střevech u 14 z 21 sledovaných ptáků. Kultivací byly prokázány mykobakterie jen ojediněle, u šesti z 21 sledovaných ptáků, z jater, sleziny, plic, kostní dřevě a mozku.

V kontaktní infekci s tuberkulózním kurem (obr. 3) nebyly u husí ani u kachen v průběhu 253 dnů pozorovány nalezeny makroskopické tuberkulózní změny. U husí jen v jednom případě byly izolovány v malém množství mykobakterie ze sleziny, u kachen ojediněle z jater, sleziny, plic, ledvin a kostní dřevě.

DISKUSE

Tuberkulóza husí a kachen se vyskytuje velmi zřídka, spíše sporadicky. Příčinou je značná rezistence obou druhů k infekci *M. avium* (Schaaf, 1932; Rozanská, 1966; Pavlas aj., 1983). Jestliže u nás byly popsány kauzistické případy enzootií tuberkulózy husí (Racháč a Krucký, 1981; Zajíček a Pavlas, 1983) zůstává otázkou, jaké vlivy okolnosti se podílely při jejich vzniku. Zajíček a Pavlas (1983) uvádějí jako jeden z faktorů ovlivňujících incidenci onemocnění věk husí.

Pro značnou rezistenci husí a kachen k infekci *M. avium* svědčí i výsledky experimentálních infekcí. Po i. m. infekci suspenzí *M. avium* jsme našli u obou druhů makroskopické tuberkulózní změny v místě vpichu po 35 dnech, naproti tomu u kura domácího po 21 dnech (Hejlíček aj., 1995). Miliární tuberkulózu jater a sleziny jsme zjistili u husí a kachen po 35, resp. po 69 dnech, u kura domácího po 28 dnech. Po p. o. infekci krmivem kontaminovaným játry tuberkulózního kura vznikly u 10 z 11 infikovaných husí makroskopické změny, z toho u devíti v orgánech a ve střevech,

u dvou jen ve střevech. Tedy více než po stejném způsobu infekce popisují Rossi aj. (1968). Mykobakterie však byly podány v infikované tkáni, kde lze předpokládat delší přežívání a tedy větší působení na sěnu střevní než při podání suspenze z mykobakteriálního kmene. Tím si lze vysvětlit i častější výskyt tuberkulózy střeve v našich pokusech než pozorovali Rossi aj. (1968). Naproti tomu méně častý byl výskyt orgánových tuberkulóz u stejným způsobem infikovaných kachen. Z 21 jedinců pouze tři měli tuberkulózní změny v játrech a ve slezině, ale 14 ve střeve. Nutno tedy infikované husy a kachny pokládat z hlediska dalšího šíření za nebezpečný zdroj pro ostatní jedince v hejnu, tak jak předpokládají Zajíček a Pavlas (1983) u husí a Schaaf (1932) u kachen. U p. o. infikovaných husí a kachen byly kulturační nálezy mykobakterií spíše ojedinělé, s málo intenzivním růstem na živných médiích. I to svědčí pro značnou rezistenci husí a kachen k infekci *M. avium*. Po 253 dnů trvajícím kontaktu s tuberkulózním kurem se nám nepodařilo u husí a kachen vyvolat tuberkulózní změny. Nemohli jsme proto potvrdit výsledky Rozanské (1966), které se takový přenos u většiny husí a ojediněle u kachen podařil po 12 týdnech kontaktu s tbc kurem. Kulturační průkaz mykobakterií v našem pokusu byl jen ojedinělý, spíše náhodný, opět svědčící o velmi malé vnímavosti husí a kachen k mykobakteriální infekci.

Experimentálními infekcemi jsme tedy prokázali velmi nízkou vnímavost husy domácí a kachny domácí k infekci *M. avium*. Pokud bychom srovnávali oba druhy navzájem, pak o něco vnímavější se zdá být husa, a to jak po i. m. infekci (miliární tuberkulóza sleziny již po 35 dnech), tak zejména po p. o. infekci, kdy byly nalezeny změny v parenchymatózních orgánech u sedmi z 11 infikovaných husí, zatímco u kachen pouze u tří z 21 infikovaných. Ve stejném smyslu vyznívají i výsledky Rozanské (1966), která po kontaktu s tuberkulózním kurem našla tuberkulózní změny u 70 % husí, avšak jen u jedné z 20 kachen. Pro větší

vnímavost husí svědčí i skutečnost, že v našich poměrech byly popsány ojedinělé enzootie tuberkulózy husí, avšak žádná u kachen, i když oba druhy jsou chovány ve srovnatelných podmínkách.

LITERATURA

- BEKAJLO, R.: Występowanie gruźlicy u gosi rzeźnych. *Med. Wet.*, 19, 1963: 254–255.
- BERGE, R.: Tuberkulose bei einer Ente. *Dtsch. Tierärztl. Wschr.*, 40, 1932: 101–102. In: FELDMAN, W. H.: Avian tuberculosis infections. 1938: 223–245.
- CRAIG, J. F. – DAVIES, G. O.: Intradermal avian tuberculin test in ducks. *Vet. Rec.*, 49, 1937: 29–30.
- EBER, A.: Die Tuberkulose des Hausgeflügel. *Zschr. Infektionskr.*, 25, 1924: 145–175. In: FELDMAN, W. H.: Avian tuberculosis infections. 1938: 223–245.
- EBER, A. – PALLASKE-EBER, R.: Die durch Obduktion feststellbaren Geflügelkrankheiten. Hannover, Verlag von M. D. H. Schöper, 1934.
- FELDMAN, W. H.: Avian tuberculosis infection. London/Baillière, Tindall & Cox 1938: 286–292. *Dressed poultry. J. Infect. Dis.*, 63, 1938: 332–336.
- FILIPENKOFF, N. S.: Tuberkulose der Enten. *Sov. Vet.*, 1933: 34–36. In: *Jb. Vet. Med.*, 56, 1935: 306.
- FLEŠAR, M. – BALASČÁK, J. – RENCZ, K.: Über das Auftreten der Tuberkulose bei Gänsen. *Folia Vet. (Košice)*, 12, 1968: 97–98.
- GRIFFITH, A. S.: Avian tuberculosis. In: A system of bacteriology in relation to medicine. London, His Majesty's Stationery Office, 5, 1930: 199–204. In: FELDMAN, W. H.: Avian tuberculosis infections. 1938: 223–245.
- GYLSTORFF, I.: Todesursachenstatistik des Geflügelgesundheitsdienstes Bayern 1948/49 bis 1958/59. *Mh. Vet.-Med.*, 15, 1960: 627–632.
- HEJLÍČEK, K. – TREML, F. – ČERNÝ, L.: Epizootologie a patogenese aviární mykobakterií kura domácího. *Vet. Med. – Czech*, 40, 1995: ?
- HENNEPE Te, B. J. C.: *Tijdschr. Diergeneesk.*, 52, 1925, Afl. 7. In: SCHAAF, J.: Untersuchungen über die Tuberkulose der Enten. *Berl. Tierärztl. Wschr.*, 44, 1936: 533–535.
- HENNEPE Te, B. J. C.: Quoted by Zeller, H. In: FELDMAN, W. H.: Avian tuberculosis infections. 1938: 223–245.
- HINSHAW, W. R.: Tuberculosis of avian origin in muscovy ducks. *J. Amer. Vet. Med. Assoc.*, 82, 1933: 111–113. In: *Jb. Vet. Med.*, 53, 1933: 43.
- JANSEN, J.: Tuberkulose und Paratyphus bei Enten und einige andere Enterkrankheiten. *Tijdschr. Diergeneesk.*, 61, 1934: 1025–1030.
- JANSEN, J. – WEMMENHOVE, R.: Post-mortem findings in ducks that died at a market. *Tijdschr. Diergeneesk.*, 92, 1967: 862–867.
- KAUKER, E.: Geflügelkrankheiten in Warthegau. *Vet. Bull.*, 16, 1946: 309.
- KORLAKOWSKI, J. – RAPF, T. – STEFAN, J.: Prati gruźlic występujące u kaczek. *Med. Wet.*, 18, 1962: 672–674.
- KRONBERGER, H.: Befunde bei Geflügelsektionen. *Mh. Vet.-Med.*, 15, 1960: 197–202.
- LAENKHOLM, W.: Quoted by Zeller, H.: In: FELDMAN, W. H.: Avian tuberculosis infections. 1938: 223–245.
- MALLICK, B. B. – CHAKRABARTHY, R. I. – CHATTOPADHYAY, S. K.: Some observations on the naturally occurring cases of avian tuberculosis in ducks. *Indian J. Anim. Hlth.*, 9, 1970: 171–173. In: *Vet. Bull.*, 41, 1971: 629.
- MANSJOER, M.: Avian tuberculosis in Indonesia with a special survey of this disease in ducks. *Commun. Vet. Bogor*, 6, 1962: 13–22. In: *Vet. Bull.*, 33, 1963: 2239.
- PAVLAS, M. – PATLOKOVÁ, V. – ZAJÍČEK, J.: Morphological changes in goose after experimental and natural infection with *Mycobacterium avium* serotyp 2. *Acta Vet. (Brno)*, 52, 1983: 163–167.
- PRUSAS, E.: Ergebnisse der Geflügelsektionen des Institutes und der Klinik für Geflügelkrankheiten Berlin, ein Beitrag zur Statistik der Todesursachen beim Geflügel. *Mh. Vet.-Med.*, 19, 1964: 300–307.
- RACHAČ, V. – KRUTSKÝ, J.: Výskyt tuberkulózy v chovu hus. *Veterinářství*, 31, 1981: 353–355.
- ROSSI, L. – PATLOKOVÁ, V. – DOKOUPIL, S. – PAVLAS, M.: Studium diagnostických metod tuberkulózy drůbeže, jednokopytníků, prasat a psů. [Závěrečná zpráva.] Brno, Výzkumný ústav veterinárního lékařství 1968. 96 s.
- ROZANSKA, M.: Swoistosc reakcji zlepieu przy wykrywaniu nosicieli pratkow gruźlicy u drobiu. *Med. Wet.*, 22, 1966: 193–196.
- SCHAAF, J.: Untersuchungen über die Tuberkulose der Enten. *Dtsch. Tierärztl. Wschr.*, 1932: 350–351.
- ŠČEPILOV, N. S.: Patologoanatomické změny při tuberkulóze gusej a utok. *Veterinarija*, 34, 1957: 55–56.
- VÖLKER, R.: Ein Fall von Ententuberkulose. *Dtsch. Tierärztl. Wschr.*, 32, 1924: 594–595. In: *Tierärztl. Rdsch.*, 30, 1924: 706.
- ZAJÍČEK, J. – PAVLAS, M.: Tuberkulóza ve velkochovu hus. *Veterinářství*, 33, 1983: 350–352.

Došlo 19. 5. 1994

Kontaktní adresa:

Doc. MVDr. František Tremel, CSc., Veterinární a farmaceutická univerzita, Palackého 1–3, 612 42 Brno, Česká republika
Tel. 05/41 32 11 07, fax 05/41 21 12 41

**Subscription list
of scientific journals published
in the Institute of Agricultural and Food Information, Prague**

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

Journal	Number	Yearly subscription in USD (including postage)	
		Europe	overseas
Rostlinná výroba (Plant Production)	12	118,-	123,-
Živočišná výroba (Animal Production)	12	118,-	123,-
Zemědělská ekonomika (Agricultural Economics)	12	118,-	123,-
Lesnictví - Forestry	12	118,-	123,-
Veterinární medicína (Veterinary Medicine - Czech)	12	92,-	96,-
Potravinářské vědy (Food Sciences)	6	48,-	56,-
Zemědělská technika (Agricultural Engineering)	4	35,-	37,-
Ochrana rostlin (Plant Protection)	4	35,-	37,-
Genetika a šlechtění (Genetics and Plant Breeding)	4	35,-	37,-
Zahradnictví (Horticultural Science)	4	35,-	37,-

Please send your order to the address: Editorial Office of scientific journals
Ústav zemědělských a potravinářských informací
(Institute of Agricultural and Food Information)

Slezská 7
120 56 Praha 2
Czech Republic

Subscription fees send to account No. 86335-011/0100, Komerční banka, Praha 1 (CR)

PATHOGENESIS OF AVIAN MYCOBACTERIOSIS OF THE TURKEY (*MELEAGRIS GALLOPAVO* F. *DOMESTICA*) AND GUINEA FOWL (*NUMIDA MELEAGRIS* F. *DOMESTICA*)

PATOGENEZE AVIÁRNÍ MYKOBAKTERIÓZY KROCANA DOMÁCÍHO (*MELEAGRIS GALLOPAVO* F. *DOMESTICA*) A PERLIČKY DOMÁCÍ (*NUMIDA MELEAGRIS* F. *DOMESTICA*)

K. Hejlíček, F. Trembl

University of Veterinary and Pharmaceutical Sciences, Brno, Czech Republic

ABSTRACT: Experimental infections enabled to study susceptibility to *M. avium* and disease pathogenesis in the turkey and guinea fowl. After intramuscular implantation of *M. avium* suspension macroscopic tuberculous lesions were observed at the spot of puncture in turkeys in 35 days, and miliary tuberculosis of liver and spleen in 55 days. Cultivation demonstrated mycobacteria in various organs and tissues since day 12 after infection. The guinea fowl showed macroscopic lesions at the spot of puncture in 28 days, and miliary tuberculosis of liver and spleen in 42 days. Cultivation of most tissues gave positive results since day 14 with prevailing massive growth of mycobacteria. After infection with feed contaminated with the liver of the tuberculous fowl isolated tuberculous lesions in liver, spleen and lungs were observed in the turkey in 133 days, and in the intestine in 163 days. Cultivation was successful enough to demonstrate sporadic mycobacteria in spleen and lungs in 106 days. The guinea fowl showed isolated tuberculous lesions in liver, spleen and intestines in 160 days. Cultivation after 160 days also gave positive results, particularly the presence of mycobacteria in liver, spleen and lungs was proved to be massive. After contacts with the tuberculous fowl, the turkeys showed isolated tuberculous lesions in the liver, spleen and lungs since day 218. Cultivation gave positive results since day 218. Isolated tuberculous lesions in liver were observed in the guinea fowl in 180 days, as well as in spleen, lungs and intestines in 270 days. Cultivation demonstrated smaller numbers of mycobacteria in the infected tissues. The results of patho-anatomic and cultivation examinations indicate that the turkey and guinea fowl have medium susceptibility to *M. avium*. The guinea fowl is a little more susceptible than the turkey. *M. avium* is expressly more pathogenic for the turkey-hens than for the turkey-cocks. The turkey and the guinea fowl can be a source of mycobacteria for other animals due to the frequent occurrence of intestinal tuberculosis.

avian mycobacteriosis; pathogenesis; turkey; guinea fowl

ABSTRAKT: Experimentálními infekcemi byla sledována vnímavost k *M. avium* a patogenese onemocnění u krocana domácího a perličky domácí. Po intramuskulární infekci suspenzí *M. avium* vznikly u krocana makroskopické tuberkulózní změny v místě vpichu za 35 dnů, miliární tuberkulóza jater a sleziny za 55 dnů. Kultivací byly prokazovány mykobakterie z různých orgánů a tkání již od 12. dne po infekci. U perličky byly nalezeny makroskopické změny v místě vpichu za 28 dnů, miliární tuberkulóza jater a sleziny po 42 dnech. Kultivace z většiny tkání byla pozitivní již od 14. dne a převládala hojný nárůst mykobakterií. Po infekci krmivem, kontaminovaným játry tuberkulózního kura, byly nalezeny u krocana izolované tuberkulózní změny v játrech, slezině a plicích za 133 dnů a ve střevě za 163 dnů. Kultivací se podařilo prokázat ojediněle mykobakterie za 106 dnů ze sleziny a plic. U perličky byly nalezeny po 160 dnech izolované tuberkulózní změny v játrech, slezině a střevě. Kultivace po 160 dnech byla rovněž pozitivní, zejména hojný průkaz mykobakterií byl z jater, sleziny a plic. Po kontaktu s tuberkulózním kurem byly u krocana nalézány izolované tuberkulózní změny v játrech, slezině a plicích od 218. dne. Kultivace byla pozitivní od 218. dne. U perliček byly patrné po 180 dnech izolované tuberkulózní změny v játrech, po 270 dnech i ve slezině, plicích a střevě. Kultivací byly prokazovány z postižených tkání mykobakterie v menších počtech. Podle výsledků patofyziologickoanatomických a kultivačních vyšetření je možno krocana domácího a perličku domácí považovat za středně vnímavé k *M. avium*. Výrazně patogennější je *M. avium* pro krůty než pro krocany. Krocana i perličku infikovanou *M. avium* mohou být vzhledem k častému výskytu tuberkulózy střev zdrojem mykobakterií pro další zvířata.

aviární mykobakteriáza; patogenese; krocana domácí; perlička domácí

Tuberkulóza krocana domácího je považována za běžně se vyskytující onemocnění (Feldman, 1938). Z dřívějších pozorování uvádějí Eber a Pallaske-Eber (1934) nález tuberkulózy u 19 (4,4 %) ze 436 pitvaných kroců v letech 1911–1930. Hillemark (1941) našel tuberkulózu u 12 (6,4 %) ze 186 pitvaných kroců. Podobně Gylstorff (1960) v období 11 let (1948–1959) nacházel po šest let při pitvě kroců tuberkulózu, přičemž procento výskytu se pohybovalo od 2,5 do 15,7. Kronberger (1960) shrnul výsledky pitevních vyšetření kroců v Drážďanech a později v Lipsku za léta 1919–1958. V jednotlivých desetiletích nalezl tuberkulózní změny u 2,8–7,1 % ptáků. Na SVÚ v ČR byly v roce 1971 zjištěny tři případy, v roce 1972 dva případy a v roce 1973 jeden případ tuberkulózy kroců. Podle Surveillance antropozoonóz v ČR byla v roce 1988 diagnostikována dvakrát tuberkulóza u kroců divokého.

Lokalizace tuberkulózních změn u kroců je podobná jako u kura domácího (Hinschaw aj., 1932). Nejčastěji jsou podle Wilsona (1960) napadána játra, slezina a střeva, často též plíce. Eber (1924) a Hinschaw aj. (1932) uvádějí u kroců nejčastější výskyt tuberkulózních změn v játrech (100 % resp. 95,6 %), slezině (90 % resp. 67,3 %), plicích (60 % resp. 32,6 %), střevech (40 % resp. 45,6 %) a kostech (66,6 % resp. 7,4 %).

Výskyt tuberkulózy u kroců je podmíněn též věkem a pohlavím. Hinschaw aj. (1932) zjistili u kroců mladších jednoho roku tuberkulózu v 9 %, ve věku 1–2 roky v 58,3 % a u ptáků starších dvou let v 65,1 %. Z 10 tuberkulózních ptáků, které pitval Eber (1924) bylo sedm krůt a tři kroců.

S údaji o experimentálních infekcích kroců jsme se v odborné literatuře nesetkali.

Tuberkulóza perličky domácí je považována za méně často se vyskytující onemocnění. Eber a Pallaske-Eber (1934) v letech 1911–1930 našli u 50 pitvaných perliček ve dvou případech (4 %) tuberkulózu. O prokázání tuberkulózy u perličky referují Urbain aj. (1942), Hoybraten (1959) a Huitema a van Vloten (1959). U nás je v poslední době zmiňován případ tuberkulózní perličky v Surveillance antropozoonóz z roku 1988. Při společném chovu s tuberkulózní drůbeží však perlička také onemocní. Jagošín a Šergín (1966) našli tuberkulózní změny u sedmi ze 12 perliček, které byly ve styku s tuberkulózním kurem, husami a kachnami. Procesy byly lokalizovány pětikrát v játrech, třikrát ve slezině a dvakrát ve střevu. Autoři se domnívají, že nakažené perličky mohou být samy zdrojem mykobakterií.

Cílem naší práce bylo zjistit experimentálními infekcemi vnímavost kroců domácího a perličky domácí k *M. avium* při různých způsobech infekce, dále pak dobu vzniku a lokalizaci tuberkulózních změn.

Kroců a perličky byli získáni z chovu, kde se nevyskytovala tuberkulóza a nebyl ani možný kontakt s tuberkulózním kurem domácím.

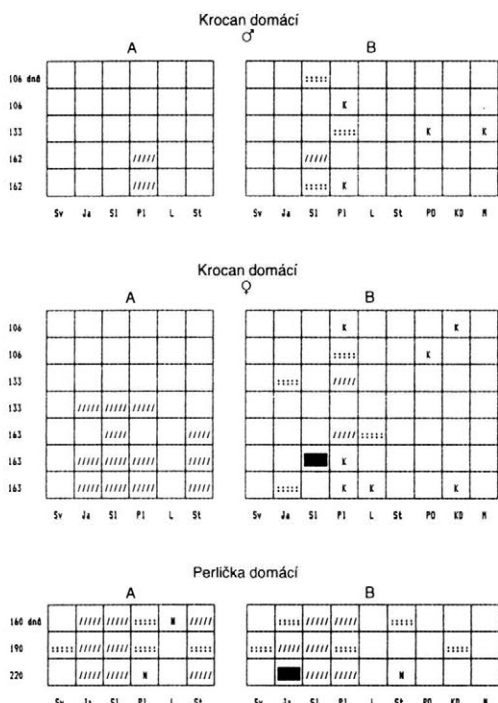
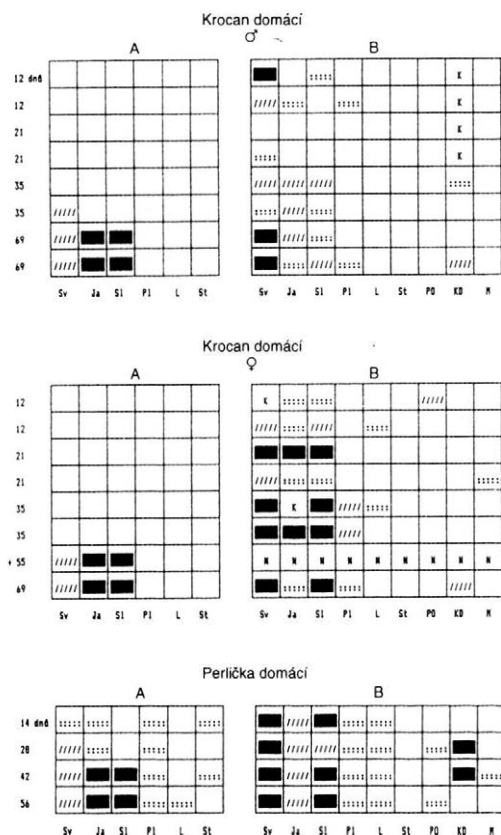
V prvním pokusu jsme infikovali intramuskulárně 16 kroců (osm samců a osm samic) a čtyři perličky suspenzí *M. avium* v dávce 1 mg/kg ž. h. Ve druhém pokusu jsme infikovali 12 kroců (pět samců a sedm samic) a tři perličky perorálně krmivem kontaminovaným v poměru 9 : 1 tuberkulózní změněnými játry kura domácího. Kontaminované krmivo bylo podáváno po dobu sedmi dnů. Z jater byly izolovány mykobakterie typizované jako *M. avium*, sérotyp 2. Ve třetím pokusu jsme infikovali 11 kroců (5 samců a šest samic) a tři perličky kontaktem ve společné voliérě se spontánně infikovaným kurem domácím. Ptáci, kteří byli zdrojem infekce, pocházeli z tuberkulózního chovu drůbeže, reagovali na tuberkulin a někteří z nich měli klinické příznaky onemocnění. Po ukončení pokusu byli nemocní ptáci utraceni a z orgánů izolovány kmeny mykobakterií (*M. avium*, sérotyp 2).

Experimentálně infikovaní kroců a perličky, pokud dříve neuhynuli, byli usmrceni po skupinách za 12–69 dnů po intramuskulární infekci, za 106–220 dnů po perorální infekci kontaminovaným krmivem a za 162–380 dnů po kontaktu s tuberkulózním kurem.

Po usmrcení byli ptáci vyšetřeni patologickoanatomicky, jejich tkáně a orgány kultivačně a u perliček i histologicky. Kultivováno bylo na tři pevné půdy podle Petragianiho a dvě sérové půdy pro kultivaci mykobakterií. Kultivaci předcházela preparace suspendované tkáně 10% kyselinou sírovou po dobu 20 min s následnou neutralizací 8% louhem sodným. Po dvou měsících inkubace v termostatu při teplotě 37 °C byla kultivace ukončena. Izolované kmeny mykobakterií byly dále určeny biochemicky a sérologicky (IHE Praha). Histologické řezy byly barveny hematoxilin – eozinem na průkaz specifické granulární tkáně a podle Ziehl-Nelsena na průkaz mykobakterií.

VÝSLEDKY

Po intramuskulární infekci (obr. 1) vznikly u kroců makroskopické tuberkulózní změny v místě vpichu za 35 dnů, miliární tuberkulóza jater a sleziny za 55 resp. 69 dnů u krůt i kroců. Kultivací byly prokazovány mykobakterie z různých orgánů a tkání již od 12. dne po infekci. Častější průkaz a hojnější nárůst mykobakterií byl u krůt než u kroců. U perličky byly nalezeny histologické změny v místě vpichu, v játrech, plicích a ve střevě za 14 dnů po infekci. Makroskopické změny v místě vpichu za 28 dnů a miliární tuberkulóza jater a sleziny po 42 dnech. Kultivace z většiny tkání byla pozitivní již od 14. dne a převládá hojný nárůst mykobakterií.



1. Výsledky patologickoanatomického, histologického a kultivačního vyšetření krocana a perličky, infikovaných intramuskulárně suspensí *M. avium* (1 mg/kg ž. h.) – The results of patho-anatomic, histological and cultivation examinations of the turkey and guinea fowl infected intramuscularly with *M. avium* suspension (1 mg/kg l.w.)

2. Výsledky patologickoanatomického, histologického a kultivačního vyšetření krocana a perličky, infikovaných perorálně krmivem kontaminovaným játry tbc kura (9 dílů krmiva a 1 díl jater) – The results of patho-anatomic, histological and cultivation examinations of the turkey and guinea fowl infected perorally with feed contaminated with the liver of TBS fowl (9 portions of feed and 1 portion of liver)

Po infekci kontaminovaným krmivem (obr. 2) byly nalezeny u krůt izolované tuberkulózní změny v játrech, slezině a plicích za 133 dnů a ve střevě za 163 dnů. U krocánů pouze změny v plicích po 162 dnech.

Vysvětlivky k obr. 1 až 3 – Explanations for Figs. 1 to 3:

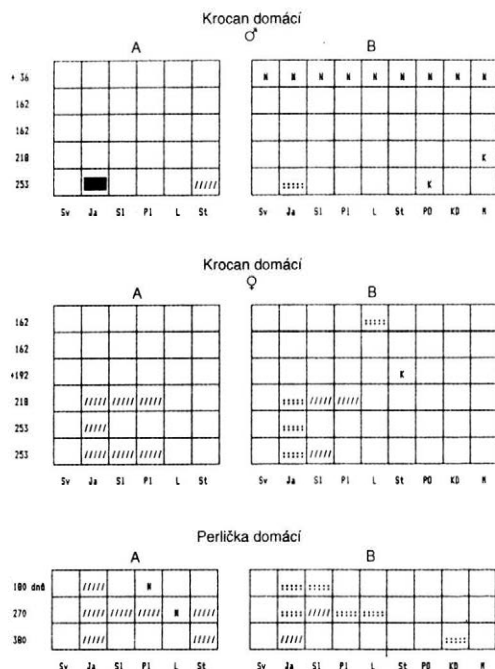
A	
□	beze změn – without changes
.....	histologické změny – histological changes
////	izolované tbc změny – isolated tuberculous changes
■	miliární tbc – miliar tuberculosis
■	nevyšetřeno – unexamined
*	úhyn – mortality

Sv = sval – muscle
Ja = játra – liver
Sl = slezina – spleen
Pl = plice – lungs
L = ledviny – kidneys
St = střevo – intestine
PO = pohlavní orgány – sexual organs
KD = kostní dřeň – bone marrow
M = mozek – brain

B	
□	negativní – negative
.....	do 20 kolonií – up to 20 colonies
////	nad 20 kolonií – above 20 colonies
■	souvislý porost – continuous stand
■	nevyšetřeno – unexamined
K	kontaminace – contamination

A = dynamika vývoje patologicko-anatomických a histologických tbc změn – dynamics of development of patho-anatomic and histological tuberculous changes
B = kultivační vyšetření – cultivation examination

dnů – days, krocana domácí – turkey, perlička domácí – guinea fowl



3. Výsledky patologickoanatomického, histologického a kultivačního vyšetření krocana a perličky, infikovaných kontaktem s TBC kurem – The results of patho-anatomic, histological and cultivation examinations of the turkey and guinea fowl infected by a contact with TBC fowl

Kultivaci se podařilo prokázat ojediněle mykobakterie za 106 dnů ze sleziny a plic a i později byl pouze nepravidelný záchyt z jater, sleziny a plic. Opět o něco častěji u krůt než u krocánů. U perličky po 160 dnech byly izolované tuberkulózní změny v játrech, slezině a střevech, histologické změny v plicích, později i ve svalu. Kultivace po 160 dnech byla rovněž pozitivní, zejména hojný průkaz mykobakterií byl z jater, sleziny a plic.

Po kontaktu s tuberkulózním kurem (obr. 3) byly u krůt nalézány izolované tuberkulózní změny v játrech, slezině a plicích od 218. dne, u krocana za 253 dnů v játrech a ve střevech. Kultivace, pokud pomineme ojedinělý nález z ledvin za 162 dnů, byla pozitivní od 218. dne (u krůt), resp. od 253. dne (u krocana), přičemž častější a hojnější byl průkaz mykobakterií u krůt než u krocánů. U perličky byly patrné po 180 dnech izolované tuberkulózní změny v játrech, po 270 dnech i ve slezině, plicích a ve střevech. Kultivací byly prokazovány z postižených tkání mykobakterie v menších počtech.

DISKUSE

Experimentálními infekcemi jsme chtěli ověřit vnímavost krocana domácího a perličky domácí k *M. avium*. S podobnými pokusy jsme se v odborné literatuře

nesetkali. Oba druhy jsou chováni spíše ojedinele a malých počtech, proto je i málo poznatků o jejich onemocnění v přirozených podmínkách. Ve svých pokusech jsme prokázali, že krocen a perlička jsou vnímaví k *M. avium* při různých způsobech infekce. Soudě podle nástupu tuberkulózních změn i výsledků kultivace je jejich vnímavost nižší než např. u kura domácího (Hejlíček aj., 1995) nebo bažanta kolchického (Hejlíček a Tremel, 1993). V porovnání s husou domácí a kachnou domácí (Hejlíček a Tremel, 1995) se však krocen a perlička častěji infikují a vytvoří dříve tuberkulózní procesy. Lze tedy krocana a perličku označit za středně vnímavé k *M. avium*. Konstatování, že tuberkulóza perličky je považována za méně časté onemocnění, je podmíněno zřejmě tím, že perlička je dnes chována ještě méně často než krocen. Jinak výsledky pitevních vyšetření potvrdily poznatky Wilsona (1960), že u krocana jsou tuberkulózou napadány často i plíce. Mohli jsme též potvrdit pozorování autorů Eber (1924) a Hinshaw (1932), že u krocana jsou tuberkulózou postižována nejčastěji játra, pak slezina, plíce a střevo. Změny ve střevech jsme našli u krocana jak po perorální, tak po kontaktní infekci. Znamená to tedy, že krocen může být i nebezpečným zdrojem aviárních mykobakterií pro své okolí. Při srovnání výsledků všech tří způsobů infekce u krocana a krůty jsme mohli stejně jako Eber (1924) u přirozeně infikovaných ptáků potvrdit výrazně vyšší vnímavost u krůty. Rovněž u perličky jsme pozorovali vedle jater a sleziny časté postižení tuberkulózou plic a střev. Také perličku infikovanou tuberkulózou nutno považovat za možného šíitele *M. avium* do prostředí.

LITERATURA

- EBER, A.: Die Tuberkulose des Hausgeflügel. Zschr. Infektionskr., 25, 1924: 145–175. In: FELDMAN, W. H.: Avian tuberculosis infections. 1938: 223–245.
- EBER, A. – PALLASKE-EBER, R.: Die durch Obduktion feststellbare Geflügelkrankheiten. Hannover, Verlag von M. D. H. Schöper 1934.
- FELDMAN, W. H.: Avian tuberculosis infection. London/Baillière, Tindall & Cox 1938: 286–292.
- GYLSTORFF, I.: Todesursachenstatistik des Geflügelgesundheitsdienstes Bayern 1948/49 bis 1958/59. Mh. Vet.-Med., 15, 1960: 627–632.
- HEJLÍČEK, K. – TREML, F.: Epizootologie a patogenese aviární mykobakterií bažanta kolchického (*Phasianus colchicus*) a koroptve polní (*Perdix perdix*). Vet. Med. – Czech, 38, 1993: 687–701.
- HEJLÍČEK, K. – TREML, F.: Epizootologie a patogenese aviární mykobakterií husy domácí (*Anser anser f. domestica*) a kachny domácí (*Anas platyrhynchos f. domestica*). Vet. Med. – Czech, 40, 1995: 117–121.
- HEJLÍČEK, K. – TREML, F. – ČERNÝ, L.: Výskyt alergických reakcí v malochovech drůbeže a patogenese aviární mykobakterií kura domácího. Vet. Med. – Czech, 40, 1995: 71–76.

HILLEMARCK, K.: Über Vogeltuberkulose, deren Frequenz und rolle als Austeckungsquelle. Skand. Vet.-Tidskr., 30, 1940: 918–931. In: Jb. Vet.-Med., 68, 1941: 235.

HINSHAW, W. R. – NIEMANN, K. W. – BUSIC, W. H.: Studies of tuberculosis of turkeys. J. Amer. Vet. Med. Assoc., 80, 1932: 756–777.

HOYBRATEN, P.: Tuberkuloseinfektion hos fugler. Nord. Vet.-Med., 11, 1959: 689.

HUITEMA, H. – VLOTEN, VAN, J.: Aviare tuberculose. Tijdschr. Diergeneesk., 84, 1959: 6–30.

JEGOŠIN, L. S. – ŠERGIN, J. K.: Tuberkulez cazarok. Bolezni ptic. Tr. Vsesojuz. Nauč. Inst. Parazit. bolezni (Leningrad), 2, 1966: 28–37.

KRONBERGER, H.: Befunde bei Geflügelsektionen. Mh. Vet.-Med., 15, 1960: 197–202.

URBAIN, A. – BULIER, P. – PASQUIER, M. A.: Nouvelles observations de tuberculose sur des mammifères et des oiseaux exotiques vivant en captivité. Bull. Acad. Vét. Fr., 15, 1942: 138–143.

WILSON, J. E.: Avian tuberculosis: An account of disease in poultry, captive birds and wild birds. Brit. Vet. J., 116, 1960: 380–393.

Surveillance antropozoonóz ČR. Pardubice, SVS, ÚVO 1988.

Došlo 19. 5. 1994

Kontaktní adresa:

Doc. MVDr. František Tremel, CSc., Veterinární a farmaceutická univerzita, Palackého 1–3, 612 42 Brno, Česká republika
Tel. 05/41 32 11 07, fax 05/41 21 12 41

Ústav vědeckých a potravinářských informací Praha

vydává

z pověření České akademie zemědělských věd celkem 10 vědeckých časopisů, které uveřejňují původní vědecké práce o výzkumných úkolech v odvětví zemědělství, potravinářství a lesnictví, vědecká pojednání, studie a přehledy zahraniční literatury o vědeckých problémech. Časopisy jsou určeny především pracovníkům výzkumné základny, vysokých škol, vedoucím pracovníkům, odborníkům ve šlechtitelství a semenářství, plemenářství, ochraně rostlin, veterinářství, vývojových pracovištích zemědělské techniky, zemědělských staveb aj.

Rostlinná výroba (*Plant Production*)

Měsíčník, formát A4, počet stran 48, předplatné: celoroční Kč 468,-, jednotlivá čísla Kč 39,-

Živočišná výroba (*Animal Production*)

Měsíčník, formát A4, počet stran 48, předplatné: celoroční Kč 468,-, jednotlivá čísla Kč 39,-

Zemědělská ekonomika (*Agricultural Economics*)

Měsíčník, formát A4, počet stran 48, předplatné: celoroční Kč 468,-, jednotlivá čísla Kč 39,-

Lesnictví – Forestry

Měsíčník, formát A4, počet stran 48, předplatné: celoroční Kč 468,-, jednotlivá čísla Kč 39,-

Veterinární medicína (*Veterinary Medicine – Czech*)

Měsíčník, formát A4, počet stran 32, předplatné: celoroční Kč 396,-, jednotlivá čísla Kč 33,-

Potravinářské vědy (*Food Sciences*)

Dvouměsíčník, formát A5, počet stran 80, předplatné: celoroční Kč 220,-, jednotlivá čísla Kč 35,-

Zemědělská technika (*Agricultural Engineering*)

Čtvrtletník, formát A4, počet stran 40, předplatné: celoroční Kč 140,-, jednotlivá čísla Kč 35,-

Ochrana rostlin (*Plant Protection*)

Čtvrtletník, formát A5, počet stran 80, předplatné: celoroční Kč 140,-, jednotlivá čísla Kč 35,-

Genetika a šlechtění (*Genetics and Plant Breeding*)

Čtvrtletník, formát A5, počet stran 80, předplatné: celoroční Kč 140,-, jednotlivá čísla Kč 35,-

Zahradnictví (*Horticultural Science*)

Čtvrtletník, formát A4, počet stran 32, předplatné: celoroční Kč 128,-, jednotlivá čísla Kč 33,-

Objednávku zašlete na adresu: Ústav zemědělských a potravinářských informací

Slezská 7

120 56 Praha 2

POKYNY PRO AUTORY

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

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

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

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

Vlastní úprava rukopisu má odpovídat státní normě ČSN 88 0220 (formát A4, 30 řádek na stránku, 60 úhozů na řádku, mezi řádky dvojité mezery). Tabulky, grafy a fotografie se dodávají zvlášť, nepodlepují se. Na všechny přílohy musí být odkazy v textu.

Název práce (titul) nemá přesáhnout 85 úhozů. Je nutné vyvarovat se v něm obecných názvů. Jsou vyloučeny podtitulky článků.

Krátký souhrn (Abstrakt) je informačním výběrem obsahu a závěru článku, nikoliv však jeho pouhým popisem. Musí vyjádřit všechno podstatné, co je obsaženo ve vědecké práci, a má obsahovat základní číselné údaje včetně statistických hodnot. Nemá překročit rozsah 170 slov. Je třeba, aby byl napsán celými větami, nikoliv heslovitě. Je uveřejňován a měl by být dodán ve stejném jazyce jako vědecká práce.

Rozšířený souhrn (Abstract) je uveřejňován v angličtině, měly by v něm být v rozsahu cca 2 strojopisných stran komentované výsledky práce a uvedeny odkazy na tabulky a obrázky, popř. na nejdůležitější literární citace. Je nutné jej (včetně názvu práce a klíčových slov) dodat v angličtině, popř. v češtině či slovenštině jako podklad pro překlad do angličtiny.

Úvod má obsahovat hlavní důvody, proč byla práce realizována a velmi stručnou formou má být popsán stav studované otázky.

Literární přehled má být krátký, je třeba uvádět pouze citace mající úzký vztah k problému. Doporučuje se co nejnižší počet citovaných autorů.

Metoda se popisuje pouze tehdy, je-li původní, jinak postačuje citovat autora metody a uvádět jen případné odchylky. Ve stejné kapitole se popisuje také pokusný materiál.

Výsledky – při jejich popisu se k vyjádření kvantitativních hodnot dává přednost grafům před tabulkami. V tabulkách je třeba shrnout statistické hodnocení naměřených hodnot. Tato část by neměla obsahovat teoretické závěry ani dedukce, ale pouze faktické nálezy.

Diskuse obsahuje zhodnocení práce, diskutuje se o možných nedostatcích a práce se konfrontuje s výsledky dříve publikovanými (požaduje se citovat jen ty autory, jejichž práce mají k publikované práci bližší vztah). Je přípustné spojení v jednu kapitolu spolu s výsledky.

Literatura musí odpovídat státní normě ČSN 01 0197. Citace se řadí abecedně podle jména prvních autorů. Odkazy na literaturu v textu uvádějí jméno autora a rok vydání. Do seznamu se zařadí jen práce citované v textu. Na práce v seznamu literatury musí být odkaz v textu.

Na zvláštním listě uvádí autor plné jméno (i spoluautorů), akademické, vědecké a pedagogické tituly a podrobnou adresu pracoviště s PSČ, číslo telefonu a faxu.

Pokud autor používá v práci zkratky jakéhokoliv druhu, je nutné, aby byly alespoň jednou vysvětleny (vypsány), aby se předešlo omylům. V názvu práce a v souhrnu je vhodné zkratky nepoužívat.

INSTRUCTIONS FOR AUTHORS

Original scientific papers, short communications, and selectively reviews, that means papers based on the study of technical literature and reviewing recent knowledge in the given field, are published in this journal. Published papers are in Czech, Slovak or English. Each manuscript must contain a short and a longer summary.

The author is fully responsible for the originality of his paper, for its subject and formal correctness. The author shall make a written declaration that his paper has not been published in any other information source.

The board of editors of this journal will decide on paper publication, with respect to expert opinions, scientific importance, contribution and quality of the paper.

The paper extent shall not exceed ten typescript pages, including tables, figures and graphs.

Manuscript layout shall correspond to the State Standard ČSN 88 0220 (quarto, 30 lines per page, 60 strokes per line, double-spaced typescript). Tables, figures and photos shall be enclosed separately. The text must contain references to all these annexes.

The **title** of the paper shall not exceed 85 strokes. It is necessary to avoid in the title the usage of common expressions. Subtitles of the papers are not allowed either.

Abstract is an information selection of the contents and conclusions of the paper, it is not a mere description of the paper. It must present all substantial information contained in the paper. It shall not exceed 170 words. It shall be written in full sentences, not in form of keynotes, and comprise base numerical data including statistical data. It should be submitted in English and if possible also in Czech or Slovak.

Introduction has to present the main reasons why the study was conducted, and the circumstances of the studied problems should be described in a very brief form.

Review of literature should be a short section, containing only literary citations with close relation to the treated problem. It is recommended to cite the lowest possible number of authors.

Only original method shall be described, in other cases it is sufficient enough to cite the author of the used method and to mention modifications of this method. This section shall also contain a description of experimental material.

In the section **Results** figures and graphs should be used rather than tables for presentation of quantitative values. A statistical analysis of recorded values should be summarized in tables. This section should not contain either theoretical conclusions or deductions, but only factual data should be presented here.

Discussion contains an evaluation of the study, potential shortcomings are discussed, and the results of the study are confronted with previously published results (only those authors whose studies are in closer relation with the published paper should be cited). The sections Results and Discussion may be presented as one section only.

The citations are arranged alphabetically according to the surname of the first author. References in the text to these citations comprise the author's name and year of publication. Only the papers cited in the text of the study shall be included in the list of references. All citations shall be referred to in the text of the paper.

If any abbreviation is used in the paper, it is necessary to mention its full form at least once to avoid misunderstanding. The abbreviations should not be used in the title of the paper nor in the summary.

The author shall give his full name (and the names of other collaborators), academic, scientific and pedagogic titles, full address of his workplace and postal code.

CONTENTS

Mařa P., Baranová M.: Finds of sarcocystiosis in slaughter animals during veterinary inspection	97
Naď P., Bířšová M., Legát J.: The effects of feeding emissions from a metal-producing plant upon the immune system of sheep	101
Vřzgulová M., Vřzgula L., Bířš J.: Morphological picture of the testes of breeding rams after experimental load with copper-containing industrial emissions	105
Křřžek M.: Possible ways of affecting biogenic amine content in silages	111
Heřlřček K., Tremř F.: Pathogenesis of avian mycobacteriosis in the goose (<i>Anser anser f. domestica</i>) and duck (<i>Anas platyrhynchos f. domestica</i>)	117
Heřlřček K., Tremř F.: Pathogenesis of avian mycobacteriosis of the turkey (<i>Meleagris gallopavo f. domestica</i>) and guinea fowl (<i>Numida meleagris f. domestica</i>)	123

VETERINÁRNÍ MEDICÍNA

OBSAH

Mařa P., Baranová M.: Záchytnost' sarkocystózy u jatočných zvířat při veterinářnej prehľadke	97
Naď P., Bířšová M., Legát J.: Vplyv skrmovania priemyselnej emisie z kovohut na imunitný systém u oviec	101
Vřzgulová M., Vřzgula L., Bířš J.: Morfológický obraz semenníkov plemenných baranov po experimentálnej zářaži priemyselnou emisiou s obsahom meďi	105
Křřžek M.: Možnosti ovlivnění obsahu biogenních aminů v silážích	111
Heřlřček K., Tremř F.: Patogeneze aviární mykobakteriízy husy domácí (<i>Anser anser f. domestica</i>) a kachny domácí (<i>Anas platyrhynchos f. domestica</i>)	117
Heřlřček K., Tremř F.: Patogeneze aviární mykobakteriízy křocana domácího (<i>Meleagris gallopavo f. domestica</i>) a perříčky domácí (<i>Numida meleagris f. domestica</i>)	123