

ÚZPI

ÚSTAV ZEMĚDĚLSKÝCH A POTRAVINÁŘSKÝCH INFORMACÍ

VETERINÁRNÍ MEDICÍNA

Veterinary Medicine – Czech

ČESKÁ AKADEMIE ZEMĚDĚLSKÝCH VĚD

6

VOLUME 40 (LXVIII)
PRAHA
JUNE 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 Hoffrek, 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., Jílové 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).

DETECTION OF KAPPA-CASEIN GENOTYPES IN BULLS OF CATTLE BREEDS BY RESTRICTION FRAGMENT LENGTH POLYMORPHISM (RFLP)

DETEKCIA GENOTYPU KAPA-KAZEÍNU U BÝKOV HOVÄDZIEHO DOBYTKA NA ZÁKLADE POLYMORFIZMU DĹŽKY REŠTRIKČNÝCH FRAGMENTOV (RFLP)

J. Banykó¹, Zs. Bösze²

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

² *Research Centre of Agricultural Biotechnology, Institute of Animal Biotechnology, Gödöllő, Hungary*

ABSTRACT: Genetic analysis of RFLP was used for detection of genotype and allele frequencies of kappa-casein in Slovakian Spotted (60 bulls) and Slovakian Pinzgau (22 bulls) cattle breeds, according to the method of Medrano et al. (1990). DNA was prepared from the semen of animals. In the Slovakian Spotted breed the frequencies of alleles were as follows: kappa-Cn^A = 0.666, kappa-Cn^B = 0.333. The frequencies of kappa-Cn A/A, A/B and B/B genotypes were 45.00, 43.33 and 11.66, respectively. In the 22 tested Pinzgau bulls, the frequencies of the A and B alleles were 0.682 and 0.318, respectively. The percentual occurrence of genotypes was also determined: 54.54 (kappa-Cn A/A), 27.27 (kappa-Cn A/B) and 18.18 (kappa-Cn B/B). Comparing our own results with those of Mácha et al. (1968), who carried out the analysis of distribution of the kappa-casein genetic variants in the same cattle breeds by starch gel electrophoresis of the milk samples of 170 cows (Tab. I), the 16 p.c. decrease of the allele B in the Slovakian Spotted cattle, lasting about 30 years, is very remarkable. The occurrence of homozygous genotype BB decreased by 35 p.c. In addition, the homozygous genotype AA increased by about 18 p.c., and the occurrence of heterozygous genotype is also higher by nearly 17 p.c. In the same comparison of the Slovakian Pinzgau breed, no difference was estimated in the allele frequencies of kappa-Cn (Tab. I). An explanation for the decrease of kappa-Cn^B allele frequency in the Slovakian Spotted cattle could be the use of German and Austrian Spotted bulls – breeds, in which a decrease of B alleles was demonstrated (Buchberger, 1990; Foissy et al., 1974; Mayer et al., 1991) – instead of the original Slovakian breed in the breeding work.

restriction fragment length polymorphism; polymerase chain reaction; kappa-casein; allele frequencies; Slovakian Spotted cattle; Slovakian Pinzgau cattle; breeding bull

ABSTRAKT: Na stanovovanie genotypu a frekvencií alel kapa-kazeínu (kapa-Cn) u plemenných býkov slovenského strakatého (60 zvierat) a slovenského pinzgauského dobytká (22 zvierat) bola použitá genetická analýza polymorfizmu dĺžky reštrikčných fragmentov podľa autorov Medrano a Aguilar-Cordova (1990), so zameraním na detekciu najviac rozšírených alel kapa-kazeínu A a B. DNA bola preparovaná zo spermií býkov. U slovenského strakatého dobytká sme zistili následovné zastúpenie alel: kapa-Cn^A = 0,666; kapa-Cn^B = 0,333. Frekvencia genotypov bola 45,00 (kapa-Cn A/A); 43,33 (kapa-Cn A/B) a 11,66 (kapa-Cn B/B). U slovenského pinzgauského dobytká boli stanovené takéto frekvencie alel: kapa-Cn^A = 0,682; kapa-Cn^B = 0,318, pričom sme vyrátali aj percentuálne zastúpenie genotypov: 54,54 (kapa-Cn A/A); 27,27 (kapa-Cn A/B) a 18,18 (kapa-Cn B/B). Tieto výsledky u slovenského strakatého dobytká naznačujú znižovanie počtu jedincov s genotypom kapa-Cn B/B.

polymorfizmus dĺžky reštrikčných fragmentov; polymerázová reťazová reakcia; kapa-kazeín; frekvencia alel; slovenský strakatý dobytok; slovenský pinzgauský dobytok; plemenný býk

ÚVOD

Hlavnú bielkovinnú zložku (až 80 %) kravského mlieka tvoria štyri druhy kazeínov (α_{S1} -, α_{S2} -, beta- a kapa-kazeín). Ich prevážna časť (90 %) je súčasťou

micelárnej štruktúry, tvorenej pomocou $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$. Všetky proteíny mlieka sú polymorfné, pričom heterogénitu kazeínov ešte stupňuje ich neúplná O-fosforylácia, O-glykozylácia kapa-kazeínu a čiastočná proteolýza plazmínom (Mercier a i., 1993).

Kapa-kazeín, ktorý je rozpustný v širokom rozmedzí koncentrácie vápnikových iónov prítomných v mlieku, zohráva dôležitú úlohu pri ochrane ostatných kalcium senzitívnych kazeínov pred precipitáciou (Waugh a i., 1956). Táto jeho schopnosť sa zvyšuje podielom uhľohydrátov, ktoré sa na molekulu viažu prevážne cestou O-glykozylácie (Mercier a i., 1982).

Doterajšie výsledky nasvedčujú tomu, že lokusy mliečnych proteínov majú vzťah k spracovateľským vlastnostiam mlieka, pričom tieto vlastnosti súvisia s primárnou sekvenciou a celkovou štruktúrou bielkovín. V porovnaní s variantom A, variant B kapa-kazeínu koreluje s vyšším obsahom celkových proteínov (o 0,15–3 %) a samotného kapa-kazeínu v mlieku (Kroeker a i., 1985; McLean a i., 1984). Zvýšený obsah kapa-kazeínu má za následok prítomnosť menších micél, ktoré pozitívne ovplyvňujú vlastnosti syrenia a syreniny, aj redukciu obsahu tuku v sére (Schaar, 1984). U mlieka s obsahom kapa-kazeínu typu B/B je doba koagulácie (v porovnaní s typom A/A) kratšia až o 24 % (Rahali a Ménard, 1991), konzistencia syreniny pevnejšia o 37 % (Marziali a Ng-Kwai-Hang, 1986a; Rahali a Ménard, 1991) a o 5–10% je väčšia výťažnosť finálneho produktu (Marziali a Ng-Kwai-Hang, 1986b). Popisovali aj lepšie degustačné vlastnosti syrov (Morini a i., 1979).

Polymorfizmus kazeínových génov je v dôsledku vysokej úrovne bodových mutácií, ale aj delécií a inzercií (Rogne a i., 1989). Rozdiel medzi dvomi najrozšírenejšími typmi kapa-kazeínu A a B je v substitúcii aminokyselín v pozícii 136. a 148. Tranzícia resp. transverzia v kodónoch zodpovedajúcich aminokyselinám v týchto pozíciách majú za následok zmenu treonínu na hydrofóbnejší izoleucín, resp. objavenie hydrofóbneho alanínu v mieste pôvodnej kyseliny asparágovej. V dôsledku týchto zmien B variant kapa-kazeínu je hydrofóbnejší ako variant A. Takéto zmeny nukleotidov tiež zapríčínujú zisk alebo stratu reštrikčných sekvencií (Damiani a i., 1990).

Cieľom našej práce bolo zistenie alelových a genotypových frekvencií kapa-kazeínu u slovenských plemien hovädzieho dobytku a poukázať na praktickú a spoľahlivú detekčnú metódu na úrovni molekulárnej genetiky, ktorá umožňuje analýzy takéhoto druhu u oboch pohlaví zvierat.

MATERIÁL A METÓDA

Hlboko zmrazované spermie 82 plemenných býkov pochádzajú od plemena slovenský strakatý dobytok (60 jedincov) a slovenský pinzgaušský dobytok (22 jedincov). Zmrazované inseminačné dávky pochádzali z plemenárskych staníc v Milhostove, Považskej Bystrici, Zvolene a Lužianách.

Ejakulát objemu jednej inseminačnej dávky sme štyrikrát premývali fosfátovým tlmivým fyziologickým roztokom (PBS). Suspendovali v zmesi 100 µl PBS

a 400 µl pufru zloženia 2% merkaptotanol; 10 mM EDTA, pH 8,0; 10 mM Tris, pH 8,0; 100 mM NaCl; 0,5 % SDS). Bielkoviny boli natrávené proteinázou K (Merck), 20 mg/ml, po dobu 4 hodín pri teplote 51 °C. Po extrakcii zmesou fenol/chloroform a chloroform/izoamylalkohol DNA bola vyzrážaná etanolom. K amplifikácii 350 bp fragmentu génu kapa-Cn sme použili asi 25 ng genomálnej DNA v celkovom objeme 50 µl reakčnej zmesi. Postupovali sme podľa metódy autorov Medrano a Aguilar-Cordova (1990), modifikovanej nasledovne:

Zloženie reakčnej zmesi pre polymerázovú reťazovú reakciu (PCR): 5 µl PCR 10x pufer, (Amersham); 200 µM dNTP mix (Perkin Elmer); 2 mM MgCl₂ (Promega); 1 jednotka Taq DNA polymerázy (Amersham); 1 µM oligonukleotidov JK501 a JK302 (nasyntetizovaných na Ústave výskumu bielkovín Poľnohospodárskeho biotechnologického výskumného strediska, Gödöllő, Maďarsko):

JK 501: 5'-ATCATTTATGGCCATTCCACCAAAG-3'
25 báz,

JK 302: 5'-AGACAATGTCTCTTCCGCTTACCCG-3'
26 báz.

Po tepelnej denaturácii DNA (10 min) amplifikácia génového fragmentu bola urobená na prístroji Thermal cycler (Perkin Elmer), za takýchto podmienok:

denaturácia: 94 °C, 1 min

hybridizácia primerov: 55 °C, 1 min

extenzia primerov: 72 °C, 1 min

počet cyklov: 32

Genotyp kapa-kazeínu bol určovaný použitím enzýmu HinfI. Zmena v pozícii 148 zruší reštrikčnú sekvenciu pre HinfI v kapa-Cn B, ktorá je ale prítomná v kapa-Cn A. Preto alela B je štiepená na dva fragmenty (266 bp a 84 bp), kým alela A na tri (134 bp, 132 bp, 84 bp). U heterozygotov sú prítomné všetky štyri fragmenty. 40 µl amplifikovanej DNA sme natrávili 10 µl HinfI (Amersham) nariedeného v pufrí H (Boehringer) na 0,6 jednotiek/µl.

Fragmenty rôznych dĺžok sme detegovali v 3% agarózovom géle (NuSieve GTG, FMC), sfarbenom etídiumbromidom (Merck).

VÝSLEDKY A DISKUSIA

Percentuálne genotypové frekvencie u slovenského strakatého dobytku boli 45,00 (kapa-Cn A/A); 43,33 (kapa-Cn A/B) a 11,66 (kapa-Cn B/B). Získali sme takéto frekvencie alel: 0,666 (kapa-Cn^A) a 0,333 (kapa-Cn^B). U plemena slovenský pinzgaušský dobytok frekvencia genotypov bola nasledovná: 54,54 (kapa-Cn A/A); 27,27 (kapa-Cn A/B) a 18,18 (kapa-Cn B/B). Frekvencia alel: 0,681 (kapa-Cn^A) resp. 0,318 (kapa-Cn^B).

Ak tieto údaje porovnávame s výsledkami autorov Mácha a Müllerová (1968), ktorí analýzu distribúcie variantov kapa-kazeínu robili pomocou elektroforézy bielkovín v škrobovom géli, je veľmi pozoruhodné, že za necelých 30 rokov u slovenského

strakatého dobytku došlo k 16% strate alely B, čo u homozygotného genotypu činí až 35% pokles. Kým u homozygotov A/A došlo k skoro 18% nárastu, percentuálny podiel heterozygotov je tohto času vyšší takmer o 17 %. Pri takomto porovnávaní výsledkov u plemena slovenský pinzgauský dobytok s výsledkami, ktoré u rovnakého plemena zistili Mácha a Müllerová (1968), vo frekvencii alel nebol zistený rozdiel (autori vo svojej práci uvádzajú plemeno s označením pinzgauské), avšak vzhľadom na nízky počet našich vzoriek, výsledky ani nie sú štatisticky porovnateľné.

Všetky tieto zmeny sa dajú vysvetliť najskôr ako výsledok selekčného tlaku. Možnosť zmien vo frekvencii alel u určitého plemena presvedčivo potvrdzujú výsledky autorov Graml a i. (1984) a Buchberger (1990), ktorí poukazujú na to, že v skúmanej populácii bavorského strakatého dobytku (fleckvieh) v priebehu 16 rokov výskyt alely kapa-CnA = 0,63 (rok 1974) narástol cez 0,687 (rok 1984) na hodnotu 0,75 (rok 1990). Popritom v zastúpení alely kapa-CnB došlo k 12% poklesu. K podobnému výsledku dospejeme na základe porovnania výsledkov autorov Foissy a Winterer (1975)

a Mayer a i. (1991), ktorí sledovali frekvencie alel kapa-kazeínu u plemena rakúske strakaté. Ich údaje sú zaradené do tab. I, pričom môžeme konštatovať 11% pokles frekvencie alely B kapa-kazeínu. Tieto zmeny autori vysvetľujú ako dôsledok prekrižovania pôvodných plemien hovädzieho dobytku s plemenami s typicky vysokým výskytom alely kapa-CnA (napr. holštajnsko-frízskymi: „holštajnzácia“). Pokiaľ ide o presné príčiny nášho zistenia, v tomto smere zatiaľ zo strany šľachtiteľov nemáme informácie. Je potrebné ešte dodať, že pôvodná práca autorov Mácha a Müllerová (1968) bola robená s troj- až sedemnásobným počtom pokusných zvierat. Lin a i. (1992) pripúšťajú možnosť existencie rozdielov vo frekvenciách alel mliečnych proteínov podľa pohlavia zvierat. Je zaujímavé, že výsledky práce Mácha (1992), kde bola robená analýza na 148 kravách slovenského strakatého dobytku, naznačujú (ak to porovnávame s údajmi jeho práce z roka 1968) určité nie veľmi výrazné zmeny vo frekvencii alel kapa-kazeínu, a to tiež v prospech alely A.

V tab. I uvádzame prehľad výskytu alelových frekvencií kapa-kazeínu u plemien majúcich fylogenetickú

I. Literárny prehľad frekvencií alel kapa-kazeínu u niektorých plemien hovädzieho dobytku simentalského a pinzgauského typu, zisťované rôznymi metodami (naše výsledky sú zarámované) – Allele frequencies of kappa-casein in Simmental and Pinzgau cattle breeds from the literature as determined by various methods (our own results in the frame)

Plemeno ¹	Metóda ²	Počet zvierat ³	Variant ⁴		
			A	B	C
Slovenské strakaté⁵	RFLP	60	0,666	0,333	nz
a) Slovenské strakaté	EFB	170,0	0,506	0,494	nz
b) Slovenské strakaté	EFB	148	0,52	0,48	nz
c) Rakúske strakaté ⁶	EFB	420	0,588	0,412	nz
d) Rakúske strakaté	EFB	609	0,695	0,305	nz
e) Rakúske strakaté	RFLP	131	0,73	0,27	nz
f) Rakúske strakaté	RFLP	72	0,73	0,27	nz
g) Bavorské strakaté ⁷	IEF	332	0,63	0,36	–
h) Bavorské strakaté	EFB	2 262	0,687	0,313	nz
g) Bavorské strakaté	IEF	620	0,75	0,25	–
i) Nemecké strakaté ⁸	IEF	378	0,759	0,224	0,017
j) Maďarské strakaté ⁹	IEF	101	0,75	0,22	0,03
k) České strakaté ¹⁰	EFB	611	0,53	0,47	nz
l) České strakaté	EFB	337	0,57	0,43	nz
Slovenské pinzgauské¹¹	RFLP	22	0,682	0,318	nz
a) Pinzgauské ¹²	EFB	148	0,682	0,318	nz
b) Pinzgauské	EFB	209	0,68	0,32	nz
d) Rakúske pinzgauské ¹³	EFB	198	0,745	0,255	nz
m) Rakúske pinzgauské	RFLP	50	0,72	0,27	nz
n) Bavorské pinzgauské ¹⁴	EFB	249	0,58	0,42	nz

a) Mácha a Müllerová, 1968; b) Mácha, 1992; c) Foissy a Winterer, 1975; d) Mayer a i., 1991; e) Schellander, 1992; f) Mayr, 1992; g) Buchberger, 1990; h) Graml, 1984; i) Erhardt, 1993; j) Baranyi a i., 1992; k) Mácha a i., 1967 (cit. Mácha a Müllerová, 1968); l) Glasnák, 1967 (cit. Mácha a Müllerová, 1968); m) Mayr a i., 1992; n) Buchberger a i., 1986

IEF = izoelektrická fokusácia – isoelectric focusing, EFB = elektroforéza bielkovín – protein electrophoresis, nz = nezisťované – not determined

¹name of breeds, ²method, ³number of animals, ⁴variant of kappa-Cn, ⁵Slovakian Spotted, ⁶Austrian Spotted, ⁷Bavarian Spotted, ⁸German Spotted, ⁹Hungarian Spotted, ¹⁰Bohemian Spotted, ¹¹Slovakian Pinzgau, ¹²Pinzgau, ¹³Austrian Pinzgau, ¹⁴Bavarian Pinzgau

ký vzťah k slovenskému strakatému a pinzgauškému dobytku. Naše výsledky frekvencií alel kapa-kazeínu sú najbližšie k frekvenciám alel, zistené u bavorského a rakuského strakatého dobytku. Je to plemeno (fleckvieh), ktoré v súčasnosti miestami u nás nahrádza v plemenitbe býkov pôvodného slovenského strakatého dobytku. Znižovanie výskytu alely kapa-Cn^B u slovenského strakatého dobytku by sa dalo čiastočne vysvetliť práve týmto javom, t. j. „importujeme“ aj posuny v génových frekvenciách.

Keďže selekcia mliečnych typov hovädzieho dobytku sa zakladá výlučne na kvantitatívnych vlastnostiach, kontrolovaných viacerými lokusmi, zlepšenie takýchto vlastností je relatívne pomalé. Avšak génové techniky, ako RFLP a PCR umožňujú identifikáciu genotypu mliečnych proteínov u oboch pohlaví zvierat v ľubovoľnom veku, tým genotyp kapa-kazeínu môže predstavovať priame ekonomické selekčné kritérium pre zlepšenie priemyselnej produkcie syrov, resp. mlieka (Zadworny a Kühnlein, 1990). Favorizovanie B typu kapa-kazeínu (spolu s β -laktoglobulínom B) je ekonomicky výhodné predovšetkým pre krajiny, kde veľká časť produkovaného mlieka ide na spracovávanie na sýry, zvlášť tvrdé (Bovenhuis, 1992). Priamú selekciu na kapa-kazeín B jednoznačne zvyšuje frekvenciu zodpovedajúcej alely, pričom skoršia identifikácia genotypu zvierat na kapa-kazeín urychľuje šľachtiteľský proces. V súčasnosti svetový mliekárenský priemysel pohybuje v smere vytvorenia systému cenovej diferenciácie mliečnych komponentov, tým šľachtenie na vysoký obsah a kvalitu proteínov mlieka získava väčšiu dôležitosť aj z hľadiska ekonomiky a výživy.

Záverom môžeme konštatovať, že u plemenných býkov dvoch slovenských plemien hovädzieho dobytku frekvencie alely B kapa-kazeínu pohybuje v rozmedzí 32–33 %, čo v prípade slovenského strakatého dobytku – v porovnaní s údajmi z uplynulých rokov – predstavuje výrazné znižovanie výskytu.

LITERATÚRA

BARANYI, M. – BÖSZE, ZS. – BUCHBERGER, J. – KRAUSE, I.: Investigation of milk protein genetic polymorphism in Hungarian Spotted and Hungarian Grey cattle breeds. *Állatt Takarm.*, 41, 1992: 427–439.

BOVENHUIS, H.: The relevance of milk protein polymorphism for dairy cattle breeding. [Doctoral thesis.] Wageningen 1992. – Agricultural University.

BUCHBERGER, J.: Beeinflusst die Züchtung den technologischen Wert der Milch? *Dtsch. Milchwirtsch.*, 42, 1990: 1420–1423.

BUCHBERGER, J. – GRAML, R. – KLOSTERMEYER, H.: Genfrequenzen der Milchproteine beim bayerischen Gelbvieh, beim Pinzgauer und beim Murnau-Werdenfelser Rind. *Bayer. Landwirtsch. Jb.*, 63, 1986: 267–272.

DAMIANI, G. – FERRETTI, L. – ROGNONI, G. – SGARAMELLA, V.: Restriction fragment length polymorphism

analysis of the kappa-casein locus in cattle. *A. Genetics*, 21, 1990: 107–114.

ERHARDT, G.: Allele frequencies of milk proteins in German cattle breeds and demonstration of α S2-casein variants by isoelectric focusing. *Arch. Tierz. Dummerstorf*, 2, 1993: 145–152.

FOISSY, H. – WINTERER, H.: Genetische Varianten der Milchproteine bei österreichischem Fleckvieh. *Österr. Milchwirtschaft, Wiss. Beil.*, 30, 1975: 1–14.

GRAML, R. – BUCHBERGER, J. – KIRCHMEIER, O. – KIERMEIER, F. – PIRCHNER, F.: Genfrequenzschätzung bei Milchproteinen des bayerischen Fleckviehs. *Züchtungskunde*, 56, 1984: 73–87.

GROVES, M. L. – DOWER, H. J. – FARRELL, H. M. JR.: Reexamination of the polymeric distribution of kappa-casein isolated from bovine milk. *J. Prot. Chem.*, 11, 1992: 21–28.

KROEKER, E. M. – NG-KWAI-HANG, K. F. – HAYES, J. F. – MOXLEY, E.: Effects of environmental factors and milk protein polymorphism on composition of casein fraction in bovine milk. *J. Dairy Sci.*, 68, 1985: 1752–1757.

LIN, C. Y. – SABOUR, M. P. – LEE, A. J.: Direct typing of milk proteins as an aid for genetic improvement of dairy bulls and cows: a review. *Anim. Breed. Abstr.*, 60, 1992: 1–10.

MÁCHA, J.: Genetická analýza kapa-kazeínu v mliece skotu. *Živoč. Výr.*, 37, 1992: 645–651.

MÁCHA, J. – MÜLLEROVÁ, Ž.: Milk protein polymorphism in different cattle breeds. *Acta Univ. Agric. (Brno)*, 16, 1968: 409–423.

MARZIALI, A. S. – NG-KWAI-HANG, K. F.: Effects of milk composition and genetic polymorphism on coagulation properties of milk. *J. Dairy Sci.*, 69, 1986a: 1793–1798.

MARZIALI, A. S. – NG-KWAI-HANG, K. F.: Relationship between milk protein polymorphisms and cheese yielding capacity. *J. Dairy Sci.*, 69, 1986b: 1193–1201.

MAYER, H. – FOISSY, H. – SCHNEGLBERGER, H.: Genetische Caseinvarianten bei österreichischen Rindrassen. *Milchwirtsch. Ber.*, 108, 1991: 145–153.

MAYR, B. – STIGLHUBER, A. – SCHLEGER, W.: Häufigkeit des A- und B- Allels für kappa-kasein bei österreichischen testtieren der Rasse Fleckvieh, dargestellt mit der Polymerasekettenreaktion (PCR)-technik. *Wien. Tierärztl. Monat.*, 79, 1992: 65–68.

MAYR, B. – SCHELLANDER, K. – SCHLEGER, W.: PCR kappa-casein studies in the cattle breeds Pinzgauer and Alpine Grey in Austria. *Abstr. of Milk protein variants workshop*, Norway, 1992.

McLEAN, D. M. – GRAHAM, E. R. B. – PONZONI, W. – MCKENZIE, H. A.: Effects of milk protein genetic variants on milk yield and composition. *J. Dairy Res.*, 51, 1984: 531–546.

MEDRANO, J. F. – AGUILAR-CORDOVA, E.: Genotyping of bovine kappa-casein loci following DNA sequence amplification. *Bio/Technology*, 8, 1990: 144–146.

MERCIER, J. C. – GAYE, P.: Early events in secretion of main milk proteins: occurrence of precursors. *J. Dairy Sci.*, 65, 1982: 299–316.

MERCIER, J. C. – VILOTTE, J. L.: Structure and function of milk protein genes. *J. Dairy Sci.*, 76, 1993: 3079–3098.

- MERCIER, J. C. – VILOTTE, J. L.: Structure and function of milk protein genes. *J. Dairy Sci.*, 76, 1993: 3079–3098.
- MORINI, D. – LOSI, G. – CASTAGNETTI, G. B. – MARIANI, P.: Properties of ripened cheese in cheesemaking experiments with milk characterized by kappa-casein variants A and B. *Sci. e Tec. Lattierio-casearia*, 30, 1979: 243–262.
- RAHALI, V. – MÉNARD, J. L.: Influence des variants génétiques de la β -lactoglobuline et de la kappa-caséine sur la composition du lait et son aptitude fromagère. *Lait*, 71, 1991: 175–297.
- ROGNE, S. – LIEN, S. – VEGARUD, G. – STEINE, T. – LANGSRUD, T. – ALESTRÖM, P.: A method for kappa-casein genotyping of bulls. *A. Genetics*, 20, 1989: 317–321.
- SCHAAR, J.: Effects of kappa-casein genetic variants and lactation number on the renneting properties of individual milks. *J. Dairy Res.*, 51, 1984: 397–406.
- SHELLANDER, K. – MAYR, B. – KALAT, M.: Genomische Analyse des kappa-Casein-Locus bei österreichischen Zuchtstieren. *J. Anim. Breed. Genet.*, 109, 1992: 331–315.
- WAUGH, D. F. – HIPPEL, P. H.: Kappa-casein and the stabilization of casein micelles. *J. Amer. Chem. Soc.*, 78, 1956: 4576–4582.
- ZADWORNÝ, D. – KÜHNLEIN, U.: The identification of kappa-casein genotype in Holstein dairy cattle using the polymerase chain reaction. *Theor. Appl. Genet.*, 80, 1990: 631–634.

Došlo 2. 9. 1994

Kontaktná adresa:

RNDr. Juraj B a n y k ó, Ústav experimentálnej veterinárnej medicíny, Pri hati 10, 040 01 Košice, Slovenská republika
Tel. 095/633 74 29, fax 095/633 18 53

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 pracovníků 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

EFFECT OF CHRONIC METABOLIC ACIDOSIS ON MIGRATION ACTIVITY OF POLYMORPHONUCLEAR LEUKOCYTES IN SHEEP

VLIV CHRONICKÉ METABOLICKÉ ACIDÓZY NA MIGRAČNÍ AKTIVITU POLYMORFONUKLEÁRNÍCH LEUKOCYTŮ U OVCÍ

B. Hofírek, S. Šlosárková, J. Ondrová

University of Veterinary and Pharmaceutical Sciences, Brno, Czech Republic

ABSTRACT: Migration activity of polymorphonuclear (PMN) leukocytes in sheep was studied using the methods of migration and chemotaxis under agarose. The experiments were performed in healthy ewes and in those with induced chronic metabolic acidosis. The length of the track of spontaneous migration of PMN leukocytes in healthy ewes was 1.75 ± 0.65 mm and the range of chemotaxis was 3.29 ± 0.53 mm. Induced metabolic acidosis resulted in a significant decrease of migration activity of PMN leukocytes on days 28 and 35 of the experiment. The values of spontaneous migration and range of chemotaxis were 1.24 ± 0.28 and 2.74 ± 0.29 mm, respectively.

sheep; cell-mediated immunity; migration activity; metabolic acidosis; polymorphonuclear leukocytes

ABSTRAKT: Předmětem práce bylo studium funkčnosti imunitního systému, resp. buněčné imunity zdravých zvířat (ovcí) a zvířat se změnou vnitřního stavu prostředí. U klinicky zdravých bahnic a u bahnic s experimentálně navozenou chronickou metabolickou acidózou byla studována migrační aktivita PMN leukocytů metodou migrace a chemotaxe pod agarózou. Imunologická vyšetření byla provedena na začátku experimentu a dále 28. a 35. den trvání zátěže u bahnic. Chronická metabolická acidóza byla potvrzena ABR vyšetřením krve. I když se jednalo o poměrně mírný posun acidobazické rovnováhy krve na kyselou stranu (pH krve se snížilo z hodnoty 7,36 na hodnotu 7,30), byl prokázán negativní vliv této změny na pohybovou funkci imunokompetentních buněk. Délka dráhy spontánní migrace PMN (polymorfonukleární) leukocytů činila u zdravých zvířat průměrně $1,75 \pm 0,65$ mm, u zvířat s chronickou metabolickou acidózou došlo k jejímu poklesu na $1,25 \pm 0,28$ mm, tj. ke snížení o 29 %. Chemotaktická aktivita PMN leukocytů byla ovlivněna v menším rozsahu, došlo k poklesu velikosti dráhy chemotaxe z $3,29 \pm 0,53$ mm na $2,74 \pm 0,29$ mm.

ovce; imunitní systém; migrační aktivita; metabolická acidóza; polymorfonukleární leukocyty

INTRODUCTION

Recently, many studies have been focused on the immune system of animals, the development of suitable immunological methodologies, reactions of the immune system to both adequate and inadequate stimuli of external and internal milieu, reactions to the defined antigens as well as on investigations of stimulation or suppression of the immune reactions (Toman and Pšíkal, 1985; Granátová and Pšíkal, 1989; Paulík and Vrzgula, 1989; Bířeš et al., 1990; Olson, 1990; Toman et al., 1990; Benda and Hošpes, 1991; Benková et al., 1991; Murata and Hirose, 1991; Hogan et al., 1992; Paulík et al., 1992; Bířeš et al., 1993; Levkútová et al., 1993; Bířešová et al., 1994). In the field of veterinary medicine development has been made especially in immunological methodologies and some studies on immunosuppression and immunostimulation of the immune system also indicate the possibility of practical application. However, it is necessary to study optimum

conditions for the use of immunostimulatory substances. Actually, it means to study factors of internal milieu having either stimulatory or inhibitory effects. For such studies, both the knowledge of the animal immune profile under the defined physiological conditions and the ability to interpret correctly the obtained results are required.

The objective of this study was to study migration activity of PMN leukocytes both in healthy ewes and in animals with induced chronic metabolic acidosis.

MATERIAL AND METHODS

Eight ewes of the Caucasian merino breed in good nutritional condition with the average body weight 50 kg were included into the experiment. Long-term change of the feed ration induced subclinical metabolic acidosis (in experimental animals). The experiment was conducted on 6 animals with two ewes serving as controls. The ration of the experimental animals contained

only wheat brans and DOG concentrate mixture in the ratio 1 : 1 at a dose 2–3 kg per animal and day.

The experimental period lasted 7 weeks. Experimental animals were examined clinically and repeated examinations of rumen fluid and blood were carried out with regard to internal milieu monitoring.

The values of pH, total acidity, ammonia, volatile fatty acids and infusoria counts were determined in the rumen fluid. Blood examinations involved the determination of acid-base balance (pH, pCO₂, BE and SB), some biochemical parameters in plasma (urea, glucose, creatinine, bilirubin, AST, ALT, GMT, Ca, P, Mg, Na, K, Zn, Cu) as well as that of blood count.

Immunological examination was based on observation of migration activity of PMN leukocytes by means of migration and chemotaxis under agarose. The examination was performed at the beginning of the experiment and then on days 28 and 35 of the experiment. Only the values related to the studied problem (i. e. total leukocyte count, differential count, acid-base balance and results of migration and chemotaxis of PMN leukocytes) are shown in the results.

Leucocyte count was determined using an automatic blood cells Coulter-Counter and a standard method with blood swabs after staining by May Grünwald-Giemsa was used for the determination of differential count. Acid-base balance was determined by ABR 4 made by Radiometr, Denmark.

Migration activity of neutrophil granulocytes was observed by migration under agarose (Procházková and John, 1986).

Agarose (1.2 g of Agarose for immunodiffuse tests made by ÚSOL, Prague) was allowed to stand for at least 1 h in 81 ml bidistilled water, followed by treble heating for 1 min. and gradually cooled down to 56 °C. Then 10 ml of inactivated bovine serum and 9 ml of tenfold concentrated MEM medium (ÚSOL, Prague) were added to the agarose medium and pH was adjusted to 7.2–7.4 by 7.5% solution of NaHCO₃. Agar

was pipetted into polystyrene Petri dishes (60 mm in diameter) at a dose of 8–8.5 ml and after gellification and cooling in refrigerator for 18–24 hrs was prepared to use. Then rows of three wells 2.5 mm in diameter were cut into the agar using a template. Well centres were 5.0 mm apart. The external well was filled with 10 µl of ovine serum activated by zymosan (Zymosan A, Sigma Chemicals), the central well was filled with 10 µl of cell suspension containing 1.6×10^8 of isolated leucocytes, and the internal well contained 10 µl of the prepared RPMI – 1 640 medium (ÚSOL, Prague). The dishes were incubated in a wet chamber at 37 °C and 5% concentration of CO₂ for 10–12 hrs. Cells were fixed successively with methanol and formaldehyde. After the removal of agarose and drying of the dishes the lengths of the migration tracks – spontaneous migration (mm) and chemotaxis (mm) were measured using a microscope.

Based on the results, chemotactic index (CHI) expressing the ratio of chemotactic and spontaneous migration tracks has been derived:

$$\text{CHI} = \frac{\text{chemotaxis (mm)}}{\text{spontaneous migration (mm)}}$$

Experimental results were evaluated statistically using *t*-test for an independent arrangement.

RESULTS

Clinical condition of the experimental ewes did not markedly change during the 7-week experiment, in some animals excrements of thin consistence were however observed. Long-term feeding of the experimental ration induced ruminal acidosis and noncompensated metabolic acidosis confirmed by acid-base analysis of blood (in all the six ewes).

Tab. I shows the characteristics of experimental and control groups of ewes using selected parameters of

I. Results of hematologic and acid-base examinations in control ewes and experimental animals with induced chronic metabolic acidosis

Experimental groups	Number of examinations	pH $\bar{x} \pm s$	SB (mmol/l) $\bar{x} \pm s$	BE (mmol/l) $\bar{x} \pm s$	Leu ($10^9/l$) $\bar{x} \pm s$	Neut (%) $\bar{x} \pm s$
Group No. 1 control ewes	12	7.36 ± 0.03	23.33 ± 1.16	–0.50 ± 1.46	6.43 ± 1.48	41.16 ± 11.36
Group No. 2 acidosis	12	7.30 ± 0.03	21.55 ± 1.21	–2.37 ± 1.52	5.63 ± 0.83	35.75 ± 8.75

II. Comparison of the results of PMN leucocyte migration activity in healthy ewes and those with chronic metabolic acidosis on day 28 and 35 of the experiment

Experimental animals	Number of examinations	pH $\bar{x} \pm s$	Spontaneous migration (mm) $\bar{x} \pm s$	Chemotaxis (mm) $\bar{x} \pm s$	CHI $\bar{x} \pm s$
Group No. 1 healthy ewes	12	7.36 ± 0.03	1.75 ± 0.65	3.29 ± 0.53	2.17 ± 0.31
Group No. 2 acidosis	12	7.30 ± 0.03	1.24* ± 0.28	2.74* ± 0.29	2.48* ± 0.29

* $P < 0.05$

acid-base balance and average values of leucocytes (Leu) and neutrophil granulocytes (Neut) in blood of both experimental and control animals are also recorded.

The table indicates that a slight decrease of the total leucocyte count and also of the neutrophil granulocyte count was observed in experimental animals. However, the difference between the control and experimental groups was not statistically significant.

The results of migration activity of PMN leucocytes are shown in Tab. II, presenting the values of spontaneous migration, chemotaxis and of the chemotactic index in experimental and control groups.

It follows from the results that a marked decrease in the PMN leucocyte migration activity occurred in experimental ewes. Both the level of spontaneous migration and the ability of neutrophil granulocytes to react to some chemotactic stimuli were found to be significantly lower.

The following diagram (Fig. 1) shows the dynamics of PMN leucocyte migration activity in healthy ewes and in animals suffering from metabolic acidosis on days 1, 28, and 35 of the experiment.

The results presented in the diagram show that the extent of migration and chemotaxis did not change significantly during the experiment and that the values at the end of the experiment were almost equal to those at the beginning. On day 28 of the experiment a pronounced decrease of spontaneous migration and chemotaxis of neutrophil granulocytes was apparent in ewes suffering from chronic metabolic acidosis, this

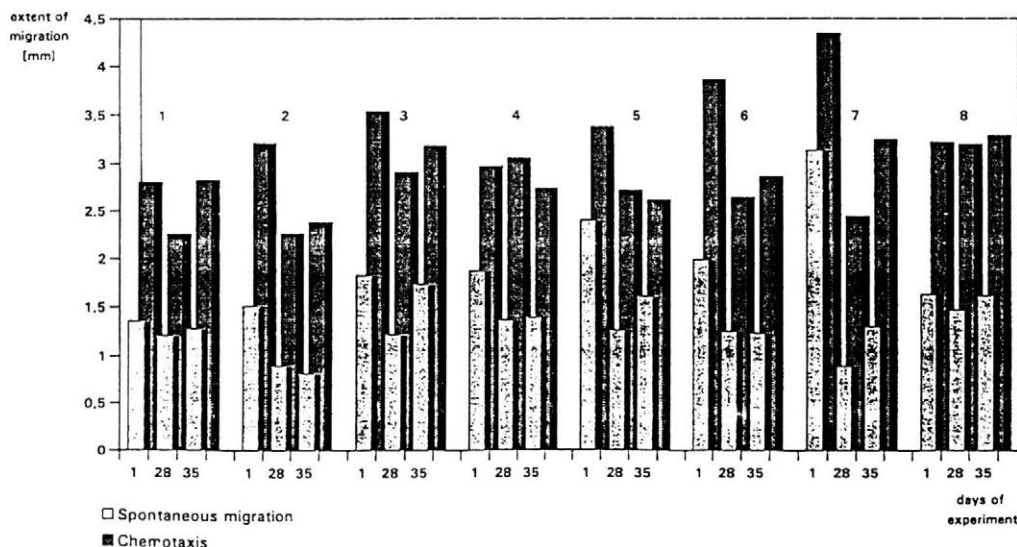
decrease being different in individual experimental animals. On day 35 of the experiment, further lowering of spontaneous migration and chemotaxis occurred in two animals, the values found in other ewes remained, however, at a similar or slightly higher level.

DISCUSSION

Our study was focused on the confirmation of the effect of chronic metabolic acidosis on migration activity of polymorphonuclear leukocytes. The objective was to quantify the effect of the above mentioned factor on one of the functions of phagocytizing cells.

Metabolic acidosis was induced by a selected method and the shift in acid-base balance of blood resulted in a tendency to leukopenia with a marked decrease of neutrophil granulocytes. Also the migration activity of these immunocompetent cells was markedly influenced. It should be pointed out that although the shift of acid-base balance to the left was relatively slight, the immunosuppressive effect was determined.

The lengths of tracks in spontaneous migration were in the average 1.75 ± 0.66 mm and 1.24 ± 0.28 mm in control and experimental animals, respectively. Shortening of the track in the latter group of animals was 29% at significance level $P < 0.005$. Chemotactic activity of PMN leucocytes was influenced to a lesser extent, a 17% decrease from 3.29 ± 0.53 mm to 2.74 ± 0.29 mm at the same significance level was found. Long-term nutritional load resulted especially in the



1. Dynamics of PMN leucocyte migration in healthy ewes and in animals suffering from metabolic acidosis on days 1, 28 and 35 of the experiment

No. 1: 8 healthy ewes

No. 2-7 animals with metabolic acidosis

reduction of spontaneous migration while in chemotaxis only a partial inhibition was observed. The same observations were described by Aziz et al. (1984) in their study on the effect of selenium deficiency on leukocyte functions in animals. They recorded a reduction of spontaneous migration and chemotaxis in the ratio 1.7 : 1. Elvinger et al. (1991b) even mentioned negative effect on spontaneous migration without simultaneous change of chemotactic activity of neutrophil granulocytes.

Our experiment was focused on the determination of factors which might influence the functions of immunocompetent cells, in this case of polymorphonuclear leukocytes. Publications concerning human medicine (Nelson et al., 1975; John and Sieger, 1976; Repo et al., 1978; Palmblad et al., 1981) have been followed by papers from the field of veterinary medicine presenting results of PMN leukocytes studies (Carroll et al., 1982; Olson, 1990; Thoren-Tholpin, 1990; Hipíková et al., 1993). Studies describing the attempts to influence experimentally the migration activity of PMN leukocytes are also available (Elvinger et al., 1991; Murata and Hirose, 1991; Hogan, 1992).

The values of spontaneous migration and chemotaxis of PMN leukocytes obtained in our experiment on healthy ewes could be taken as a basis for the determination of reference values. In the ewes the development of clinical conditions was regularly examined and hematological, acid base, and biochemical examinations of blood were performed.

However, the main purpose of the study was to observe the migration activity of PMN leukocytes under strictly defined changes of internal milieu in the experimental ewes. The changes were related to experimentally induced chronic metabolic acidosis.

The results of a long-term experiment have shown that a slight shift of pH to the left resulted in the reduction of migration activity of PMN leukocytes. It was confirmed that both spontaneous migration and chemotaxis were reduced in dependence on blood pH decrease, accompanied by the decrease of other characteristics of acid-base balance as BE and SB. The study has fully confirmed that stability of the internal milieu is a prerequisite of unimpaired leukocyte function. As metabolic acidosis is quite frequent in ruminants, the results of our study should not be neglected. Acidosis as a result of incorrect nutrition is an accompanying symptom of ketosis which is frequent in diarrhoeic diseases of various etiology in calves. It means that such an impairment of internal milieu may be associated with a certain degree of immunosuppression. Based on the results we can assume an association of metabolic acidosis and low viability syndrome in young animals. Actually it means that an efficient therapeutic effect can be obtained in simultaneously occurring conditions (diarrhoeic and respiratory syndrome, subclinical ketosis etc.) only by parallel shifts in acid-base balance of blood.

Acknowledgement

We wish to thank Mrs. Zdeňka Procházková for technical assistance.

REFERENCES

- AZIZ, E. S. – KLESÍUS, P. H. – FRANDSEN, J. C.: Effects of selenium on polymorphonuclear leukocyte function in goats. *Amer. J. Vet. Res.*, 45, 1984: 1715–1718.
- BENDA, V. – HOŠPES, J.: Phagocytic activity of leukocytes in sheep and goats. *Acta Vet. (Brno)*, 60, 1991: 149–152.
- BENKOVÁ, M. – BOROŠKOVÁ, Z. – ŠOLTÝS, J.: Imunostimulačné účinky niektorých látok pri experimentálnej askarióze prasiat. *Vet. Med. – Czech*, 36, 1991: 717–724.
- BÍŘEŠ, J. – VRZGULA, L. – HOJEROVÁ, A.: Zmeny fagocytárnej aktivity krvných leukocytov, hladiny plasmových Ig a albumínu u oviec po skrmovaní emisného substrátu. *Živoč. Vyr.*, 35, 1990: 763–771.
- BÍŘEŠ, J. – MICHNA, A. – BARTKO, P. – PISTL, J. – JUHÁSOVÁ, Z.: Suplementácia zinku, selénu a meď cestou čepco-bachorových peliet a jej vplyv na úroveň celulárnej a humorálnej odpovede u oviec. *Vet. Med. – Czech*, 38, 1993: 597–607.
- BÍŘEŠOVÁ, M. – NAŘ, P. – BÍŘEŠ, J. – ROSÍVAL, I.: Dynamika tvorby špecifických protilátok u oviec počas prijmu priemyselného substrátu z hliníkárne. *Vet. Med. – Czech*, 39, 1994: 67–74.
- CARROLL, E. J. – MUELLER, R. – PANICO, L.: Chemotactic factors for bovine leukocytes. *Amer. J. Vet. Res.*, 43, 1982: 1661–1664.
- ELVINGER, F. – HANSEN, P. – HEAD, H. – NATZKE, R. P.: Actions of bovine somatotropin on polymorphonuclear leukocytes and lymphocytes in cattle. *J. Dairy Sci.*, 72, 1991a: 2145–2152.
- ELVINGER, F. – HANSEN, P. – NATZKE, R. P.: Modulation of function of bovine polymorphonuclear leukocytes and lymphocytes by high temperature *in vitro* and *in vivo*. *Amer. J. Vet. Res.*, 52, 1991b: 1692–1698.
- GRANÁTOVÁ, M. – PŠIKAL, I.: Buňkami zprostředkovaná imunita u telat imunizovaných nebo infikovaných virem infekční bovinní rhinotracheitidy. *Vet. Med. – Czech*, 34, 1989: 385–394.
- HIPÍKOVÁ, V. – MOJŽÍŠOVÁ, J. – BAJOVÁ, V. – TAKÁČOVÁ, D. – STROJNÝ, L.: Hodnotenie niektorých ukazateľov bunecnej imunity po experimentálnej infekcii vírusom IBR u teliat ošetrovaných glukánom. *Vet. Med. – Czech*, 38, 1993: 385–394.
- HOGAN, J. S. – WEISS, W. P. – TODHUNTER, D. A. – SMITH, K. L. – SCHOENBERGER, P. S.: Bovine neutrophil responses to parenteral vitamin E¹. *J. Dairy Sci.*, 75, 1992: 399–405.
- JOHN, J. – SIEGER, O.: Chemotactic migration of neutrophils under agarose. *Live Sci.*, 18, 1976: 177–182.
- LEVKUTOVÁ, M. – BAJOVÁ, V. – HIPÍKOVÁ, V. – MOJŽÍŠOVÁ, J. – HARVAN, M. – HUDÁK, P.: Vplyv nerozpustného fungálneho glukánu na niektoré ukazatele imunity teliat. *Vet. Med. – Czech*, 38, 1993: 31–42.

- MURATA, H. – HIROSE, H.: Suppression of bovine neutrophil function by sera from cortisol-treated calves. *Brit. Vet. J.*, 147, 1991: 63–70.
- NELSON, R. – QUIE, P. – SIMMONS, R.: Chemotaxis under agarose – a new and simple method for measuring chemotaxis and spontaneous migration of human polymorphonuclear leukocytes and monocytes. *J. Immunol.*, 115, 1975: 1650–1656.
- OLSON, D. P.: *In vitro* migration responses of neutrophils from cows and calves. *Amer. J. Vet. Res.*, 51, 1990: 973–977.
- PALMBLAD, J. – UDÉN, A. – VENIZELAS, N.: The quantification of neutrophil orientation and migration under agarose – a new method for detecting directed and random movements. *J. Immunol. Meth.*, 44, 1981: 37–53.
- PAULÍK, Š. – VRZGULA, L.: Možnosť použitia dinitrofluorobenzénu k preukázaniu bunecnej imunitnej odpovede u teliat. *Vet. Med. – Czech*, 34, 1989: 321–328.
- PAULÍK, Š. – BAJOVÁ, V. – MOJŽISOVÁ, J.: Vplyv aplikácie nerozpustného fungálneho glukánu na úroveň oneskorenej kožnej precitlivelosti a fagocytárnu aktivitu krvných leukocytov u teliat. *Vet. Med. – Czech*, 37, 1992: 577–585.
- PROCHÁZKOVÁ, J. – JOHN, C.: Vybrané diagnostické metody lékařské imunologie. Praha, Avicenum 1986. 368 s.
- REPO, H. – KOSTIALA, A. – KUSONEN, T.: Use of leukocyte migration under agarose to study spontaneous and directed locomotion of leukocytes. *Immunology*, 35, 1978: 539–548.
- THOREN-TOLLING, K.: Chemiluminescence and chemotaxis assay of porcine polymorphonuclear cells – a methodological study. *J. Vet. Med. A*, 37, 1990: 174–185.
- TOMAN, M. – PŠIKAL, I.: Test fagocytární aktivity krvních leukocytů telat. *Vet. Med. – Czech*, 30, 1985: 393–400.
- TOMAN, M. – KREJČÍ, J. – MENŠÍK, P. – ULMANN, L.: Nespecifická imuno-stimulační aktivita bakterinu *Bordetella bronchiseptica* v testech na myších a telatech. *Vet. Med. – Czech*, 35, 1990: 537–546.

Arrived on 8th September 1994

Kontaktní adresa:

Prof. MVDr. Bohumír Hofírek, DrSc., Veterinární a farmaceutická univerzita, Palackého 1–3, 612 42 Brno, Česká republika
Tel. 05/41 32 11 07, fax 05/41 21 11 51

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)

DYNAMIC CHANGES IN HEMATOLOGICAL PARAMETERS IN THE BLOOD OF SHEEP AT OESTRUS SYNCHRONIZATION AND IN SUBSEQUENT PERIOD OF EARLY PREGNANCY

DYNAMICKÉ ZMENY HEMATOLOGICKÝCH PARAMETROV V KRVÍ OVIEC PRI SYNCHRONIZÁCII RUJE A V NADVÄZKOM ČASE RANEJ GRAVIDITY

M. Krajničáková, E. Bekeová, I. Maraček, V. Hendrichovský

Research Institute of Experimental Veterinary Medicine, Košice, Slovak Republic

ABSTRACT: Observation of hematological indices which are a reflection of physiological processes in the individual phases of the reproductive cycle, presents one of the methods of controlling the homeostasis of the ewe's organism. This work focused on the observation of selected indices during synchronization treatment and in the first days of pregnancy. The experiment included 10 conventionally bred animals. Blood was obtained from the *v. jugularis* into an oxalate mixture on days 0 (date of synchronization), 3, 7 and 14 of Agelin implantation, on the day of oestrus and days 7, 14, 17 and 34 of pregnancy. Erythrocyte counts were determined by the Bürker flask method, hemoglobin concentrations by spectrophotometry and packed cell volume (PCV) by the method of Janetzki. For leucocyte count determination the Bürker flask method with Turk's solution was used; the percentual proportion of leucocytes was stated by the leucogram. During synchronization treatment and pregnancy the mean erythrocyte counts ranged from 9.16 ± 0.81 to 9.74 ± 0.61 T/l and from 9.09 ± 0.84 to 9.47 ± 1.11 T/l, respectively. Hemoglobin concentrations oscillated between 10.71 ± 1.02 and 11.83 ± 1.01 g/l. PCV values reached between 32.44 ± 2.18 and 39.33 ± 2.73 l/l with a significant increase on day 14 of Agelin implantation and days 17 and 34 of pregnancy ($P < 0.05$). This dynamics of the red blood components points to the occurrence of functional-morphological changes in the sexual apparatus during oestrus and Agelin treatment. Through mediation by the vascular system a change in the mean values may also occur (Kresan et al., 1979). Leucocyte counts did not surpass the reference values but revealed a significant decrease ($P < 0.01$) on day 34 of pregnancy (5.14 ± 1.39 G/l). Neutrophilic segments, eosinophilic granulocytes, lymphocytes and monocytes were present at counts ranging from 23.25 ± 12.72 to 37.77 ± 11.15 , from 5.25 ± 3.22 to 7.75 ± 2.91 , from 56.22 ± 12.14 to 67.77 ± 7.90 and from 0 to 2.25 ± 1.02 , respectively. If on the basis of literary data (Kudláč, Elečko et al., 1977) we suppose that, within the progestational changes, leucocytes participate in the biological protection of the organism during formation of the pre-implantational environment and implantation, then our results seem to be comparable with those of the above authors and, for the investigated period, confirm the role of leucocytes in the defence abilities of the ewe's organism.

ewe; oestrus synchronization; pregnancy; erythrocytes; leucocytes; packed cell volume; hemoglobin; leucogram

ABSTRAKT: V práci sme sa zamerali na vybrané ukazovatele v krvi oviec pri synchronizácii ruje a v prvých dňoch gravidity u desiatich oviec plemena slovenské merino. Krv sme odoberali z *v. jugularis* pred naložením Agelin pošvových tampónov (0. deň), 3., 7. a 14. deň počas ich inzercie. Po vybratí hubiek sme každé zviera ošetrili i. m. PMSG v dávke 500 m. j. V odberoch sme pokračovali v ruji, 7., 14., 17. a 34. deň gravidity. Z oxalátovej krvi sme stanovili počet erytrocytov baničkovou metódou, koncentráciu hemoglobínu spektrofotometricky a hematokrit metódou Janetzkiho. Počet leukocytov sme stanovili baničkovou metódou Türkovým roztokom a percentuálne zastúpenie leukocytov stanovením leukogramu. Počet erytrocytov počas synchronizačného ošetrovania sa pohyboval od $9,16 \pm 0,81$ do $9,74 \pm 0,61$ T/l a v sledovaných dňoch gravidity od $9,09 \pm 0,84$ do $9,47 \pm 1,11$ T/l. Koncentrácie hemoglobínu mali rozpätie hodnôt v sledovanom období od $10,71 \pm 1,02$ do $11,83 \pm 1,01$ g/l. Hematokritové hodnoty sa pohybovali od $32,44 \pm 2,18$ do $39,33 \pm 2,73$ l/l pri štatisticky významnom vzostupe v 14. dni pôsobenia Agelinových tampónov a 17. a 34. dni gravidity ($P < 0,05$). Počet leukocytov sa v sledovanom období pohyboval v rámci referenčných hodnôt pri štatisticky preukaznom znížení ($P < 0,01$) ich počtu v 34. dni kotnosti ($5,14 \pm 1,39$ G/l). Percento neutrofilných segmentov malo rozpätie od $23,25 \pm 12,72$ do $37,77 \pm 11,15$; eozinofilných granulocytov od $5,25 \pm 3,22$ do $7,75 \pm 2,91$; lymfocytov od $56,22 \pm 12,14$ do $67,77 \pm 7,90$; monocytov $2,25 \pm 1,02$. Nami zistené výsledky sledovaných parametrov poukazujú na ich funkčný význam pri implantačnom procese oviec.

ovca; synchronizácia ruje; gravidita; erytrocyty; leukocyty; hematokrit; hemoglobín; leukogram

Stimulácia ruje, pripúšťanie a gravidita sú podmienené optimalizáciou fyziologických funkcií zvierat. Očakávaný efekt nástupu, pripúšťania a následného oplodnenia oviec je do značnej miery okrem iného závislý od úrovne výživy a optimálnych podmienok prostredia v jednotlivých fázach reprodukčného cyklu. Neoprávdanou je i kontrola homeostázy organizmu zvierat, funkcia červenej a bielej krvnej zložky, ktorej zmeny odrážajú priebeh fyziologických procesov v uvedenom období. Vplyv rôznej úrovne výživy na zmeny hematologických ukazovateľov u bahníc plemena kaukazské merino študovali Cibulka a i. (1981), ktorí zaznamenali zmeny hematologických hodnôt v čase gravidity a laktácie bahníc. Dynamiku hematologických parametrov v čase pohlavného cyklu oviec sledovali Gamčík a i. (1978), v priebehu roka Jelínek a i. (1986) a v puerperálnom období bahníc Krajničáková a i. (1991). Vplyv gravidity a laktácie na vybrané hematologické ukazovatele u kôz sledovali Fortagne a Schäfer (1989), Hassan a i. (1989) a Biagi a i. (1988).

Analýzu hematologických parametrov u kôz plemena landrace uvádzajú Mbassa a Poulsen (1993) od prvých dní po narodení v jednotlivých mesiacoch počas roka. Autori zistili maximálne rozpätie hodnôt hemoglobínu, hematokritu a erytrocytu medzi 8.–12. mesiacom sledovaného obdobia.

Cieľom našej práce bolo zistenie zmien vybraných hematologických parametrov v krvi oviec, zhodnotenie ich vzájomného vzťahu v čase synchronizačného ošetrovania a v prvých dňoch gravidity.

MATERIÁL A METÓDY

Do sledovania sme zaradili desať oviec plemena slovenské merino, ktoré boli chované v podmienkach úžitkového chovu. Kŕmna dávka pozostávala zo siláže, kŕmnej repy, sena, slamy a kŕmnej zmesi BAK. Voda a soľ boli podávané *ad libitum*. Krv sme odoberali z v. *jugularis* pred naložením Agelin pošvových tampónov (0. deň), 3., 7. a 14. deň v čase pôsobenia tampónov s obsahom 20 mg chlórsuperlutínu (Agelin pošvové tampóny, Spofa). Po vybratí hubiek sme každé zviera ošetrili i. m. s PMSG v dávke 500 m. j. V odberoch sme pokračovali v ruji, v 7., 14., 17. a 34. deň gravidity. Zo vzoriek krvi sme stanovili počet erytrocytov (T/l) Bürkerovou baničkovou metódou, hematokrit (l/l) metódou Janetzkiho a koncentrácie hemoglobínu (g/l) spektrofotometricky meraním množstva hemiglobinkyanidu na prístroji Spekol. Počet leukocytov (G/l) bol stanovený baničkovou metódou po zriedení Türkovým roztokom. Percentuálne zastúpenie jednotlivých druhov leukocytov sme určovali stanovením leukogramu. Nátery boli ofarbené metódou podľa Papanheima roztokmi May-Grunvalda a Giemsa-Romanovski. Štatistickú významnosť rozdielov sledovaných parametrov v jed-

notlivých dňoch v porovnaní ku dňu synchronizácie (0. deň) sme hodnotili Studentovým *t*-testom. Vzájomnú závislosť zmien sledovaných ukazovateľov sme určili výpočtom korelačného koeficientu *r* (Červenka, 1975).

VÝSLEDKY A DISKUSIA

Priemerné hodnoty erytrocytov (Er), hemoglobínu (Hb) a hematokritu (HTK) v dňoch synchronizačného ošetrovania a gravidity oviec sú uvedené v tab. I. Počas synchronizačného ošetrovania sa hodnoty erytrocytov pohybovali od $9,16 \pm 0,81$ do $9,74 \pm 0,61$ T/l. Po prechodnom štatisticky významnom znížení ($P < 0,01$) hodnôt Er, ktoré sme zistili v čase ruje sa ich hodnoty v prvých dňoch gravidity pohybovali približne na rovnakej úrovni ($9,09 \pm 0,84$ až $9,47 \pm 1,11$ T/l). Dynamika priemerných hodnôt Er nami sledovaných zvierat je porovnateľná so zisteniami autorov Gamčík a i. (1978) v čase pohlavného cyklu oviec a bez zohľadnenia vo vzťahu k reprodukčnému cyklu s výsledkami, ktoré uvádzajú Chyla a i. (1975) a Jelínek a i. (1986). Skutočnosť, že erytrocyty vykonávajú transportnú funkciu kyslíka v organizme zvierat a reakcia, pri ktorej dochádza k funkčno-morfologickým zmenám i na pohlavnom aparáte v období ruje a v preimplantačnom období potvrdzuje i nami zistená pozitívna korelačná závislosť Er : Hb (tab. II) v čase ruje a v 7. dni gravidity ($r = 0,83101$; $r = 0,93537$).

Koncentrácie hemoglobínu (Hb) počas pôsobenia Agelin pošvových tampónov sa pohybovali približne na rovnakých hodnotách (tab. I). Nesignifikantný pokles ($P > 0,05$) jeho koncentrácií v čase ruje a inseminácie sa udržiaval na približne rovnakej úrovni do 17. dňa gravidity ($10,82 \pm 0,83$ až $10,96 \pm 1,07$ g/l), čo poukazuje na reverzibilné spojenie kyslíka a jeho zvýšeného transportu na začiatku implantačného procesu oviec (Kudláč a Elečko, 1977). Dynamika koncentrácie hemoglobínu je porovnateľná s výsledkami, ktoré uvádzajú Jelínek a i. (1986) v priebehu roka u sledovaných bahníc.

Pri hodnotení dynamiky hematokritových hodnôt (tab. I) štatisticky významné zmeny ($P < 0,05$) sme zaznamenali v 14. dni synchronizačného ošetrovania, kedy sa jeho hodnoty pohybovali od $32,44 \pm 2,18$ do $39,33 \pm 2,73$ l/l. Signifikantnosť rozdielov hematokritových hodnôt bola zistená v 17. a 34. dni kotnosti ($P < 0,05$) a sú porovnateľné s údajmi autorov Jelínek a i. (1986) a Gamčík (1981).

V čase pôsobenia Agelin pošvových tampónov sa priemerný počet leukocytov (tab. III) výrazne nemenil a udržiaval sa v rámci referenčných hodnôt ($7,61 \pm 0,92$ až $9,00 \pm 2,27$ G/l) i v čase ruje a v 7., 14., 17. dni gravidity. Štatisticky preukazné zníženie ($P < 0,01$) ich počtu s hodnotami $5,14 \pm 1,39$ G/l sme zistili v 34. dni kotnosti. Výsledky našich pozorovaní priemerných hodnôt leukocytov sa približujú dynamike, ktorú uvádzajú Jelínek a i. (1986) u bahníc v období gravi-

I. Priemerné hodnoty erytrocytov, hemoglobínu a hematokritu pri synchronizácii ruje a v prvých dňoch gravidity – Mean values of erythrocytes, hemoglobin and hematocrit at the oestrus synchronization and in the early pregnancy

Dni synchronizácie ¹	Ukazovateľ ⁴		
	Erytrocyty ⁵ (T/l)	Hemoglobín ⁶ (g/l)	Hematokrit ⁷ (l/l)
0.	9,46 ± 0,54	11,47 ± 0,58	32,44 ± 2,18
3.	9,67 ± 0,71	11,12 ± 0,99	39,33 ± 2,73
7.	9,74 ± 0,61	11,83 ± 1,01	32,55 ± 3,12
14.	9,16 ± 0,81	11,36 ± 1,01	36,77* ± 2,58
Dni gravidity ²			
Ruja ³	8,57** ± 0,46	10,71 ± 1,02	33,00 ± 3,42
7.	9,47 ± 1,11	10,96 ± 1,07	33,22 ± 4,17
14.	9,46 ± 0,91	10,89 ± 0,82	33,50 ± 4,00
17.	9,09 ± 0,84	10,82 ± 0,83	36,20* ± 3,76
34.	9,16 ± 0,66	11,15 ± 0,87	36,80* ± 4,66

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

Signifikantnosť rozdielov sledovaných parametrov porovnávaná ku dňu synchronizácie (0. deň) – Significance of differences of the investigated parameters compared to the day of synchronization (day 0)

¹days of synchronization, ²days of pregnancy, ³oestrus, ⁴indicator, ⁵erythrocytes, ⁶hemoglobin, ⁷hematocrit

II. Korelačná závislosť vzťahov červenej a bielej krvnej zložky v čase synchronizácie a v prvých dňoch gravidity oviec – Correlation of the relationships of the red and white blood components at the oestrus synchronization and in the early pregnancy of sheep

Dni ¹	Korelačný koeficient ²					
	Er : Hb	Er : HTK	Hb : HTK	Le : Seg	Le : Ly	Ly : Seg
0.*	0,580457	0,838242	0,690307	0,439228	-0,341162	-0,451557
3.*	0,848116	0,935361	0,773122	-0,0122026	-0,148415	-0,912547
7.*	0,824131	0,813318	0,893787	-0,644512	0,774236	-0,948143
14.*	0,862324	0,822145	0,615647	-0,0696343	-0,178146	-0,708109
1.**	0,831014	0,595464	0,405746	-0,677807	0,586153	-0,910317
7.**	0,935373	0,843724	0,88879	-0,137935	0,122359	-0,937155
14.**	0,426637	0,483768	0,629687	-0,365416	0,393821	-0,865693
17.**	0,38173	0,026866	0,541422	-0,0851319	0,069594	-0,991764
34.**	0,071767	0,817342	-0,198643	-0,0431817	0,023122	-0,981343

+ dni synchronizácie – days of synchronization

++ dni gravidity – days of pregnancy

¹days, ²correlation coefficient

III. Priemerné hodnoty vybraných hematologických parametrov pri synchronizácii ruje a v prvých dňoch gravidity – Mean values of the selected hematological parameters at the oestrus synchronization and in the early pregnancy

Dni synchronizácie ¹	Ukazovateľ ⁴				
	Leucocyty ⁵ (G/l)	Segmenty ⁶ (%)	Lymfocyty ⁷ (%)	Eozinofily ⁸ (%)	Monocyty ⁹ (%)
0.	7,92 ± 2,06	31,62 ± 4,62	60,87 ± 5,22	7,25 ± 4,86	0,26 ± 0,04
3.	9,00 ± 2,27	26,00 ± 7,21	67,77 ± 7,90	6,22 ± 3,21	–
7.	8,13 ± 1,84	23,25 ± 12,27	67,75 ± 10,76	7,75 ± 2,91	2,25 ± 1,02
14.	7,61 ± 0,92	28,44 ± 9,78	65,11 ± 10,39	7,55 ± 3,12	1,11 ± 0,66
Dni gravidity ²					
Ruja ³	7,93 ± 1,64	37,50 ± 11,19	57,00 ± 8,07	5,25 ± 3,22	0,25 ± 0,10
7.	8,37 ± 2,35	37,77 ± 11,15	56,22 ± 12,14	5,77 ± 3,92	0,88 ± 0,44
17.	8,06 ± 2,45	33,60 ± 10,53	60,00 ± 5,53	6,00 ± 5,02	–
17.	8,39 ± 2,13	33,00 ± 12,79	61,00 ± 15,35	5,60 ± 2,79	0,40 ± 0,22
34.	5,14** ± 1,39	27,80 ± 12,80	66,20 ± 12,16	5,80 ± 2,57	–

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

Signifikantnosť rozdielov sledovaných parametrov porovnávaná ku dňu synchronizácie (0. deň)

¹days of synchronization, ²days of pregnancy, ³oestrus, ⁴indicator, ⁵leucocytes, ⁶segments, ⁷lymphocytes, ⁸eosinophils, ⁹monocytes

dity. Ak vychádzame zo skutočnosti, že leukocyty sa podieľajú na biologickej ochrane organizmu, nami zistený pokles leukocytov v 34. dni gravidity ku dolnej hranici referenčných hodnôt môže súvisieť s realizáciou implantačného procesu, ktorý u oviec končí medzi 4. a 5. týždňom kotnosti (Kudláč a i., 1977; Kresan a i., 1979).

Percentuálne zastúpenie neutrofilných segmentov (tab. III) sa nesignifikantne znižoval ($P > 0,05$) do 7. dňa v čase inzercie Agelin pošvových tampónov ($31,62 \pm 4,62$ až $23,25 \pm 12,72$ %) v porovnaní k 0. dňu. V sledovaných dňoch gravidity sa ich percento štatisticky nepreukazne znížilo v 34. dni na $27,80 \pm 12,80$ %. Nami zistené percento hodnotených neutrofilných segmentov je porovnateľné s údajmi, ktoré uverejnil Gamčík (1981) u oviec počas synchronizácie ruje. V zhode s našimi výsledkami je i dynamika sledovaných hodnôt, ktorú uvádzajú Jelínek a i. (1986) u oviec v priebehu roka a Krajničáková a i. (1991) v puerperálnom období bahnie. Percento neutrofilných segmentov sa zvyšuje ku koncu gravidity (Kudláč a Elečko a i., 1977), kedy sa manifestuje ich fagocytárna schopnosť.

Percento eozinofilných granulocytov sa počas synchronizačného ošetrenia pohybovalo od $6,22 \pm 3,21$ do $7,75 \pm 2,91$ a v čase ruje a sledovaných dňoch gravidity od $5,25 \pm 3,22$ do $6,00 \pm 5,02$. Výsledky, ktoré uvádzajú Gamčík (1981) a Skalka a Vrzgula (1970), boli podobné našim zisteniam percentuálneho zastúpenia eozinofilných granulocytov u oviec v sledovaných dňoch synchronizácie, ale nižšie ako uvádzajú Krajničáková a i. (1991) v puerperálnom období bahnie.

Pri hodnotení percentuálneho zastúpenia lymfocytov počas inzercie Agelin pošvových tampónov sa ich hodnoty udržiavali na úrovni ($60,87 \pm 5,52$ až $67,77 \pm 7,90$ %). Nesignifikantný pokles na hodnoty $57,00 \pm 8,07$ a $56,22 \pm 12,14$ bol zistený v ruji a 7. deň gravidity. Postupné zvyšovanie percenta lymfocytov v sledovaných dňoch gravidity a do ukončenia gravidity ako uvádzajú Krajničáková a i. (1993) sa manifestuje nielen ich obrannou ale i trofickou funkciou. Negatívna korelačná závislosť (Ly:Seg) zistená počas sledovaného obdobia je porovnateľná s výsledkami autorov Krajničáková a i. (1993) v puerpériu bahnie.

Percentuálne zastúpenie monocytov sa pohybovalo od 0 do 2,25 % počas celého sledovaného obdobia. Nami hodnotené percento monocytov je v súlade s výsledkami, ktoré uvádza Gamčík (1981) u oviec počas synchronizácie a gravidity oviec.

Z dosiahnutých výsledkov nami sledovaných hematologických parametrov možno konštatovať, že synchronizačné ošetrenie neovplyvnilo sledované ukazov

vatele červenej a bielej krvnej zložky. Ich zistenia dosiahnuté v prvých dňoch gravidity poukazujú na význam pri procesoch spojených s preimplantačným obdobím, postupujúcou graviditou, pôrodom a laktáciou.

LITERATÚRA

- BIAGI, G. – BAGLIACA, M. – LETO, A. – ROMAGNOLI, A.: Metabolic profile test in Saanen goats. Ann. Fac. Med. Vet. (Pisa), *XLI*, 1988: 395–410.
- CIBULKA, J. – SOUD, Z. – SKŘIVAN, M. – LOUČKA, R.: Vliv různé úrovně výživy na hodnoty vybraných biochemických a hematologických ukazatelů u ovcí. [Dílčí závěrečná zpráva.] Praha, Vysoká škola zemědělská, 1981. 50 s.
- ČERVENKA, J.: Základy statistiky. Martin, Osveta 1975: 1–75.
- FORTAGNE, M. – SCHÄFER, M.: Hematological parameters of goats in the period from pregnancy to lactation. Arch. Exp. Vet. Med., *43*, 1989: 223–230.
- GAMČÍK, P.: Štúdium reprodukčných funkcií a porúch plodnosti oviec. [Doktorská dizertácia.] Košice 1981: 166–171. – Vysoká škola veterinárna.
- GAMČÍK, P. – SCHVARC, F. – MESÁROŠ, P.: Niektoré hematologické ukazovatele u oviec počas pohlavného cyklu a pri jeho regulácii. In: Zbor. Ref. Konf. RVHP 23.–24. 11. 1976, Brno, Výzkumný ústav veterinárního lékařství 1978: 42–59.
- HASSAN, G. A. – EL-NOUTY, F. D. – SAMAK, M. A. – SALEM, H. M.: Relationship between milk production and some blood constituents in Egyptian Baladi goats. Beitr. Trop. Landwirtschaft. Vet.-Med., *24*, 1986: 213–219.
- CHYLA, M. – VRZGULA, L. – MIKLUŠIČÁK, R. – SKALKKA, J.: Hematologické štúdium u mladých oviec v priebehu dvoch rokov. Folia Vet., *19*, 1975: 379–391.
- JELÍNEK, P. – FRAIS, Z. – HELANOVÁ, I.: Dynamika základných hematologických hodnôt bahnie v průběhu roku. Vet. Med. – Czech, *31*, 1986: 359–370.
- KRAJNÍČÁKOVÁ, M. – BEKEOVÁ, E. – MARAČEK, I. – HENDRICHOVSKÝ, V.: Dynamika niektorých hematologických a biochemických ukazovateľov v puerperálnom období oviec. Živoč. Vyr., *36*, 1991: 885–894.
- KRAJNÍČÁKOVÁ, M. – BEKEOVÁ, E. – MARAČEK, I. – HENDRICHOVSKÝ, V.: Dynamické zmeny niektorých hematologických parametrov v čase synchronizácie, inseminácie a gravidity oviec. Zbor. Ved. Prác ÚEVM, *IX*, 1993: 245–255.
- KRESAN, J. a i.: Morfológia hospodárskych zvierat. Bratislava, Príroda a Praha, SZN 1979: 120–138.
- KUDLÁČ, E. – ELEČKO, J. a i.: Veterinární porodnictví a gynekologie. Praha, SZN 1977: 78–324.
- MBASSA, G. K. – POULSEN, J. S. D.: Reference ranges for hematological values in Landrace goats. Small Rumin. Res., *9*, 1993: 367–376.
- SKALKKA, J. – VRZGULA, L.: Dvojročná dynamika hematologických ukazovateľov u oviec v špecializovaných veľkovýrobných podmienkach chovu. Živoč. Vyr., *15*, 1970: 313–321.

Došlo 15. 7. 1994

Kontaktná adresa:

MVDr. Mária Krajničáková, Ústav experimentálnej veterinárnej medicíny, Hlinkova 1/A, 040 01 Košice, Slovenská republika
Tel. 095/622 00 74, fax 095/318 53

VARIATIONS IN HEMATOLOGICAL INDICATORS IN TURKEYS DURING FATTENING

ZMĚNY HEMATOLOGICKÝCH UKAZATELŮ U KRŮT V OBDOBÍ VÝKRMU

P. Suchý¹, E. Straková¹, D. Klecker²

¹University of Veterinary Medicine and Pharmaceutical Sciences, Brno, Czech Republic

²Mendel University of Agriculture and Forestry, Brno, Czech Republic

ABSTRACT: The results are presented of hematological examinations of turkeys during fattening. A total of 60 clinically healthy turkeys of hybrid combination XK were examined, on days 1, 35, 94 of age both in female and male turkeys and on day 108 of age in male turkeys that were fattened to higher live weight. Tabs. 1–IV show the results of hematological examinations including statistical data. The results document numerous variations in the values of hematological indicators with the growing age of fattened turkeys. Particularly some indicators of the red blood component showed a statistically significant increase in their average values ($P \leq 0.01$) with the growing age of turkey chicks: hemoglobin content increased from 84.47 g/l to 106.34 g/l, hematocrit value from 0.32 l/l to 0.36 l/l. No such relations were demonstrated in other indicators of the red blood component under investigation. Their average values in turkeys fluctuated within definite limits: from 1.82 to 2.54 T/l in total erythrocyte counts, from 25.22 to 30.48% in mean corpuscular hemoglobin concentration, from 39.58 to 46.62 pg in mean corpuscular hemoglobin and from 136.82 to 184.80 fl mean corpuscular volume. There were no significant differences between the males and the females in the particular indicators of the red blood picture. Unlike the red blood picture, the indicators of the white blood picture show much higher variability. In spite of the relatively high variability no relationships between their levels and turkey age or sex were demonstrated for the total leucocyte counts nor for the different types of leucocytes. The average values of total counts of leucocytes ranged from 15.93 to 31.60 G/l. Large variations were observed in the different types of leucocytes, especially in heterophilic granulocytes (6.62–13.72 G/l), lymphocytes (4.32–20.86 G/l), monocytes (0.19–4.83 G/l) and basophilic granulocytes (0.50–2.26 G/l). The range of variation in the average values of eosinophilic granulocytes was relatively narrow – 0.20 to 0.34 G/l.

turkey; fattening; hematological indicators

ABSTRAKT: Předložená práce se zabývá sledováním hematologických ukazatelů u krůt v průběhu výkrmového období. Během sledování bylo vyšetřeno celkem 60 krůt hybridní kombinace XK, a to v 1., 35., 94. a 108. dnu věku. Z ukazatelů červené krevní složky byl během výkrmu jednoznačně zachycen vzrůst u hemoglobinu (84,47–106,34 g/l) a hematokritové hodnoty (0,32–0,36 l/l), a to jak u krocanů, tak i u krůt. U následných ukazatelů červeného krevního obrazu bylo prokázáno určité kolísání, a to u celkového počtu erytrocytů (1,82–2,54 T/l), obsahu hemoglobinu v erytrocytu (39,58–46,63 pg) a středního objemu erytrocytů (136,82–184,80 fl). Za relativně stabilní ukazatel červené krevní složky lze považovat hodnoty střední barevné koncentrace erytrocytu (25,22–30,48 %). Z ukazatelů bílé krevní složky byla v průběhu výkrmu prokázána u vyšetřovaných zvířat značná variabilita u celkového počtu leukocytů (15,93–31,60 G/l), bazofilních (0,50–2,26 G/l) a heterofilních (6,62–13,72 G/l) granulocytů, lymfocytů (4,32–20,86 G/l) a monocytů (0,19–4,83 G/l). Z jednotlivých leukocytů nejméně kolísaly hodnoty eozinofilních granulocytů (0,20–0,34 G/l).

krůta; výkrm; hematologické ukazatele

ÚVOD

Hematologické ukazatele společně s biochemickými ukazateli nám poskytují cenné informace o metabolickém profilu vyšetřovaných zvířat a umožňují tak diagnostikovat metabolické poruchy v preklinickém stadiu onemocnění. K tomu je zapotřebí znát základní fyziologické hodnoty sledovaných ukazatelů u klinicky zdravých zvířat.

V předložené práci se snažíme ukázat na hematologický profil krůt v průběhu výkrmu. Dále by získané výsledky měly upřesnit poznatky o hematologii krůt, a tím i doplnit údaje v aviační hematologii.

Hematologickými studiemi u kura domácího se zabývali Jantošovič (1967), Mikešová (1979), Šustrková (1980) a další. Z hlediska srovnávací hematologie je možné považovat za významné práce autorů Novotný (1966) a Komárek a kol.

(1966), kteří uvádějí základní ukazatele červeného krevního obrazu nejen u kura domácího, ale také u husy domácí a kachny domácí. U drůbeže se komplexně metabolickým profilem zabývali Suchý aj. (1988, 1989).

Jen výjimečně se setkáváme s pracemi, které pojednávají o hematologických ukazatelích u krůt. Autorem jedné ze základních prací uvádějící hodnoty celkového počtu leukocytů včetně procentového zastoupení jednotlivých druhů bílých krvinek je Klimeš (1961). Citovaný autor uvádí průměrnou hodnotu celkového počtu leukocytů u krůt 31,30 G/l, zastoupení lymfocytů 50,80 %, heterofilních 43,10 %, eozinofilních 1,40 % a bazofilních 4,10 %, granulocytů a monocytů 0,40 %. Hematologickými a vybranými biochemickými ukazateli u krůt v průběhu výkrmového období se zabýval Petr (1991). Autor uvádí průměrné hladiny hemoglobinu 96 g/l, průměrné zastoupení celkového počtu erytrocytů 2,25 T/l, průměrné zastoupení celkového počtu leukocytů 25,65 G/l a průměrnou hematokritovou hodnotu 0,34 l/l.

MATERIÁL A METODA

Během výkrmového období byly krůty ustájeny na podestýlce z tvrdých hoblovaček. Krmeny byly kompletní směsí pro krůty KR I – KR IV podle fyziologických nároků pro jednotlivá sledovaná období. Celkem bylo vyšetřeno 60 krůt, a to 1., 35., 94. a 108. den věku, kdy byla deseti náhodně vybraným, klinicky zdravým krůtám hybridní kombinace XK odebrána krev, a to v prvním dnu po dekapitaci a dále pak punkcí *vena ulnaris*. Krev pro hematologické ukazatele byla odebrána pravidelně mezi 8. a 9. hodinou ránní a byly sledovány následující ukazatele: celkový počet erytrocytů (Er) a leukocytů (Le) baničkovou metodou ředění a počítání krvinek pomocí Bürkerovy komůrky, obsah hemoglobinu (Hb) fotometricky na fotometru Specol-11 pomocí Drabkinova roztoku při vlnové délce 540 nm. Hematokritová hodnota (Hk) byla stanovena mikrohematokritovou metodou podle Janetzkiho. Bezprostředně po odběru krve byl zhotoven krevní nátěr pro stanovení diferenciálního počtu leukocytů v podobě absolutního zastoupení bazofilních (Ba), eozinofilních (Eo) a heterofilních granulocytů (He), lymfocytů (Ly) a monocytů (Mo). Dále byly vypočítány z celkového počtu erytrocytů, hemoglobinu a hematokritové hodnoty barevná koncentrace erytrocytu (MCHC), množství hemoglobinu v erytrocytu (MCH) a průměrný objem erytrocytů (MCV).

Statistické zpracování bylo provedeno metodou podle autorů Venčíkov a Venčíkov (1977). Z jednotlivých statistických ukazatelů byly vypočítány: aritmetický průměr ($\bar{x}$), směrodatná odchylka (s_{n-1}), střední chyba aritmetického průměru ($s_{\bar{x}}$) a variační koeficient (v). Pro posouzení průkaznosti rozdílů mezi průměrnými hodnotami bylo použito Studentova testu s pravděpodobností $P \leq 0,05$ a $P \leq 0,01$.

VÝSLEDKY

Výsledky hematologických studií krůt v průběhu výkrmu jsou shrnuty v tab. I–IV.

Průměrné hodnoty erytrocytů (Er) se u krůt pohybovaly v rozmezí 1,82–2,54 T/l. Nejnížší průměrná hodnota Er byla prokázána v prvním dnu věku krůtat a statisticky vysoce ($P \leq 0,01$) se lišila od ostatních průměrných hodnot Er stanovených v průběhu sledovaného období. V 35. dnu věku byl neprůkazný rozdíl zaznamenán mezi průměrnou hodnotou Er u krocanů 2,31 T/l a u krůt 2,54 T/l. Při vyšetření krůt ve věku 94 dnů byly mezi hodnotami Er u krocanů (2,29 T/l) a krůt (2,31 T/l) velmi nepatrné rozdíly, které byly testovány jako neprůkazné. Ve věku 108 dnů byla stanovena průměrná hodnota Er pouze u krocanů (2,53 T/l), protože krůty byly vykrmovány pouze do věku 94 dnů (tab. I).

Vzrůstající tendence byla pozorována u průměrných hladin hemoglobinu (Hb) v závislosti na věku, a to jak u krocanů, tak i u krůt. Průměrné hladiny Hb se pohybovaly v rozmezí od 84,47 g/l (první den věku) do 106,34 g/l (108. den věku). V 35. i 94. dnu věku byla u krocanů zaznamenána neprůkazně vyšší průměrná hladina Hb než u krůt. Statisticky významný ($P \leq 0,05$) vzrůst průměrné hladiny Hb (106,34 g/l) byl prokázán u krocanů ve 108. dnu věku (tab. I).

Průměrná hematokritová hodnota (Hk) se pohybovala v rozmezí 0,32–0,36 l/l. U krocanů byl zachycen vzrůst průměrných hodnot Hk v průběhu výkrmu s výjimkou 35. dne věku, kdy nastal statisticky vysoce průkazný ($P \leq 0,01$) pokles z 0,34 na 0,32 l/l. Obdobně i u krůt byl pozorován vzrůst průměrných hodnot Hk v průběhu výkrmu (tab. I).

Průměrné hodnoty koncentrace hemoglobinu v erytrocytu (MCHC) se během výkrmového období pohybovaly od 25,22 do 30,48 %. Nejnížší hodnota MCHC (25,22 %) byla prokázána v prvním dnu věku krůtat. Ve věku 35 dnů bylo zaznamenáno výrazné, statisticky vysoce průkazné ($P \leq 0,01$) zvýšení MCHC u krocanů (30,48 %) i krůt (28,79 %). Rovněž mezi hodnotami MCHC krocanů a krůt byl statisticky vysoce průkazný ($P \leq 0,01$) rozdíl. Ve věku 94 dnů nastal naopak statisticky vysoce průkazný ($P \leq 0,01$) pokles MCHC u krocanů na 28,80 %. U krůt byl tento pokles (28,47 %) minimální. Ve 108. dnu věku byl u krocanů zaznamenán statisticky neprůkazný vzrůst MCHC na 29,23 % (tab. II).

Průměrné hodnoty obsahu hemoglobinu v erytrocytu (MCH) kolísaly v průběhu výkrmu v rozmezí 39,58–46,63 pg. V rámci věkových skupin ani mezi pohlavím nebyly u sledovaných krůt zachyceny významné rozdíly mezi průměrnými hodnotami (tab. II). Obdobně kolísání bylo zachyceno i u průměrných hodnot objemu erytrocytů (MCV). Nejvyšší průměrná hodnota MCV (184,80 fl) byla stanovena v prvním dnu věku krůtat. Statisticky vysoce průkazný ($P \leq 0,01$) pokles MCV byl zaznamenán v 35. dnu věku, a to jak u krocanů (142,30 fl), tak i u krůt (136,82 fl). V 94. dnu věku

I. Hodnoty celkového počtu erytrocytů, hemoglobinu a hematokritu u krůt v období výkrmu včetně statistického vyhodnocení – The values of total erythrocyte counts, hemoglobin and hematocrit in turkeys during fattening, including statistical evaluation

Ukazatel ¹	Věk ²	Pohlaví ³	n	$\bar{x}$	s_{n-1}	$s_{\bar{x}}$	v
Er (T/l)	1. den ⁴	MF	10	1,82	0,139	0,044	7,63
	35. den	M	10	2,31	0,331	0,105	14,34
		F	10	2,54	0,415	0,131	16,34
	94. den	M	10	2,29	0,266	0,084	11,60
		F	10	2,31	0,288	0,091	12,46
	108. den	M	10	2,53	0,288	0,091	11,40
Hb (g/l)	1. den	MF	10	84,47	4,865	1,538	5,76
	35. den	M	10	98,56	5,769	1,824	5,85
		F	10	97,91	7,712	2,439	7,88
	94. den	M	10	99,65	4,289	1,356	4,30
		F	10	98,53	6,149	1,945	6,24
	108. den	M	10	106,34	8,461	2,676	7,96
Hk (l/l)	1. den	MF	10	0,34	0,015	0,005	4,46
	35. den	M	10	0,32	0,021	0,006	6,48
		F	10	0,34	0,021	0,007	6,24
	94. den	M	10	0,35	0,011	0,003	3,05
		F	10	0,35	0,021	0,006	5,90
	108. den	M	10	0,36	0,022	0,007	6,00

M = krocani – male turkeys

F = krůty – female turkeys

¹indicator, ²age, ³sex, ⁴day

II. Hodnoty MCHC, MCH a MCV u krůt v období výkrmu včetně statistického vyhodnocení – The values MCHC, MCH and MCV in turkeys during fattening, including statistical evaluation

Ukazatel ¹	Věk ²	Pohlaví ³	n	$\bar{x}$	s_{n-1}	$s_{\bar{x}}$	v
MCHC (%)	1. den ⁴	MF	10	25,22	1,119	0,379	4,75
	35. den	M	10	30,48	1,888	0,597	6,19
		F	10	28,79	1,302	0,412	4,52
	94. den	M	10	28,80	1,022	0,323	3,55
		F	10	28,47	0,449	0,142	1,58
	108. den	M	10	29,23	1,106	0,350	3,78
MCH (pg)	1. den	MF	10	46,63	3,150	0,996	6,75
	35. den	M	10	43,43	3,653	1,155	8,41
		F	10	39,58	7,824	2,747	19,77
	94. den	M	10	44,07	5,361	1,695	12,17
		F	10	43,18	5,234	1,655	12,12
	108. den	M	10	41,88	5,553	1,756	13,26
MCV (fl)	1. den	MF	10	184,80	7,748	2,450	4,19
	35. den	M	10	142,30	21,321	6,742	14,98
		F	10	136,82	21,970	6,947	16,06
	94. den	M	10	154,80	18,583	5,876	12,00
		F	10	150,94	18,654	5,899	12,36
	108. den	M	10	143,98	16,662	5,269	11,57

M = krocani – male turkey

F = krůty – female turkeys

¹indicator, ²age, ³sex, ⁴day

nastalo statisticky neprůkazné zvýšení MCV u krocanů na 154,80 fl a u krůt na 150,94 fl. Ve 108. dnu věku byl u krocanů zachycen statisticky neprůkazný pokles MCV na 143,98 fl (tab. II).

Průměrné hodnoty celkového počtu leukocytů (Le) se u vykrmovaných krůt pohybovaly od 15,93 do 31,60 G/l. Nejnížší hodnota Le (15,93 G/l) byla stanovena v prvním dnu věku krůtat. Zvýšení průměrného

III. Hodnoty celkového počtu leukocytů, bazofilů a eozinofilů u krůt v období výkrmu včetně statistického vyhodnocení – The values of total leucocyte counts, basophils and eosinophils in turkeys during fattening, including statistical evaluation

Ukazatel ¹	Věk ²	Pohlaví ³	n	$\bar{x}$	s_{n-1}	$s_{\bar{x}}$	v
LE (g/l)	1. den ⁴	MF	10	15,93	3,648	1,154	22,90
	35. den	M	10	19,80	7,855	2,484	39,67
		F	10	31,60	4,561	1,442	14,43
	94. den	M	10	31,25	7,611	2,407	24,36
		F	10	30,75	7,760	2,454	25,24
	108. den	M	10	27,70	5,437	1,719	19,63
Ba (G/l)	1. den	MF	10	0,50	0,460	0,145	91,98
	35. den	M	10	0,79	0,381	0,120	48,23
		F	10	0,99	0,761	0,241	77,06
	94. den	M	10	1,91	0,868	0,275	45,48
		F	10	2,26	0,669	0,212	29,62
	108. den	M	10	1,36	1,021	0,323	75,08
Eo (G/l)	1. den	MF	10	0,34	0,234	0,074	68,70
	35. den	M	10	0,20	0,078	0,025	39,27
		F	10	0,32	0,046	0,014	14,25
	94. den	M	10	0,31	0,076	0,024	24,55
		F	10	0,31	0,078	0,024	25,03
	108. den	M	10	0,27	0,056	0,018	20,66

M = krocani – male turkeys

F = krůty – female turkeys

¹indicator, ²age, ³sex, ⁴day

IV. Hodnoty heterofilů, lymfocytů a monocytů u krůt v období výkrmu včetně statistického vyhodnocení – The values of heterophils, lymphocytes and monocytes in turkeys during fattening, including statistical evaluation

Ukazatel ¹	Věk ²	Pohlaví ³	n	$\bar{x}$	s_{n-1}	$s_{\bar{x}}$	v
He (G/l)	1. den ⁴	MF	10	10,59	2,902	0,918	27,40
	35. den	M	10	8,35	2,267	0,717	27,15
		F	10	13,72	4,256	1,346	31,02
	94. den	M	10	9,01	5,053	1,598	56,08
		F	10	6,62	2,793	0,883	42,19
	108. den	M	10	11,64	4,071	1,287	34,98
Ly (G/l)	1. den	MF	10	4,32	1,269	0,401	29,38
	35. den	M	10	7,86	4,227	1,337	53,78
		F	10	11,74	3,591	1,135	30,59
	94. den	M	10	19,58	5,696	1,801	29,09
		F	10	20,86	5,692	1,800	27,29
	108. den	M	10	12,08	4,139	1,309	34,26
Mo (G/l)	1. den	MF	10	0,19	0,068	0,022	35,91
	35. den	M	10	2,60	1,578	0,499	60,71
		F	10	4,83	3,365	1,064	69,68
	94. den	M	10	0,45	0,304	0,096	67,47
		F	10	0,70	0,351	0,111	50,19
	108. den	M	10	1,28	1,221	0,386	95,37

M = krocani – male turkeys

F = krůty – female turkeys

¹indicator, ²age, ³sex, ⁴day

počtu Le nastalo v 35. dnu věku, a to neprůkazné u krocánů na 19,80 G/l a vysoce průkazné ($P \leq 0,01$) u krůt na 31,60 G/l. Rozdíl mezi průměrnými hodnotami Le krocánů a krůt byl testován jako statisticky vy-

soce průkazný ($P \leq 0,01$). V 94. dnu věku byl u krocánů zachycen statisticky vysoce průkazný ($P \leq 0,01$) vzrůst Le (31,25 G/l). Průměrné hodnoty Le u krůt byly v tomto sledovaném období ve srovnání s 35. dnem

věku téměř shodné (30,75 G/l). Rozdíly v počtu Le mezi krocany a krůtami byly neprůkazné. Ve 108. dnu věku nastal u kroců statisticky neprůkazný pokles Le na 27,70 G/l (tab. III).

Průměrné hodnoty bazofilních granulocytů (Ba) se pohybovaly v rozmezí 0,50–2,26 G/l. Nejnížší hodnota Ba (0,50 G/l) byla prokázána v prvním dne věku krůt a nejvyšší (2,26 G/l) v 94. dnu věku. Během celého období výkrmu byl u Ba pozorován jejich vzrůst, s výjimkou 108. dne věku, kdy u kroců byl zachycen statisticky neprůkazný pokles Ba (1,36 G/l). Rozdíly u Ba mezi krocany a krůtami ve sledovaném období byly testovány jako statisticky neprůkazné (tab. III).

Průměrné hodnoty eozinofilních granulocytů (Eo) se pohybovaly v rozmezí 0,20–0,34 G/l. V 35. dnu věku byl u kroců zachycen statisticky neprůkazný pokles Eo na 0,20 G/l, u krůt pouze na 0,32 G/l. Rozdíl průměrných hodnot u Eo mezi krocany a krůtami v 35. dnu věku byl testován jako vysoce průkazný ($P \leq 0,01$). V 94. dnu věku byla jak u kroců, tak i u krůt zachycena hodnota Eo 0,31 G/l. Ve 108. dnu věku u kroců nastal neprůkazný pokles Eo na 0,27 G/l (tab. III).

Výrazné kolísání bylo pozorováno u průměrných hodnot heterofilních granulocytů (He) od 6,62 G/l do 13,72 G/l. V 35. dnu věku u kroců neprůkazně poklesla průměrná hodnota He na 8,35 G/l, u krůt naopak nastal neprůkazný vzrůst na 13,72 G/l. Rozdíl mezi průměrnou hodnotou He u krůt a kroců byl testován jako statisticky vysoce průkazný ($P \leq 0,01$). V 94. dnu byl zachycen u kroců neprůkazný vzrůst průměrné hodnoty He na 9,01 G/l. Naopak u krůt v tomto období nastal vysoce průkazný ($P \leq 0,01$) pokles průměrné hodnoty He na 6,62 G/l. Rozdíl mezi průměrným počtem He mezi krocany a krůtami byl statisticky neprůkazný. U kroců ve 108. dnu věku bylo pozorováno neprůkazné zvýšení průměrné hodnoty He na 11,64 G/l (tab. IV).

U průměrných hodnot lymfocytů (Ly) byl v průběhu výkrmu zachycen statisticky vysoce průkazný ($P \leq 0,01$) vzrůst, výjma 108. dne věku, kdy u kroců nastal výrazný, statisticky vysoce průkazný ($P \leq 0,01$) pokles Ly z 19,58 na 12,08 G/l. Hodnoty Ly se pohybovaly v rozmezí od 4,32 G/l (1. den věku) do 20,86 G/l (94. den věku). Mezi pohlavím byly prokázány statisticky významné rozdíly u Ly pouze v 35. dnu výkrmu ($P \leq 0,01$) – tab. IV.

Výrazné rozdíly v průběhu výkrmu byly prokázány u průměrných hodnot monocytů (Mo). Hodnoty Mo se pohybovaly v rozmezí 0,19–4,83 G/l. V 35. dnu věku nastal vysoce průkazný ($P \leq 0,01$) nárůst průměrné hodnoty Mo jak u kroců (na 2,60 G/l), tak i u krůt (na 4,83 G/l). Rozdíly mezi průměrnými hodnotami Mo u kroců a krůt byly statisticky neprůkazné. V 94. dnu věku byl zaznamenán enormní, statisticky vysoce průkazný ($P \leq 0,01$) pokles průměrné hodnoty Mo u kroců (0,45 G/l) i krůt (0,70 G/l). Rozdíly v počtu Mo mezi pohlavím byly statisticky neprůkazné. Ve 108. dnu věku nastalo neprůkazné zvýšení Mo u kroců na 1,28 G/l (tab. IV).

DISKUSE

Z ukazatelů červené krevní složky byl zachycen vzrůst průměrné hladiny hemoglobinu v závislosti na věku krůt i na pohlaví. Námi dosažené výsledky se shodují s prací, kterou uveřejnil Petr (1991), kde uvádí průměrné hladiny hemoglobinu u krůt 96 g/l. Vyšší hodnoty hemoglobinu (130–160 g/l) uvádí Slanina a kol. (1965). Mezi průměrnými hladinami hemoglobinu 1. a 35. den věku byla zachycena jak u kroců, tak i u krůt statisticky vysoce významná rozdílnost ($P \leq 0,01$). Kolísání bylo pozorováno u průměrných hodnot celkového počtu erytrocytů. Hodnoty erytrocytů se pohybovaly od 1,82 T/l do 2,54 T/l. Statisticky vysoce významný vzrůst erytrocytů byl prokázán mezi 1. a 35. dnem věku u kroců i krůt. Mezi pohlavím nebyly v tomto sledovaném období zachyceny významné rozdíly v počtu erytrocytů. Námi zjištěné výsledky se blíží hodnotám, které uvádí Sturkie (1976), u kroců zjistil hodnotu 2,2 T/l, u krůt 2,3 T/l. Dosažené hodnoty celkového počtu erytrocytů jsou opět nižší než zjistil u krůt Slanina a kol. (1965). Citovaný autor uvádí průměrnou hodnotu celkového počtu erytrocytů 3,5 T/l s rozpětím 2,5–4,5 T/l. U průměrné hematokritové hodnoty byl zachycen nepatrný vzrůst, s výjimkou 35. dne věku u kroců, kdy byl zaznamenán statisticky vysoce průkazný ($P \leq 0,01$) pokles hematokritu na 0,32 l/l. Dosažené hodnoty hematokritu se pohybovaly v rozmezí 0,32–0,36 l/l. Korespondují s výsledky, které uveřejnil Petr (1991). Autor uvádí u krůt průměrnou hematokritovou hodnotu 0,34 l/l. Obdobně jako u hemoglobinu a celkového počtu erytrocytů i u hematokritové hodnoty uvádí Sturkie (1976) vyšší hematokritové hodnoty ve srovnání s našimi výsledky. Námi zjištěné hodnoty střední barevné koncentrace erytrocytů (25,22–30,48 %) se blíží hodnotám, které uvádí Straková aj. (1994) u křepelky japonské. Petr (1991) dospěl u výkrmových krůt k hodnotám 25,22–30,96 %. Nižší hodnoty obsahu hemoglobinu v erytrocytu (37,18–38,59 pg) uvádějí Nirmalan a Robinson (1973) ve srovnání s našimi výsledky (39,58–46,63 pg). Dosažené výsledky zhruba odpovídají hodnotám, ke kterým dospěli Lazar aj. (1987). Výsledky průměrných hodnot středního objemu erytrocytů 136,82–184,80 fl jsou nepatrně vyšší než uvádějí Nirmalan a Robinson (1973) u křepelky japonské. Atwal aj. (1964) publikovali hodnoty středního objemu erytrocytů podstatně nižší (84–90 fl).

Značná variabilita byla prokázána u ukazatelů bílé krevní složky, kde jednotlivé ukazatele kolísaly v poměrně širokých mezích. Celkový počet leukocytů se pohyboval v rozmezí 15,93–31,60 G/l. Námi dosažené výsledky se přibližně shodují s výsledky v práci Kliměš (1961), který zjistil průměrnou hodnotu leukocytů 31,30 G/l. Petr (1991) uvádí průměrnou hodnotu leukocytů u výkrmových krůt 25,65 G/l. Námi dosažené výsledky jednotlivých druhů leukocytů nelze porovnat s výsledky autorů, kteří uvádějí jednotlivé druhy bílých krvinek v procentovém zastoupení. Značná va-

riabilita byla zaznamenána u absolutního zastoupení jednotlivých druhů leukocytů u lymfocytů (4,32–20,86 G/l), monocytů (0,19–4,83 G/l), heterofilních (6,62–13,72 G/l) a bazofilních (0,50–2,26 G/l) granulocytů. Hodnoty eozinofilních granulocytů se pohybovaly v rozmezí 0,20–0,34 G/l. Jako zajímavý poznatek z hematologického vyšetření krůt lze uvést, nejen při tomto sledování, že u krůt byly pravidelně diagnostikovány vyšší počty bazofilních granulocytů ve srovnání s jinými druhy drůbeže.

LITERATURA

- ATWAL, O. S. et al.: Hematology of Coturnix from birth to maturity. *Poult. Sci.*, 63, 1964: 1392.
- JANTOŠOVIČ, J.: Hodnoty hematokritu a sedimentace erytrocytů u kura domácího. *Folia Vet.*, 11, 1967: 205–210.
- KLIMEŠ, B.: Nemoci drůbeže. Praha, SZN 1961. 676 s.
- KOMÁREK, V. a kol.: Anatomie hospodářských ptáků. Praha, SZN 1966: 55.
- LAZAR, V. – PRAVDA, D. – FARUGA, A.: Dynamics of changes in hematocrit value and haemoglobin levels in blood of geese in relation to their performance. In: Sbor. 20. jubilejní mezinárodní Konf. o fyziologii drůbeže, Brno, 1987: 161.
- MIKEŠOVÁ, M.: Sledování některých hodnot krve ptáků. [Diplomová práce.] Brno 1979. 49 s. – Vysoká škola zemědělská.
- NIRMALAN, G. P. – ROBINSON, G. A.: The survival time of erythrocytes (DF^{32p} Label) in the Japanese quail. *Poult. Sci.*, 72, 1973: 355.

- NOVOTNÝ, E.: Veterinární histologie. 1. vyd., Praha, 1966. 637 s.
- PETR, P.: Sledování hematologických a vybraných biochemických ukazatelů u krůt ve výkrmu. In: Sbor. 24. mezinárodní Konference o fyziologii drůbeže, Brno 3.–4. září 1991.
- SLANINA, L. a kol.: Klinická propedeutika a diagnostika vnitřních chorob hospodářských zvířat. 1. vyd. Bratislava, SVPL 1965. 573 s.
- STRAKOVÁ, E. – SUCHÝ, P. – KLECKER, D. – ILLEK, J.: Hematologické a biochemické ukazatele krve křepelky japonské v průběhu odchovu a snášky. *Živoč. Výr.*, 39, 1994: 409–420.
- STURKIE, P. D.: Avian Physiology. New York, Springer-Verlag 1976. 400 s.
- SUCHÝ, P. – JEŘÁBEK, S. – MÁCHAL, L. – STANĚK, S.: Závislost mezi vývinem gonád kohoutů a hematologickými a biochemickými ukazateli krve. *Živoč. Výr.*, 33, 1988: 987–996.
- SUCHÝ, P. – JEŘÁBEK, S. – STANĚK, S. – ZELENKA, J.: Dynamika změn krevního obrazu a biochemických ukazatelů krevní plazmy u plemenných kohoutů v době pohlavního dospívání. *Živoč. Výr.*, 34, 1989: 741–750.
- ŠUSTROVÁ, A.: Studium některých parametrů krve ptáků. [Diplomová práce.] 1980. 44 s. – Vysoká škola zemědělská.
- VENČÍKOV, A. I. – VENČÍKOV, V. A.: Základní metody statistického zpracování dat ve fyziologii. Praha, Avicenum 1977.

Došlo 17. 8. 1994

Kontaktní adresa:

Doc. MVDr. ing. Pavel Suchý, CSc., Veterinární a farmaceutická univerzita, Palackého 1–3, 612 42 Brno, Česká republika
Tel. 05/41 32 11 07, fax 05/41 21 11 51

COMPARISON OF PATHOGENESIS AND EPIZOOTOLOGY SIGNIFICATION OF AVIAN MYCOBACTERIOSIS IN DIFFERENT SORTS OF DOMESTIC AND FREE LIVING SYNANTHROPIC FOWL

SROVNÁNÍ PATOGENEZE A EPIZOOTOLOGICKÉHO VÝZNAMU AVIÁRNÍ MYKOBAKTERIÓZY RŮZNÝCH DRUHŮ DOMESTIKOVANÝCH A VOLNĚ ŽIJÍCÍCH SYNANTROPNÍCH PTÁKŮ

K. Hejlíček, F. Tremel

University of Veterinary and Pharmaceutical Sciences, Brno, Czech Republic

ABSTRACT: The sensitivity of domestic and different sorts of synanthropic free living fowl to *M. avium* and pathogenesis of tuberculous process were observed by experimental infections. The partridge, domestic fowl, pheasant and sparrow were the most sensitive to intramuscular infection by suspension of *M. avium*. The sparrow, domestic fowl, laughing gull were the most sensitive to peroral infection by food contaminated by the poultry liver. After free contact between the poultry, the domestic fowl was the most sensitive to infection and then the sparrow, turkey, guinea fowl, pheasant and partridge were sensitive, too. The tuberculous lesions were observed in majority of infected fowls in cases of guinea fowl, turkey, laughing gull, domestic fowl, sparrow, partridge and pheasant after all types of infections. The pigeon, rook and turtle-dove were very resistant to *M. avium* infection. The largest quantities of mycobacteria in tissues of infected fowl were found in sparrow and guinea fowl and then in domestic fowl, pheasant and partridge. From the results of patho-morphological and culture examinations, we can distribute the experimentally infected fowl in four groups: very sensitive – domestic fowl, sparrow, pheasant, partridge, laughing gull; little sensitive – guinea fowl, turkey; resistant – goose, duck; very resistant – pigeon, turtle-dove, rook. It is necessary to know that the sensitivity of these sorts of fowl can be affected by conditions of experimental infection. If we want to criticize the epizootological importance of individual sorts of fowl as a source of *M. avium*, we must take into account their sensitivity to *M. avium*, pathogenesis of tuberculous process and their breeding or zoological specificities of individual sorts.

avian mycobacteriosis; pathogenesis; epizootology; domestic fowl; synanthropic birds

ABSTRAKT: Experimentálními infekcemi byla sledována vnímavost k *M. avium* a patogeneze tuberkulózního procesu u domestikovaných a vybraných druhů synantropních, volně žijících ptáků. Po intramuskulární infekci suspenzí *M. avium* jako nejvnímavější se jevil koroptev polní, kur domácí, bažant obecný a vrabec sp. Po perorální infekci krmivem kontaminovaným tuberkulózně změněnými játry kura domácího byl nejvnímavější vrabec sp., kur domácí a racek chechtavý. Po infekci kontaktem s tuberkulózním kurem nejvnímavější byl kur domácí, pak vrabec sp., krocan domácí, perlička domácí, bažant obecný a koroptev polní. Při všech způsobech infekce byl pozorován vznik tuberkulózních změn u většiny infikovaných ptáků v případě perličky domácí, krocana domácího, racka chechtavého, kura domácího, vrabce sp., koroptve polní a bažanta obecného. Jako velmi rezistentní se jevil holub domácí, hrdlička zahradní a havran polní. Největší množství mykobakterií ve tkáních infikovaných ptáků bylo prokazováno u vrabce sp. a perličky domácí, dále i u kura domácího, bažanta obecného a koroptve polní. Podle výsledků patologickomorfologického a kulturačního vyšetření lze experimentálně infikované druhy ptáků rozdělit na velmi vnímavé – kur domácí, vrabec sp., bažant obecný, koroptev polní, racek chechtavý; méně vnímavé – perlička domácí, krocan domácí; poměrně rezistentní – husa domácí, kachna domácí; značně rezistentní – holub domácí, hrdlička zahradní, havran polní. Nutno však vzít v úvahu, že vnímavost těchto druhů mohla být ovlivněna podmínkami experimentálních infekcí. K posouzení epizootologického významu jednotlivých druhů ptáků jako zdrojů *M. avium* je nutno vycházet z jejich vnímavosti k mykobakteriím, z patogeneze tuberkulózního procesu a brát v úvahu i chovatelské, resp. zoologické specifity jednotlivých druhů.

aviární mykobakterióza; patogeneze; epizootologie; domestikované ptáky; synantropní ptáci

Aviární mykobakteriíza zaujímá stále čelné postavení mezi mykobakteriálními infekcemi zvířat. *M. avium* se prokazuje jako nejčastější etiologické agens v tuberkulózních procesech nejen u ptáků, ale i u různých druhů savců. Podle Výroční zprávy za rok 1991 je *M. avium* nejčastěji izolovaným druhem z tuberkulózních změn prasat a skotu.

Nejzávažnějším zdrojem *M. avium* zůstávají ptáci, především kur domácí. Jeho chov v malých hejnech, často v podmínkách s nízkou úrovní hygieny, a držení víceletých jedinců vytváří podmínky pro dlouhodobou perzistenci tuberkulózní infekce. Předpokládá se, že z tohoto zdroje se infikují další druhy domestikovaných a volně žijících ptáků (Schaaf, 1932; Hinshaw, 1933; Plum, 1942; Lucas, 1956; Jęgošin a Šergin, 1966; Rozanska, 1966; Jorgensen, 1978; Hejlíček a Tremel, 1993a, b, c; 1994a, b; 1995a, b; Hejlíček aj., 1994, 1995). Případy onemocnění tuberkulózou byly popsány i u dalších druhů domestikovaných ptáků a vysloveny předpoklady o jejich podílu na šíření aviárních mykobakterií na další jedince (Zajíček a Pavlas, 1983 u husy domácí; Schaaf, 1932 u kachny domácí; Jęgošin a Šergin, 1966 u perličky domácí; Hinshaw, 1933 u krocan domácí; Röder, 1964; Fedosejev aj., 1965 u holuba domácího), avšak jednalo se vesměs jen o sporadické případy, které mohou ovlivnit pouze místní epizootologickou situaci. Podobně i u volně žijících ptáků se předpokládá, že se infikují v tuberkulózních chovech kura domácího. Šíření mezi jedinci téhož druhu se pokládá za méně pravděpodobné vzhledem ke značné prostorové disperzi, kdy nenastává masivní kontaminace prostředí potřebná pro přenos vylučovaného infektu na další jedince. Určitou výjimku v tomto směru tvoří bažanti z polokrokových chovů, v nichž právě na malém prostoru je chováno množství vnímavých ptáků a nastává značné znečištění ustajovacích prostorů a výběhů mykobakteriemi (Devos aj., 1975; Popluhár aj., 1975; Poli aj., 1982; Müller aj., 1983). Ptáci infikovaní z primárního zdroje však mohou přenášet *M. avium* do stájí hospodářských zvířat, skladů krmiv, píce, k vodním zdrojům apod.

Epizootologický význam jednotlivých druhů ptáků jako šířitelů aviárních mykobakterií je dán nejen jejich způsobem života, početními stavy, potravními návyky, nýbrž i jejich vnímavostí k *M. avium*, rychlostí vzniku a lokalizací tuberkulózních změn. Proto jsme konali experimentální infekce nejdůležitějších druhů domácích i volně žijících ptáků aviárními mykobakteriemi (Hejlíček a Tremel, 1993a, b, c; 1994a, b; 1995a, b; Hejlíček aj., 1994, 1995). Cílem této publikace je shrnutí a porovnání všech našich dosavadních výsledků o patogenезi a epizootologickém významu aviární mykobakteriízy u ptáků.

V sérii několika pokusů jsme infikovali vybrané druhy ptáků:

a) Intramuskulárně (*i. m.*) suspenzí *M. avium*, sérotyp 2, v dávce 1 mg/kg ž. h.: kur domácí (60 jedinců), perlička domácí (4), krocan domácí (16), husa domácí (16), kachna domácí (27), holub domácí (24), bažant obecný (15), koroptev polní (14), hrdlička zahradní (13), havran polní (13), vrabec sp. (49) a rasek chechtavý (9 jedinců). Pokud ptáci neuhynuli, byli usmrceni po částech v údobí 12–69 dnů po infekci.

b) Perorálně (*p. o.*) krmivem kontaminovaným tuberkulózně změněnými játry kura domácího (ze změněných jater byly izolovány mykobakterie, určené jako *M. avium*, sérotyp 2) v poměru 1 díl jater a 9 dílů krmiva po dobu 10 dnů: kur domácí (60 jedinců), perlička domácí (3), krocan domácí (12), husa domácí (11), kachna domácí (21), holub domácí (17), bažant obecný (18), koroptev polní (9), hrdlička zahradní (9), havran polní (8), vrabec sp. (18) a rasek chechtavý (14 jedinců). Ptáci byli po částech usmrceni za 36–220 dnů po infekci.

c) Kontaktem s kurem domácím pocházejícím z chovu infikovaného tuberkulózou. Kur domácí reagoval na tuberkulin a někteří ptáci projevovali klinické příznaky onemocnění. Po usmrcení na konci pokusu byly u nich nalezeny tuberkulózní změny v orgánech a izolovány kmeny *M. avium*, sérotyp 2: kur domácí (39 jedinců), perlička domácí (3), krocan domácí (11), husa domácí (12), kachna domácí (20), holub domácí (18), bažant obecný (16), koroptev polní (14), hrdlička zahradní (7), havran polní (8), vrabec sp. (9 jedinců). Ptáci byli po částech usmrceni za 157–380 dnů po infekci.

Po usmrcení, příp. úhynu, byli ptáci vyšetřeni patologickeoanatomicky, jejich tkáně a orgány kultivačně a u části i histologicky. Kultivováno bylo na tři pevné půdy podle Petragnaniho a na tři 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 kultivace ukončena. Histologické řezy byly barveny hematoxilin-eozinem na průkaz specifické granulační tkáně a podle Ziehl-Neelsena na průkaz mykobakterií.

VÝSLEDKY

V tab. Ia–c je uvedeno pořadí vnímavosti k *M. avium* podle vzniku patologickomorfologických změn.

Po intramuskulární infekci se nejdříve objevily změny v játrech a ve slezině u koroptve polní, kura domácího, bažanta obecného a vrabce sp. O něco později, zejména patologickeoanatomické změny, u perličky domácí, dále pak u husy domácí a kachny domácí. U holuba domácího, hrdličky zahradní a havrana polního

I. Pořadí vnímavosti k *M. avium* jednotlivých druhů ptáků po různých způsobech infekce, podle vzniku patologicomorfolických změn (ve dnech) – The rank of sensitivity to *M. avium* in different sorts of fowl after various methods of infection and according to the occurrence of pathomorphological lesions (in days)

a) po intramuskulární infekci – after intramuscular infection								
	Játra ¹		Slezina ²		Plíce ³		Střevo ⁴	
	H	PA	H	PA	H	PA	H	PA
Koroptev polní (<i>Perdix perdix</i>)	21	21	21	21	–	–	35	69
Kur domácí (<i>Gallus domesticus</i>)	11	21	14	28	28	–	–	–
Bažant obecný (<i>Phasianus colchicus</i>)	21	21	21	35	–	–	35	–
Vrabec sp. (<i>Passer</i> sp.)	14	21	28	35	56	–	42	–
Perlička domácí (<i>Numida meleagris</i> f. d.)	14	42	0	42	14	–	14	–
Krocán domácí (<i>Meleagris gallopavo</i> f. d.)	X	55	X	55	X	–	X	–
Husa domácí (<i>Anser anser</i> f. d.)	X	69	X	35	X	–	X	–
Kachna domácí (<i>Anas platyrhynchos</i> f. d.)	21	69	12	69	–	–	–	–
Racek chechtavý (<i>Larus ridibundus</i>)	X	70	X	70	X	–	X	–
Holub domácí (<i>Columba livia</i> f. d.)	28	–	–	–	56	–	56	–
Hrdlička zahradní (<i>Streptopelia decaocto</i>)	28	–	–	–	28	–	–	–
Havran polní (<i>Corvus frugilegus</i>)	12	–	12	–	–	–	–	–
b) po perorální infekci – after peroral infection								
Vrabec sp. (<i>Passer</i> sp.)	0	91	0	91	0	150	0	91
Kur domácí (<i>Gallus domesticus</i>)	96	106	49	106	96	106	96	106
Racek chechtavý (<i>Larus ridibundus</i>)	X	118	X	118	X	–	X	118
Husa domácí (<i>Anser anser</i> f. d.)	X	133	X	106	X	133	X	106
Krocán domácí (<i>Meleagris gallopavo</i> f. d.)	X	133	X	133	X	133	X	163
Kachna domácí (<i>Anas platyrhynchos</i> f. d.)	X	133	X	133	X	–	X	106
Bažant obecný (<i>Phasianus colchicus</i>)	0	136	0	136	160	–	0	136
Perlička domácí (<i>Numida meleagris</i> f. d.)	0	160	0	160	160	–	0	160
Holub domácí (<i>Columba livia</i> f. d.)	–	–	–	–	–	–	0	160
Hrdlička zahradní (<i>Streptopelia decaocto</i>)	X	–	X	–	X	–	X	–
Havran polní (<i>Corvus frugilegus</i>)	X	–	X	–	X	–	X	–
c) po kontaktní infekci – after contact infection								
Kur domácí (<i>Gallus domesticus</i>)	0	106	0	180	270	–	0	180
Vrabec sp. (<i>Passer</i> sp.)	X	180	0	180	180	–	180	–
Krocán domácí (<i>Meleagris gallopavo</i> f. d.)	X	218	X	218	X	218	X	253
Perlička domácí (<i>Numida meleagris</i> f. d.)	0	180	0	270	0	270	0	270
Bažant obecný (<i>Phasianus colchicus</i>)	0	238	180	–	–	–	0	270
Koroptev polní (<i>Perdix perdix</i>)	180	–	0	250	–	–	–	–
Hrdlička zahradní (<i>Streptopelia decaocto</i>)	180	–	–	–	–	–	–	–
Holub domácí (<i>Columba livia</i> f. d.)	–	–	–	–	–	–	380	–
Husa domácí (<i>Anser anser</i> f. d.)	X	–	X	–	X	–	X	–
Kachna domácí (<i>Anas platyrhynchos</i> f. d.)	X	–	X	–	X	–	X	–
Havran polní (<i>Corvus frugilegus</i>)	X	–	X	–	X	–	X	–

X = nebylo vyšetřováno – not examined

– = změny se nevyvinuly – no lesions appeared

0 = do doby vzniku patologickeoanatomických změn nebyly patologickeohistologické změny zjištěny – since the appearance of patho-anatomic lesions no pathohistological lesions have been observed

H = patologickeohistologické změny – pathohistological lesions

PA = patologickeoanatomické změny – pathoanatomic lesions

¹liver, ²spleen, ³lungs, ⁴intestine

byly nalezeny pouze histologické změny, patologickeoanatomické změny se vůbec nevyvinuly. Histologické změny v plicích, pokud byly plíce vyšetřovány, byly nalezeny u více druhů, nejdříve však u perličky domácí. Obdobně tomu bylo i při histologických nálezech

tuberkulózních změn ve střevech. Makroskopické tuberkulózní procesy ve střevě vznikly pouze u koroptev polní.

Po perorální infekci kontaminovaným krmivem se projeвили jako nejvnímavější vrabec sp., kur domácí

	Způsob infekce ¹											
	i. m.				p. o.				kontakt ²			
	A	B	C	%	A	B	C	%	A	B	C	%
Kur domácí (<i>Gallus domesticus</i>)	60	46	34	73,9	60	42	33	78,6	39	37	11	29,7
Vrabec sp. (<i>Passer</i> sp.)	49	28	14	50,0	18	17	16	94,1	9	4	3	75,0
Bažant obecný (<i>Phasianus colchicus</i>)	15	10	6	60,0	18	14	11	78,6	16	7	3	42,8
Koroptev polní (<i>Perdix perdix</i>)	14	10	7	70,0	9	2	1	50,0	14	2	1	50,0
Racek chechtavý (<i>Larus ridibundus</i>)	9	3	3	100,0	14	10	5	50,0	–	–	–	–
Krocen domácí (<i>Meleagris gallopavo</i> f. d.)	16	4	4	100,0	12	8	6	75,0	11	5	4	80,0
Perlička domácí (<i>Numida meleagris</i> f. d.)	4	2	2	100,0	3	3	3	100,0	3	3	3	100,0
Husa domácí (<i>Anser anser</i> f. d.)	16	8	4	50,0	11	10	10	100,0	12	0	0	0
Kachna domácí (<i>Anas platyrhynchos</i> f. d.)	27	6	4	66,6	21	18	16	88,9	20	0	0	0
Holub domácí (<i>Columba livia</i> f. d.)	24	0	0	0	17	8	3	37,5	18	0	0	0
Hrdlička zahradní (<i>Streptopelia decaocto</i>)	13	0	0	0	9	0	0	0	7	0	0	0
Havran polní (<i>Corvus frugilegus</i>)	13	0	0	0	8	0	0	0	8	0	0	0

A = počet jedinců na začátku pokusu – number of birds at the beginning of trial

B = počet jedinců u době prvního nálezu tub. změny – number of birds at the first finding of the lesion

C = z toho s tub. nálezem v průběhu pokusu – out of that: the lesions during trial

¹method of infection, ²contact

a racek chechtavý. O něco méně vnímavý pak husa domácí, krocen domácí, kachna domácí, bažant obecný a perlička domácí. U holuba domácího byly nalezeny pouze změny ve střevě a u hrdličky zahradní a havrana polního nebyly nalezeny žádné patologickoanatomické změny. Histologické tuberkulózní změny v plicích, opět pokud byli ptáci vyšetřováni, vznikly u různých druhů, makroskopické procesy však byly nalezeny pouze u druhů více vnímavých. U většiny druhů ptáků však byla po 91–160 dnech nalezena makroskopická tuberkulóza střev.

Po kontaktní infekci vznikly patologickoanatomické tuberkulózní změny jater resp. sleziny nejdříve u kura domácího a později u vrabce sp., krocana domácího, perličky domácí, bažanta obecného a koroptve polní. Makroskopické změny v plicích byly nalezeny pouze u krocana domácího a perličky domácí, histologické u kura domácího a vrabce sp. Ve střevě vznikly po kontaktní infekci makroskopické změny nejdříve u kura domácího, později u krocana domácího, perličky domácí a bažanta obecného, histologické nálezy u vrabce sp. a velmi opožděně u holuba domácího.

V tab. II je opět podle jednotlivých druhů a způsobů infekce uvedeno, u kolika jedinců od doby prvního zjištění patologickoanatomických tuberkulózních změn se vyvinuly do konce pokusu tuberkulózní procesy v různých orgánech. Jednotlivé druhy ptáků nebyly stejně početně zastoupeny a výsledky se liší i podle způsobu infekce. Nicméně při všech způsobech infekce se vyvinuly tuberkulózní změny u značné části ptáků (od data prvního nálezu patologickomorfologických změn) u perličky domácí, krocana domácího, racek chechtavého, kura domácího, vrabce sp., koroptve polní a ba-

žanta obecného. Intenzita kultivačních nálezů z jednotlivých tkání sledovaných druhů ptáků a po různých způsobech infekce je patrná z tab. IIIa–c. Pokud hodnotíme průměr z kultivačních nálezů všech ptáků v pokusné skupině za celou dobu pokusu podle kritéria uvedeného v tabulce, tedy hojný nárůst kolonií byl především u velmi vnímavých druhů (podle výsledků patologickomorfologických vyšetření). Po všech způsobech infekce však velmi intenzivní nárůst mykobakterií z různých tkání byl pozorován u vrabce sp. a perličky domácí. Intenzivní nárůst a izolace z více tkání byl zjišťován i u kura domácího, bažanta obecného a koroptve polní. U těchto druhů byly prokazovány i mykobakterie z obsahu střev.

Podle výsledků patologickomorfologických zjištění po různých způsobech infekce a s přihlédnutím k výsledkům kultivace je možno rozdělit jednotlivé druhy ptáků podle vnímavosti do čtyř kategorií, jak je uvedeno v tab. IV, s tím, že u racek chechtavého se nepodařilo uskutečnit všechny způsoby infekce. Dále pak perlička domácí se jevila jako vnímavější k *M. avium* než krocen domácí a podobně kachna domácí je vnímavější než husa domácí.

DISKUSE

Epizootologický význam jednotlivých druhů ptáků při přenosu a šíření aviárních mykobakterií je dán mj. i jejich vnímavostí k *M. avium*, rychlostí vzniku a rozvoje tuberkulózního procesu a postižením orgánů a tkání, majících bezprostřední vztah k vylučování mykobakterií z organismu. V experimentech byly voleny

III. Výsledky kultivačního vyšetření na mykobakterie jednotlivých tkání ptáků po různých způsobech infekce (průměrná hodnota z výsledků vyšetření všech jedinců v pokusu) – The results of culture examination for mycobacteria in the particular tissues of fowl after application of various methods of infection (average value of the results of examination of all birds in trial)

a) po intramuskulární infekci – after intramuscular infection									
	Sv	Ja	Sl	Pl	L	St	PO	KD	M
Koroptev polní (<i>Perdix perdix</i>)	2,4	2,1	2,3	1,2	0,8	0,2	0,6	1,1	0
Kur domácí (<i>Gallus domesticus</i>)	2,1	1,5	1,6	0,7	0,5	0	0,4	0,4	0,2
Bažant obecný (<i>Phasianus colchicus</i>)	2,6	2,1	2,2	1,2	0,7	0,3	1,1	0,6	0,4
Vrabc sp. (<i>Passer sp.</i>)	2,3	2,0	1,8	1,2	0,8	0,1	0,1	1,1	0,4
Perlička domácí (<i>Numida meleagris f. d.</i>)	3,0	2,0	2,7	2,0	2,0	0	0,5	1,5	0,25
Krocan domácí (<i>Meleagris gallopavo f. d.</i>)	2,2	1,3	1,5	0,5	0,1	0	0,1	0,5	0,07
Husa domácí (<i>Anser anser f. d.</i>)	2,0	1,7	1,4	0,5	0,9	0	0,4	0,1	0,2
Kachna domácí (<i>Anas platyrhynchos f. d.</i>)	1,7	1,1	1,4	0,5	0,4	0	0,1	0,3	0
Racek chechtavý (<i>Larus ridibundus</i>)	1,1	0,7	0,9	0,9	0,7	0,1	0	0,1	0,6
Holub domácí (<i>Columba livia f. d.</i>)	1,7	0,5	0,3	0,1	0,04	0,04	0,04	0,6	0,1
Hrdlička zahradní (<i>Streptopelia decaocto</i>)	1,7	1,6	0,8	0,4	0,3	0	0,2	0,3	0,1
Havran polní (<i>Corvus frugilegus</i>)	2,5	0,8	1,2	0,7	0,3	0	0,5	0,7	0
b) po perorální infekci – after peroral infection									
Vrabc sp. (<i>Passer sp.</i>)	1,0	2,1	2,1	1,1	0,9	0,6	0,4	0,7	0,5
Kur domácí (<i>Gallus domesticus</i>)	0,1	0,9	0,8	0,6	0,1	0,1	0,1	0,2	0,1
Racek chechtavý (<i>Larus ridibundus</i>)	0	0,4	0,6	0,2	0,15	0,15	0,2	0	0,1
Husa domácí (<i>Anser anser f. d.</i>)	0	0,6	0,6	0,2	0	0	0	0	0
Krocan domácí (<i>Meleagris gallopavo f. d.</i>)	0	0,2	0,6	0,9	0,1	0	0	0	0
Kachna domácí (<i>Anas platyrhynchos f. d.</i>)	0	0,2	0,1	0,3	0	0	0	0,1	0,1
Perlička domácí (<i>Numida meleagris f. d.</i>)	0,3	2,0	2,0	1,7	0	0,5	0	0,3	0
Bažant obecný (<i>Phasianus colchicus</i>)	0,1	1,5	1,7	1,1	0,5	0,6	0,5	0,3	0,1
Holub domácí (<i>Columba livia f. d.</i>)	0	0,2	0,3	0,15	0,15	0	0,15	0,1	0,15
Hrdlička zahradní (<i>Streptopelia decaocto</i>)	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Havran polní (<i>Corvus frugilegus</i>)	0,3	0,4	0	0	0	0	0	0	0
c) po kontaktní infekci – after contact infection									
Kur domácí (<i>Gallus domesticus</i>)	0	0,4	0,4	0,2	0,1	0,05	0,2	0,1	0,03
Vrabc sp. (<i>Passer sp.</i>)	0	0,4	0,3	0,1	0,1	0	0	0	0
Krocan domácí (<i>Meleagris gallopavo f. d.</i>)	0	0,4	0,4	0,2	0,1	0	0	0	0
Perlička domácí (<i>Numida meleagris f. d.</i>)	0	1,3	1,0	0,3	0,3	0	0	0,3	0
Bažant obecný (<i>Phasianus colchicus</i>)	0,2	0,4	0,1	0,1	0	0	0	0,1	0
Koroptev polní (<i>Perdix perdix</i>)	0	0,7	1,0	0	0	0	0	0	0
Hrdlička zahradní (<i>Streptopelia decaocto</i>)	0,3	0,2	0	0	0	0	0	0	0
Holub domácí (<i>Columba livia f. d.</i>)	0	0	0	0	0	0	0	0,1	0
Husa domácí (<i>Anser anser f. d.</i>)	0	0	0,1	0	0	0	0	0	0
Kachna domácí (<i>Anas platyrhynchos f. d.</i>)	0	0,2	0,2	0,1	0,1	0	0	0,1	0
Havran polní (<i>Corvus frugilegus</i>)	0	0	0	0	0	0	0	0	0

Hodnocení – Evaluation:

do 20 kolonií – less than 20 colonies – 1

nad 20 kolonií – more than 20 colonies – 2

souvislý porost – continuous growth – 3

Průměr: Součet všech hodnot v souboru dělený počtem vyšetřených jedinců – Average: The sum of all values in the set divided by the number of examined birds

Sv: sval – muscle; Ja: játra – liver; Sl: slezina – spleen; Pl: plíce – lungs; L: ledvina – kidney; St: střevo – intestine; PO: pohlavní orgány – sex organs; KD: kostní dřeň – bone marrow; M: mozek – brain

a srovnávají tři způsoby infekce: intramuskulární, krmivem kontaminovaným tuberkulózní tkání a kontaktem s tuberkulózním kurem.

Intramuskulární infekci lze považovat za exaktní, jednotliví ptáci dostávali parenterálně dávku mykobakterií odpovídající jejich hmotnosti. Při ní se jednoznačně

ně projeví, vedle kura domácího, jako velmi vnímavé volně žijící druhy: koroptev polní, bažant obecný a vrabc sp. V přibližně stejnou dobu u nich vznikly histologické a makroskopické tuberkulózní změny v játrech a slezině a většinou i histologické změny v plicích a ve střevě. Později byl zaznamenán nástup změn u perličky

Velmi vnímaví ¹	kur domácí (<i>Gallus domesticus</i>), vrabec sp. (<i>Passer</i> sp.), bažant obecný (<i>Phasianus colchicus</i>), koroptev polní (<i>Perdix perdix</i>), racek chechtavý (<i>Larus ridibundus</i>)
Méně vnímaví ²	perlička domácí (<i>Numida meleagris</i> f. d.), krocan domácí (<i>Meleagris gallopavo</i> f. d.)
Poměrně rezistentní ³	husa domácí (<i>Anser anser</i> f. d.), kachna domácí (<i>Anas platyrhynchos</i> f. d.)
Značně rezistentní ⁴	holub domácí (<i>Columba livia</i> f. d.), hrdlička zahradní (<i>Streptopelia decaocto</i>), havran polní (<i>Corvus frugilegus</i>)

¹very sensitive, ²less sensitive, ³relatively resistant, ⁴very resistant

domácí a krocana domácího, i když perlička se jevila jako zřetelně vnímavější. Jako relativně málo vnímavé se projevíly kachna domácí a husa domácí, z volně žijících racek chechtavý. Z této skupiny opět o něco vnímavější byla kachna domácí. A jako velmi rezistentní bylo možno označit holuba domácího, hrdličku zahradní a havrana polního. U nich nevznikly po intramuskulární infekci žádné orgánové změny. Výsledky intramuskulárních infekcí jsme také vzali za základ pro klasifikaci jednotlivých druhů ptáků s ohledem na jejich vnímavost k *M. avium*.

Perorální infekce krmivem kontaminovaným tuberkulózní změněnými tkáněmi může přicházet v úvahu i v terénních podmínkách, zejména u těch druhů ptáků, kteří projevují určitý stupeň kanibalismu, resp. alimentární afinitu k živočišné bílkovině, jako např. kur domácí, racek chechtavý, sezónně i vrabec sp. U těchto druhů jsme také nejdříve mohli prokázat tuberkulózní změny v orgánech. S určitým časovým odstupem se vyvinuly tuberkulózní změny u husy domácí, krocana domácího, kachny domácí, bažanta obecného a beze změn, s jednou výjimkou, zůstali holub domácí, hrdlička zahradní a havran polní. Podstatné je, že s výjimkou posledních dvou druhů u všech ostatních vznikla dříve nebo později tuberkulóza střev a takoví ptáci mohou být sami významným zdrojem aviárních mykobakterií. Pokud porovnáme pořadí vnímavosti po tomto způsobu infekce s pořadím po intramuskulární infekci, je např. rozdíl u raceka chechtavého, i u vrabce sp., kteří se jeví jako velice vnímaví. Naopak tomu bylo u bažanta obecného a perličky domácí. Toto odlišné pořadí si lze vysvětlit, jak již bylo zmíněno, potravními návyky (afinita k živočišné tkáni) a dále tím, že ptáci byli chováni ve společné voliéře. Proto je pravděpodobné, že některé plašší druhy (např. bažant) přijaly menší množství krmiva než jiné druhy. Ukázalo se, že pro rozšíření aviárních mykobakterií mohou být velmi nebezpečné tuberkulózní změněné tkáně, např. kadávery ptáků uhynulých na tuberkulózu nebo změněné tkáně zabitě drůbeže pohozené a volně přístupné domestikovaným i volně žijícím ptákům. Možností přístupu k tuberkulózní změněným tkáním by bylo možno vysvětlit např. i rozdílné výsledky vyšetření racků sp. z různých lokalit, tak jak je publikoval Robinsons (1960). Podobně i u vrabců, kde Plum (1942) konstatoval, že v některých chovech drůbeže silně infikovaných tuberkulózou

nacházel vrabce nakažené tuberkulózou, v jiných stejně infikovaných chovech nikoliv.

Kontakt s tuberkulózním kurem patří v přirozených podmínkách k nejčastějším způsobům infekce domestikovaných i volně žijících ptáků. Při srovnání pořadí vnímavosti po tomto způsobu infekce je opět patrný rozdíl oproti pořadí po předchozích dvou způsobech. Tentokrát zcela jednoznačně jako nejvnímavější se projevil kur domácí, následně pak vrabec sp., krocan domácí, perlička domácí, bažant obecný a koroptev polní. Vodní drůbež, tj. husa domácí a kachna domácí zůstaly bez patologickomorfologických změn a s jednou výjimkou i holub domácí, hrdlička zahradní a havran polní. Uvedené pořadí však bylo opět zřejmě ovlivněno chováním ptáků ve společné voliéře, zejména způsobem příjmu krmiva, tj. z krmítek nebo ze země, silně kontaminované mykobakteriemi.

S přihlédnutím i k četnosti tuberkulózních nálezů a průměrům výsledků kultivace se u sledovaných druhů jeví jako velmi vnímavý a epizootologicky závažný vrabec sp. Jeho nebezpečnost jako zdroje je však značně omezoována jeho krátkou životností, kdy většina jedinců nežije déle než jeden rok. Vrabci s pokročilejšími tuberkulózními změnami pak ztrácejí schopnost létat a stávají se snadnou kořistí dravců či šelem. Bažant obecný a zejména koroptev polní jsou rovněž velmi vnímaví. Avšak vzhledem k nízkému výskytu koroptev může mít v našich poměrech těžko praktický epizootologický význam jako zdroj *M. avium*. Podstatně větší nebezpečí představuje bažant obecný. Poměrně značně vnímavá k aviárním mykobakteriím, které se také v jejich tkáních mohou značně pomnožit, je perlička domácí. Její chov je však málo rozšířen a obvykle zahrnuje jen několik jedinců. Podobně je většinou chován i krocan domácí, který se zdá být o něco méně vnímavý než perlička. Vodní drůbež v kontaktní infekci s kurem se ukázala jako velmi rezistentní. Pokud však byla infikována velkým množstvím mykobakterií (tj. intramuskulárně suspenzí *M. avium* nebo krmivem kontaminovaným játry tuberkulózního kura) vznikly u většiny ptáků makroskopické tuberkulózní změny. Zřejmě tedy husa domácí i kachna domácí potřebují ke vzniku tuberkulózního procesu větší infekční dávku mykobakterií. Taková situace může nastat v silně kontaminovaných malochovech nebo i ve velkochovech s větším počtem infikovaných jedinců (Bekajlo, 1963; Flešar aj.,

1968; Zajíček a Pavlas, 1983). Po všech těchto způsobech infekce jako velmi rezistentní se jeví hrdlička zahradní, holub domácí a havran polní. V přirozených podmínkách je však u těchto druhů častěji popisována tuberkulóza, zejména u havrana polního a holuba domácího (Kronberger, 1960; Švrček aj., 1966; Rankin a McDiarmid, 1966; Kovačič a Lacković, 1986; Gregurić aj., 1991; Hanzlíková a Vilímek, 1992; Nešić aj., 1992; Hejlíček a Trembl, 1994b a Hejlíček aj., 1994). Vysvětlení lze hledat v delším věku ptáků, zejména u havrana polního, kdy takoví jedinci mají možnost se vícekrát, opakovaně infikovat mykobakteriemi. Celkově však nutno zvážit, že vnímavost volně žijících ptáků k patogenním kmenům *M. avium* mohla být ovlivněna rovněž stresovým stavem zvířat chovaných v uzavřených prostorách. Z uvedených důvodů mnohdy výsledky získané vyšetřováním některých druhů ptáků na tuberkulózu pocházejících z volné přírody se mohou rozcházet s výsledky dosaženými u ptáků experimentálně infikovanými v laboratorních podmínkách.

Význam různých druhů domestikovaných a volně žijících, synantropních druhů ptáků jako zdrojů *M. avium* je dán především jejich vnímavostí k aviárním mykobakteriím a charakterem vzniklého tuberkulózního procesu. Při hodnocení jednotlivých epizootologických situací však nutno brát v úvahu i některé vlastnosti jednotlivých druhů jako početní výskyt, dlouhověkost, potravní návyky, vůbec způsob života a s tím i související možnosti kontaktu s dalšími druhy zvířat.

LITERATURA

BEKAJLO, R.: Występowanie gruźlicy u gęsi rzeźnych. Med. Wet., 19, 1963: 254–255.
 DEVOS, A. – VIAENE, N. – DEVRIESE, L.: Tuberkolose bij jachtfaanen. Vlaams. Diergeneesk. Tijdschr., 44, 1975: 19–24.
 FEDOSEJEV, V. S. – ŽILIN, A. – ACHMEDIEV, G.: I. Pigeons as a source of avian tuberculosis. II. Diagnosis of tuberculosis in pigeons. Trudy Semipalat. Zoovet. Inst., 3, 1963: 252–257; 258–260. In: Vet. Bull., 35, 1965: 420.
 FLEŠAR, M. – BALAŠČÁK, J. – RENCZ, K.: Über das Auftreten der Tuberkulose bei Gänsen. Folia Vet. (Košice), 12, 1968: 97–98.
 GREGURIĆ, J. – MUŽINIC, J. – TOMPAK, B. – KALENIC, S. – ŠIPUŠ, D.: Nalazi bakterija *Campylobacter jejuni*, *Salmonella typhimurium* i *Mycobacterium avium* – intracelularne u golubova iz različitih ekoloških sredina. Vet. Arhiv, 61, 1991: 217–224.
 HANZLÍKOVÁ, M. – VILÍMEK, L.: Výskyt mykobakterií vo vyšetřovaných vzorkách v Slovenskej republike v rokoch 1985–1989. Veterinárství, 42, 1992: 339–342.
 HEJLÍČEK, K. – TREML, F.: Epizootologie a patogenese aviární mykobakterií hrdličky (*Streptopelia* sp.). Vet. Med. – Czech, 38, 1993a: 619–628.

HEJLÍČEK, K. – TREML, F.: Epizootologie a patogenese aviární mykobakterií vrabce domácího (*Passer domesticus*) a vrabce polního (*P. montanus*). Vet. Med. – Czech, 38, 1993b: 667–685.
 HEJLÍČEK, K. – TREML, F.: Epizootologie a patogenese aviární mykobakterií bažanta kolchického (*Phasianus colchicus*) a koroptve polní (*Perdix perdix*). Vet. Med. – Czech, 38, 1993c: 687–701.
 HEJLÍČEK, K. – TREML, F.: Epizootologie a patogenese aviární mykobakterií racka chechtavého (*Larus ridibundus*). Vet. Med. – Czech, 39, 1994a: 271–278.
 HEJLÍČEK, K. – TREML, F.: Epizootologie a patogenese aviární mykobakterií holuba domácího (*Columba livia* f. *domestica*). Vet. Med. – Czech, 39, 1994b: 615–624.
 HEJLÍČEK, K. – TREML, F.: Patogeneze aviární mykobakterií husy domácí (*Anser anser*) a kachny domácí (*Anas platyrhynchos*). Vet. Med. – Czech, 40, 1995a: 117–121.
 HEJLÍČEK, K. – TREML, F.: Patogeneze aviární mykobakterií krocana domácího (*Meleagris gallopavo* f. *domestica*) a perličky domácí (*Numida meleagris* f. *domestica*). Vet. Med. – Czech, 40, 1995b: 123–127.
 HEJLÍČEK, K. – TREML, F. – ČERNÝ, L.: Epizootologie a patogenese aviární mykobakterií havrana polního (*Corvus frugilegus*). Vet. Med. – Czech, 39, 1994: 337–344.
 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.
 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.
 JEGOŠIN, L. S. – ŠERGIN, J. K.: Tuberkulez cazarok. Bolezni ptic. Tr. Vsesojuz. Nauč. Inst. Parazit. Bol., 2, 1966: 28–37.
 JORGENSEN, J.B.: Serological investigation of strains of *Mycobacterium avium* and *Mycobacterium intracellulare* isolated from animal and non-animal sources. Nord. Vet. Med., 30, 1978: 155–162.
 KOVAČIČ, H. – LACKOVIĆ, M.: Tuberkuloza u vrana gacaca (*Corvus frugilegus*). Vet. Arhiv, 55, 1986: 858–860.
 KRONBERGER, H.: Befunde bei Geflügelsektionen. Mh. Vet.-Med., 15, 1960: 197–202.
 LUCAS, A. – TONCAS, L. – FUGEAS, C.: Diagnostic de la tuberculose sur le Faisan. Rec. Méd.-Vétér., 132, 1956: 403–405.
 MÜLLER, H. – TÜRK, H. – BERGMANN, V.: Tuberkulose bei Fasanen. Mh. Vet.-Med., 38, 1983: 147–151.
 NEŠIĆ, D. – RADOSAVLJEVIĆ, D. – ROMANIC, S.: Golubovi kao vektori tuberkuloze kod svinja. Vet. Glas., 46, 1992: 51–53.
 PLUM, N.: Studies on the occurrence of avian tuberculosis among wild birds, especially gulls and sparrows and in rats and hares. Scand. Vet. Tidsskr., 32, 1942: 465–487.
 POLI, A. – MANI, P. – FISCHETTI, R.: Tubercolosi da *Mycobacterium avium* nel fagiano (*Phasianus colchicus*). Ann. Fac. Med. Vet. Univ. Pisa, 34, 1982: 189–204.
 POPLUHÁR, L. – PAUER, T. – RABICKÝ, P. – ŽUPA, P.: K problematice tuberkulózy u bažantů. Veterinárství, 25, 1975: 318–319.

- RANKIN, J. E. – McDIARMID, A.: Mycobacterial infections in free-living wild animals. Symp. Zool. Soc., London, 24, 1966: 119–131.
- ROBIJNS, K. G.: Occurrence of avian tuberculosis in Zeeland and its influence upon the control of bovine tuberculosis. Ph. D. Thesis, University of Utrecht, Netherlands, 1960. 191 s.
- RÖDER, K. H.: Geflügeltuberkulose beim Rind – durch Tauben übertragen. Tierärztl. Umsch., 14, 1964: 11.
- ROZANSKA, M.: Svoistosc reakcji zlepneu 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.
- ŠVRČEK, Š. – VRTIAK, O. J. – KAPITANČIK, B. – BAUER, T. – KOPPEL, Z.: Volne žijúce vtáctvo a domáce holuby ako zdroj aviárnej tuberkulózy. Rozhľedy v tuberkulóze, 26, 1966: 659–667.
- ZAJÍČEK, J. – PAVLAS, M.: Tuberkulóza ve velkochovu hus. Veterinářství, 33, 1983: 350–352.
- Výroční zpráva o činnosti na úseku veterinární laboratorní a klinické diagnostiky za rok 1991. Pardubice, Ústav veterinární osvěty 1992.

Došlo 14. 10 1994

Kontaktní adresa:

Doc. MVDr. František Trnka, 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

BIOCHEMICAL ASPECTS OF TOXIC EFFECTS OF SUPERMETHRIN IN THE CONDITIONS OF CHRONIC 140-DAY AVIAN REPRODUCTIVE TEST

BIOCHEMICKÉ ASPEKTY TOXICKÉHO ÚČINKU SUPERMETRÍNU V PODMIENKACH CHRONICKÉHO 140-DŇOVÉHO AVIÁRNEHO REPRODUKČNÉHO TESTU

H. Mlynarčíková, J. Legáth, E. Dudríková, J. Poráčová, G. Kováč

University of Veterinary Medicine, Košice, Slovak Republic

ABSTRACT: Chronic toxic effects of supermethrin on some biochemical parameters (AST, ALT, LDH, creatinine and total proteins) were investigated in 84 individuals of Japanese quail divided into four groups (control – K, experimental group I – P1, experimental group II – P2, experimental group III – P3) in the conditions of 140-day avian reproductive test. The three experimental groups received the tested substance at these doses: P1 – 10.7 mg/kg l.w./day, P2 – 21.4 mg/kg l.w./day, P3 – 35.7 mg/kg l.w./day. The results of observation of the enzyme activities AST and ALT show that only the AST activity (in the course of 140-day avian reproductive test) significantly increased to 1.225 μ kat/l in the females of experimental group P1, to 1.053 μ kat/l in P2 and to 1.014 μ kat/l in P3 against the control, in which the AST activity was 0.670 μ kat/l. The values of AST activity in the males were 1.143 μ kat/l in P1, 1.117 μ kat/l in P2 and 1.090 μ kat/l in P3 against the control 0.8395 μ kat/l. The investigation of variations in total LDH activity in Japanese quail after 140-day avian reproductive test has shown an increase in the LDH activity in the males (11.193 μ kat/l in P1, 11.269 μ kat/l in P2, 8.245 μ kat/l in P3 and 7.362 μ kat/l in K) as well as in the females (10.91 μ kat/l in P1, 12.023 μ kat/l in P2, 10.196 μ kat/l in P3 and 7.055 μ kat/l in K). It can be concluded on the basis of our biochemical results that supermethrin is a pesticide of organic origin that will not affect the above biochemical parameters in wild gallinaceous fowl, especially if the amount and concentration (0.1–0.2 l of 15% solution per ha) applied in farming practice are taken into account.

supermethritin; Japanese quail; avian reproductive test; biochemical parameters

ABSTRAKT: Na 84 kusoch japonských prepelíc rozdelených do štyroch skupín (kontrola – K, 1. pokusná skupina – P1, 2. pokusná skupina – P2, 3. pokusná skupina – P3) sme sledovali vplyv chronického toxického účinku supermetrínu na vybrané biochemické parametre (AST, ALT, LDH, kreatinín a celkové bielkoviny) v podmienkach 140-dňového aviárneho reprodukčného testu. V troch uvedených pokusných skupinách sme podali testovanú látku v dávkach: P1 – 10,7 mg/kg ž. h. a deň, P2 – 21,4 mg/kg ž. h. a deň, P3 – 35,7 mg/kg ž. h. a deň. Z výsledkov sledovania aktivít enzýmov AST a ALT vyplýva, že len aktivita enzýmu AST (počas 140-dňového aviárneho reprodukčného testu) sa signifikantne zvýšila u samíc v pokusnej skupine P1 na 1,225 μ kat/l, P2 – 1,053 μ kat/l a P3 – 1,014 μ kat/l oproti kontrole, kde aktivita AST bola 0,670 μ kat/l. U samcov sme namerali hodnoty aktivít AST v skupine P1 1,143 μ kat/l, P2 1,117 μ kat/l a P3 1,090 μ kat/l oproti kontrole 0,8395 μ kat/l. Pri sledovaní zmien celkovej aktivity LDH u japonskej prepelice po 140-dňovom aviárnom reprodukčnom teste, sme zistili zvýšenie aktivity LDH u samcov (P1 – 11,193 μ kat/l, P2 – 11,269 μ kat/l, P3 – 8,245 μ kat/l a K – 7,362 μ kat/l), ako aj u samíc (P1 – 10,91 μ kat/l, P2 – 12,023 μ kat/l, P3 – 10,196 μ kat/l a K – 7,055 μ kat/l). Na základe našich biochemických výsledkov môžeme konštatovať, že ide o pesticíd organického pôvodu, ktorý nebude mať vplyv na sledované biochemické parametre u voľne žijúcich hrabavých vtákov, najmä ak sa vezme do úvahy množstvo a koncentrácia (0,1–0,2 l 15% roztoku na ha), ktoré bude používané v poľnohospodárskej praxi.

supermetrín; japonská prepelica; aviárny reprodukčný test; biochemické parametre

ÚVOD

V súčasnej dobe medzi najpoužívanjšie insekticídy patria pyretróidy. Pyretróidy sú deriváty prirodzených pyretrínov, ktoré sa nachádzajú v kvetoch kráľika cine-*rálielistového* (*Chrysanthemum cinerariaefolium*) – Harris (1985).

Ekologický význam pyretróidov spočíva vo veľmi nízkej toxicite na necieľové organizmy, ktorá je daná ich rýchlou premenou na málo toxické metabolity a malou perzistenciou v prostredí (O m b a k a, 1987; H e n n i n g e r, 1988).

Syntetické pyretróidy sú vysokoúčinné látky, ktoré môžu rýchlo imobilizovať hmyz, majú podobne ako

Biochemické parametre ¹			Pokusné skupiny – samice ² (n = 7)			
			P1	P2	P3	K
AST	(μkat/l)	priemer ⁴	1,225	1,053	1,014	0,670
		sem	0,02	0,07	0,07	0,16
ALT	(μkat/l)	priemer	0,182	0,136	0,222	0,162
		sem	0,04	0,04	0,02	0,05
LDH	(μkat/l)	priemer	10,910	12,023	10,196	7,055
		sem	0,90	1,52	1,23	1,42
Kreatinín ³	(μmol/l)	priemer	133,23	206,8	153,43	189,94
		sem	5,03	31,36	17,37	11,18
CB	(g/l)	priemer	124,12	141,78	108,98	125,92
		sem	31,75	39,49	40,69	19,09

sem – stredná chyba priemeru – standard error of mean

¹biochemical parameters, ²experimental groups – females, ³creatinin, ⁴average

pyretrínový omračujúci účinok, v organizme podliehajú metabolickým premenám, najmä prostredníctvom oxidáz so zmiešanou funkciou (MFO – mixed – function – oxidases). Pôsobením inhibítorov MFO, napr. piperylbutoxidu, dochádza k značnému potlačaniu aktivity MFO a zároveň k 10-násobnému zníženiu hodnoty LD₅₀ týchto látok. Prakticky sú netoxické pre cicavce, pričom pomer LD₅₀ pre cicavce k LD₅₀ hmyzu je vyšší v porovnaní s inými významnými skupinami insekticídov. Z chemického hľadiska patria pyretróidy medzi estery päťčlánkových alkoholov (cyklopentanolu) a trikarboxylových kyselín, ktoré môžu mať vo svojej molekule naviazanú kyano skupinu, čím dochádza k významnému zvýšeniu ich toxického účinku na cieľové organizmy (Elliott a i., 1978).

Supermetrín je novovynutý syntetický pyretróid, ktorý je na základe svojich vlastností zaradený do skupiny pyretróidov typu II. Supermetrín po chemickej stránke je /RS/-alfa-cyano-3-fenoxybenzyl-/IRS/-cis-3-/2,2-dichlórvinyl/2,2-dimethyl cyklopropán karboxylát. Je málo rozpustný vo vode, ale dobre rozpustný v bežných organických rozpúšťadlách najmä xyléne, ketónoch, alkoholoch a aromatických hydrokarbónoch. Pri teplote 147 °C si zachováva nezmenené vlastnosti po dobu 76 hodín. V našej práci sme použili supermetrín o čistote 94,5 %.

Pri kontakte s nechránenými časťami tela dráždi pokožku a oči (Kačmar a i., 1990a).

Toxické účinky supermetrínu boli sledované v podmienkach akútnej, subakútnej a subchronickej intoxikácie u bažantov a oviec. Supermetrín v relatívne vysokých subakútnych dávkach (500 mg/kg ž. h.) u bažantov okrem ťažko postrehnuteľných hnačiek u niektorých jedincov nevyvolal žiadne klinické príznaky intoxikácie. Neovplyvnil ani hmotnostné prírastky pokusných zvierat (Kačmar a i., 1990b). U oviec jednorázové dávky 2 700 a 3 000 mg/kg ž. h. vyvolali výrazné klinické príznaky a následnú smrť pokusných zvierat do 24 až 48 hodín (Legáth a i., 1992).

Cieľom našej práce bolo zistiť vplyv supermetrínu, v podmienkach aviárneho reprodukčného testu (20-týždňový skŕmovací pokus) na vybrané biochemické parametre u japonskej prepelice.

MATERIÁL A METÓDY

Aviárny reprodukčný test bol vykonaný v zmysle záväzných predpisov OECD č. 206, rešpektoval všetky podmienky uvedené v tomto predpise a bral do úvahy etiológiu japonskej prepelice.

Do pokusu sme zaradili 84 kusov japonských prepelíc rozdelených do štyroch pokusných skupín (kontrola – K, 1. pokusná skupina – P1, 2. pokusná skupina – P2, 3. pokusná skupina – P3). V pokuse bolo 28 samcov a 56 samíc (v pomere 1 : 2).

Prepelice boli kŕmené kŕmnou zmesou KZ-BŽ-n. Použitá kŕmna zmes zabezpečuje v chovných podmienkach maximálne krytie živín potrebných pre rast, zdravie prepelíc a pre ich maximálnu produkciu vajec. Kŕmna zmes KZ-BŽ-n je pretestovaná, zdravotne pre prepelice nezávadná a bežne užívaná v chovných podmienkach. Voda bola podávaná *ad libitum* (denne čerstvá).

Vychádzajúc z údajov predošlých našich experimentov na bažantoch, kde jednorázová dávka 2 500 mg/kg/deň vyvolala proliferáciu Sertolihových buniek v semenníkoch samcov (Cigánková a i., 1993) a dávka 5 000 mg/kg/deň nevyvolala žiadne klinické prejavy otravy ako aj z prepočítaných možných expozícií voľne žijúcich vtákov v poľných podmienkach sme trom pokusným skupinám podali testovanú látku – supermetrín nasledovne:

Pokusná skupina P2 prijala počas 20 týždňov 3 000 mg/kg ž. h. (t. j. 21,4 mg/kg ž. h. a deň) pokusná skupina P1 1/2 z uvedenej dávky – 1 500 mg/kg ž. h. (t. j. 10,7 mg/kg ž. h. a deň) a skupina P3 dávku 5 000 mg/kg ž. h. (t. j. 35,7 mg/kg ž. h. a deň).

Biochemické parametre ¹			Pokusné skupiny – samce ² (n = 7)			
			P1	P2	P3	K
AST	(μkat/l)	priemer ⁴	1,1143	1,117	1,090	0,839
		sem	0,13	0,12	0,09	0,16
ALT	(μkat/l)	priemer	0,202	0,192	0,193	0,212
		sem	0,04	0,02	0,06	0,09
LDH	(μkat/l)	priemer	11,193	11,269	8,245	7,362
		sem	1,14	1,41	1,12	0,85
Kreatinín ³	(μmol/l)	priemer	136,8	132,05	146,1	196,22
		sem	10,93	40,40	21,20	25,07
CB	(g/l)	priemer	38,4	29,55	29,42	38,23
		sem	6,23	5,16	1,62	5,35

sem – stredná chyba priemeru – standard error of mean

¹biochemical parameters, ²experimental groups – males, ³creatinin, ⁴average

Supermetrín sa rozpúšťal v 50 ml jedlého oleja a potom bol zapravený do týždenného množstva krmnej zmesi. Kontrolnej skupine bolo podané len vehikulum (jedlý olej) v tom istom množstve. Prepelice skrmovali testovanú látku presne 20 týždňov (140 dní). Denným vážením spotreby krmiva bol overovaný príjem testovanej látky, ktorý nikdy neklesol pod požadovanú hranicu 85 %.

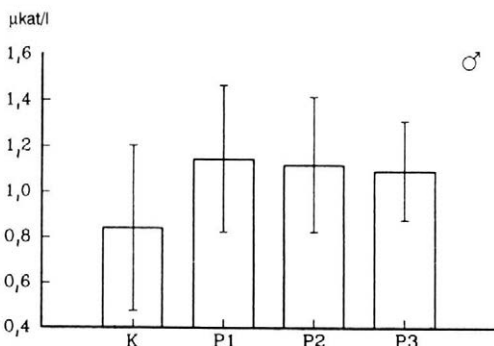
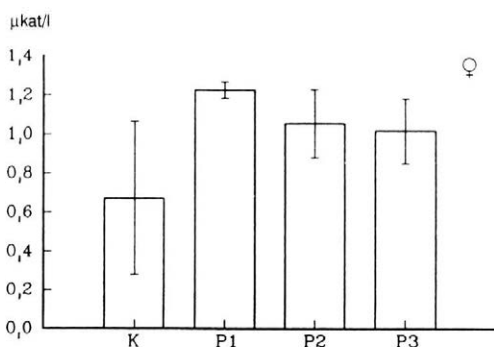
Vybrané biochemické parametre – AST-aspartátaminotransferáza (EC 2.6.1.1), ALT-alaninaminotransferáza (EC 2.6.1.2), LDH-laktátdehydrogenáza (EC 1.1.1.2.7-L-laktát), celkové bielkoviny a kreatinín sme stanovovali v krvnom sére po ukončení 20-týždňového aviárneho reprodukčného testu. Krv na stanovenie biochemických parametrov bola odobratá po sekcii *vena jugularis* pri utratení pokusných zvierat. Sérovú aktivitu AST, ALT, LDH ako aj sérovú koncentráciu kreatinínu a celkových bielkovín sme stanovili spektrofotometricky použitím Bio-La-Testov (Lachema Brno). Výsledky jednotlivých stanovení boli spracované štatistickým programom Sigma Plot 50.

VÝSLEDKY

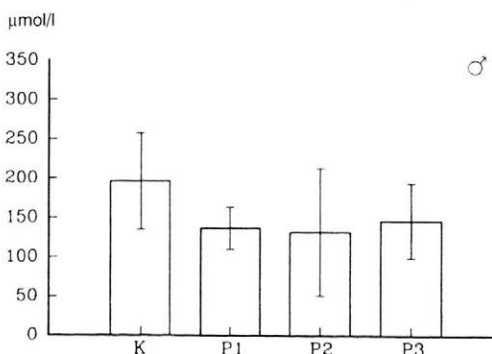
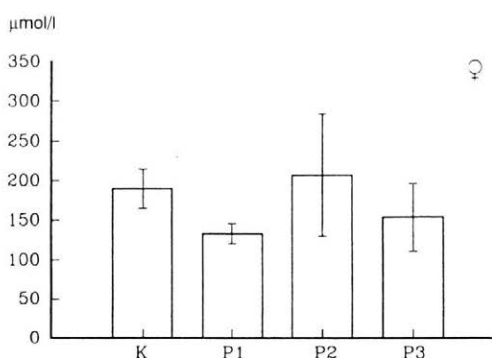
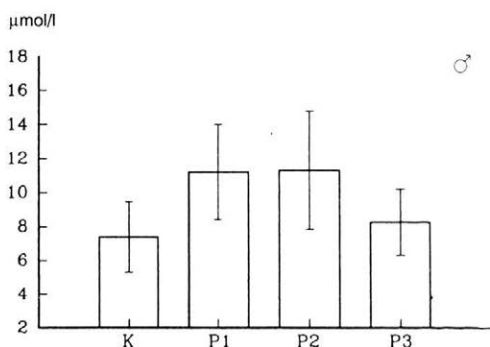
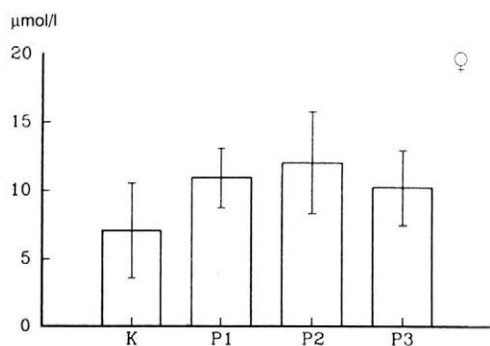
V tab. I a II udávame výsledky vybraných biochemických parametrov (AST, ALT, LDH, kreatinín a celkové bielkoviny) pri sledovaní chronického toxického účinku supermetrínu v podmienkach 140-dňového aviárneho reprodukčného testu vykonaného na japonských prepeliciach.

Z našich výsledkov sledovania aktivít enzýmov AST a ALT vyplýva, že len aktivita enzýmu AST (počas 140-dňového aviárneho reprodukčného testu) sa signifikantne zvýšila u samíc v pokusnej skupine P1 na 1,225 μkat/l, P2 1,053 μkat/l a P3 1,014 μkat/l oproti kontrole, kde aktivita AST bola 0,670 μkat/l, a u samcov sme namerali hodnoty aktivít AST v skupine P1 1,143 μkat/l, P2 1,117 μkat/l a P3 1,090 μkat/l oproti kontrole 0,8395 μkat/l.

Pri sledovaní zmien celkovej aktivity LDH u japonskej prepelice po 140-dňovom aviárnom reprodukčnom teste, sme zistili zvýšenie aktivity LDH u samcov (P1 11,193 μkat/l, P2 11,269 μkat/l, P3 8,245 μkat/l a K 7,362 μkat/l), ako aj u samíc (P1 10,91 μkat/l, P2 12,023 μkat/l, P3 10,196 μkat/l a K 7,055 μkat/l).



1. Priemerné hodnoty aktivít enzýmu AST (μkat/l) u samíc a samcov po ukončení 140-dňového aviárneho reprodukčného testu – The average values of AST activity in the females and males after termination of 140-day avian reproductive test



2. Priemerné hodnoty aktivít enzýmu LDH ($\mu\text{mol/l}$) u samíc a samcov po ukončení 140-dňového aviárneho reprodukčného testu – The average values of LDH activity in the females and males after termination of 140-day avian reproductive test

3. Priemerná koncentrácia kreatinínu ($\mu\text{mol/l}$) u samíc a samcov po ukončení 140-dňového aviárneho reprodukčného testu – Average creatinine concentrations in the females and males after termination of 140-day avian reproductive test

DISKUSIA

Enzýmy AST a ALT patria do skupiny indikátorových cytoplazmatických enzýmov a zvýšenie ich aktivity v krvnom sére signalizuje poškodenie najmä bunkových membrán, pri ktorom sa tieto intracelulárne enzýmy v nadmernej koncentrácii vyplávajú do krvi (Hořejší a i., 1979).

Bartík a Michnová (1970), Kačmár a i. (1979) udávajú zvýšenie aktivity AST, ALT aj pri alimentárnych intoxikáciách. Musil (1981) uvádza, že pre ireverzibilné poškodenie hepatocytov včítane ich nekroz svedčí zvýšenie aktivity enzýmov, najmä transamináz AST, ALT. Tam kde nenastane nevratné poškodenie membrán hepatocytov, je zvýšenie aktivity enzýmov, najmä transamináz, nepravdepodobné.

Enzým laktátdehydrogenáza je lokalizovaná v cytoplazme buniek a vyskytuje sa takmer vo všetkých tkanivách, a preto stanovenie celkovej aktivity laktátdehydrogenázy (LDH) v krvnom sére zvierat nedáva uspokojivé diagnostické výsledky. Zvýšené aktivity celkovej LDH v sére u rôznych druhov zvierat sú pozorované pri poškodení kostrového svalstva, myokardu, pečene parenchýmu, obličiek, v prípade malignit tkanív, ako aj u rôznych typov anémii.

Na základe sledovaných výsledkov aktivít enzýmov AST a LDH (obr. 1, 2) by sme mohli konštatovať, že supermetrín v dávkach P1 10,7 mg/kg ž. h. a deň, P2 21,4 mg/kg ž. h. a deň a P3 35,7 mg/kg ž. h. a deň počas 140-dňového aviárneho reprodukčného testu vyvoláva mierne poškodenie permeability bunkových membrán, respektíve mierne toxické poškodenie pečene u japonských prepelíc.

Kreatinín vzniká v organizme zvierat ireverzibilným a neenzymatickým štiepením kreatinínfosfátu za predpokladu nedostatku energie viazanej na makroergické väzby ATP. K štiepeniu dochádza najmä v svalových bunkách (Harper, 1977).

Po experimente sme zaznamenali zníženie koncentrácie kreatinínu v sére japonských prepelíc (obr. 3), z čoho vyplýva vylúčenie možnosti zásahu supermetrínu do energetického metabolizmu pokusných zvierat.

Na základe našich biochemických výsledkov, môžeme skonštatovať, že ide o pesticíd organického pôvodu, ktorý nebude mať vplyv na sledované biochemické parametre u voľne žijúcich hrabavých vtákov, najmä ak sa vezme do úvahy množstvo a koncentrácia (0,1–0,2 l 15% roztoku na 1 ha), ktoré bude používané v poľnohospodárskej praxi.

Za technickú spoluprácu ďakujeme B. Kábrtovej, E. Mankovičovej a N. Čeplöovej.

LITERATÚRA

- BARTÍK, M. – MICHNOVÁ, E.: Enzymatická diagnostika a terapia. VII. Veterinárstvi, 6, 1970: 261–264.
- CIGÁNEKOVÁ, V. – KAČMÁR, P. – NEUSCHL, J. – PORÁČOVÁ, J. – KONRÁD, V.: Microscopical observation pheasant testes after pyrethroid application. Folia Vet., 3–4, 1993.
- ELLIOTT, M. – JANES, N. F. – POTTER, C.: The future of pyrethroids in insect control (Residues, toxicity). Ann. Rev. Ent., 23, 1978: 443–449.
- HARPER, H. A.: Přehled fyziologické chemie. Praha, Avicenum 1977: 410–573.
- HARRIS, B. A.: The development of synthetic pyrethroids, their role in efficient crop protection and the continued improvement in this insecticide crop. In: Materialy XXV. sesji naukovej Institutu Ochrony Roslin, Poznań, 1985: 183–198.
- HENNINGER, CH.: Untersuchungen zur Wirksamkeit und Eignung von Pyrethroiden im Pour-on-Verfahren bei Schafen zur Bekämpfung von Zecken (Ixodidae: Ixodes ricinus und Dermacentor marginatus). [Inangural-Disertation.] Hannover 1988. 94 s.

- HOŘEJŠÍ, J. – MATYS, Z. – NEJEDLÝ, B. – PACOVSKÝ, V. – PUDLÁK, P. – SCHREIBER, V. – VORLOVÁ, Z.: Základy klinické biochemie ve vnitřním lékařství. Praha, Avicenum 1979. 168 s.
- KAČMÁR, P.: Toxikologické aspekty používania pesticídov. In: Zbor. Ref. Hromadné intoxikácie hospodárskych zvierat – diagnostika, terapia a prevencia. Prešov, 1979: 41–43.
- KAČMÁR, P. a i.: Toxikologická testácia pyrethroidného insekticídu supercypermetrínu u oviec v podmienkach subchronickej intoxikácie (6-týždňový skrmovací pokus). [Záverečná správa.] Košice, Vysoká škola veterinárna 1990a. 70 s.
- KAČMÁR, P. a i.: Toxikologické hodnotenie pesticídu supercypermetrínu u bažantov v podmienkach subakútnej intoxikácie. [Záverečná správa.] Košice, Vysoká škola veterinárna 1990b. 23 s.
- LEGÁTH, J. – NEUSCHL, J. – KAČMÁR, P. – PORÁČOVÁ, J. – DUDRÍKOVÁ, E. – MLYNARČÍKOVÁ, H. – KOVÁČ, G. – JAVORSKÝ, P.: Clinical signs and mechanism of supermethrin intoxication in sheep. Vet. Hum. Toxicol., 34, 1992: 453–455.
- MUSIL, J.: Základy biochemie chorobných procesů. Praha, Avicenum 1981. 379 s.
- OECD Guideline for testing of chemicals Avian Reproduction Test. Adopted: 4th April 1984: 206.
- OMBAKA, J. H.: Pyrethrum – the natural insecticide. Seifen-Ole-Fett-Wachse, 113, 1987: 111–112.

Došlo 13. 9. 1994

Kontaktná adresa:

MVDr. Henrieta Mlynarčíková, Univerzita veterinárskeho lekárstva, Komenského 73, 041 81 Košice, Slovenská republika
Tel. 095/622 94 24, fax 095/76 76 75

IAMS COMPANY *Award*

The Iams Company Award for the best clinical article

The Iams Company has inaugurated the Iams Company Award for the best clinical article published in a European Veterinary Journal by a junior veterinarian.

Nominees for the 1995 Iams Company Award are authors who have published a clinical paper in a peer reviewed European Veterinary Journal (national or international). The articles describe either clinically orientated basic research or a clinical study. Both retrospective and prospective studies as well as high quality review articles in the field of Clinical Companion Animals Medicine and Surgery can be nominated for the Iams Company Award. Articles should be submitted in their language of publication together with an abstract in English.

The Award Committee especially welcomes participation in this competition by junior staff members and clinicians aged 35 years or under.

The Iams Company Award includes:

1. a prize of ECU 2500 in cash
2. ECU 1500 in travel vouchers to attend the 1995 FECAVA Congress in Brussels
3. free Congress subscription to the FECAVA Congress 1995
4. free subscription to specialist seminars during the Congress
5. free participation to the social evening programs of the Congress
6. 10 - 15 minute presentation at the Congress
7. publication of the article in the next issue of the FECAVA journal

The award-winning manuscript will be selected by a committee consisting of three European clinicians eminent in the field of Veterinary Medicine and Surgery. Manuscripts or reprints of articles on one of the above-mentioned subjects published between January 1, 1994 and July 1, 1995 should be submitted in triplicate before August 1, 1995 to: The Iams Company Award Committee, Mrs. M.L.T. van der Kraan, Iams Pet Food International Inc., Luchthavenweg 67, 5657 EA Eindhoven, The Netherlands.

AS DEDICATED TO ANIMAL WELL-BEING AS YOU ARE.



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 komentovány 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 nejnížší 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 nedostacích 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.

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

Banykó J., Bösze Zs.: Detection of kappa-casein genotypes in bulls of cattle breeds by restriction fragment length polymorphism (RFLP)	165
Hoffrek B., Šlosárková S., Ondrová J.: Effect of chronic metabolic acidosis on migration activity of polymorphonuclear leukocytes in sheep	171
Krajničáková M., Bekeová E., Maraček I., Hendrichovský V.: Dynamic changes in hematological parameters in the blood of sheep at oestrus synchronization and in subsequent period of early pregnancy	177
Suchý P., Straková E., Klecker D.: Variations in hematological indicators in turkeys during fattening	181
Hejlíček K., Tremel F.: Comparison of pathogenesis and epizootology signification of avian mycobacteriosis in different sorts of domestic and free living synanthropic fowl	187
Mlynářčiková H., Legáth J., Dudříková E., Poráčková J., Kováč G.: Biochemical aspects of toxic effects of supermethrin in the conditions of chronic 140-day avian reproductive test	195

VETERINÁRNÍ MEDICÍNA

Ročník 40, č. 6, Červen 1995

OBSAH

Banykó J., Bösze Zs.: Detekcia genotypu kapa-kazeínu u býkov hovädzieho dobytku na základe polymorfizmu dĺžky reštrikčných fragmentov (RFLP)	165
Hoffrek B., Šlosárková S., Ondrová J.: Vliv chronické metabolické acidózy na migrační aktivitu polymorfonukleárních leukocytů u ovcí	171
Krajničáková M., Bekeová E., Maraček I., Hendrichovský V.: Dynamické zmeny hematologických parametrov v krvi oviec pri synchronizácii ruje a v nadväznom čase ranej gravidity	177
Suchý P., Straková E., Klecker D.: Změny hematologických ukazatelů u krůt v období výkrmu	181
Hejlíček K., Tremel F.: Srovnání patogeneze a epizootologického významu aviární mykobakterií různých druhů domestikovaných a volně žijících synantropních ptáků	187
Mlynářčiková H., Legáth J., Dudříková E., Poráčková J., Kováč G.: Biochemické aspekty toxického účinku supermetrínu v podmienkach chronického 140-dňového aviárneho reprodukčného testu	195