

ÚZPI

ÚSTAV ZEMĚDĚLSKÝCH A POTRAVINÁŘSKÝCH INFORMACÍ

VETERINÁRNÍ MEDICÍNA

Veterinary Medicine – Czech

ČESKÁ AKADEMIE ZEMĚDĚLSKÝCH VĚD

8

VOLUME 40 (LXVIII)
PRAHA
AUGUST 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. ing. Jiří Brož, CSc., Reinfeld, Switzerland

RNDr. Milan Fránek, CSc., Veterinary Research Institute, Brno, Czech Republic

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

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

M. V. Nermut, MD., PhD., Prof. emeritus, National Institute for Biological Standards and Control, United Kingdom

Prof. MUDr. Leopold Pospíšil, DrSc., Veterinary Research Institute, 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 Věžník, 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, e-mail: braun@uzpi.agrec.cz. 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, e-mail: braun@uzpi.agrec.cz. 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).

IN VIVO REDUCTION OF RADIOCAESIUM BY MODIFIED CLINOPTILOLITE IN SHEEP

IN VIVO REDUKCE RADIOCESIA MODIFIKOVANÝM KLINOPTILOLITEM U OVCI

J. Jandl¹, J. Novosad²

¹Veterinary Research Institute, Brno, Czech Republic

²Faculty of Science of Masaryk University, Brno, Czech Republic

ABSTRACT: The efficiency of the sorbent prepared by immobilization of [Iron(II)hexacyanoferrate(II)] on clinoptilolite – marked as ZEOFe – in reduction of the radiocaesium Cs-137 has been *in vivo* investigated in sheep. It was found that an application of this modified clinoptilolite affected both primary and secondary resorption of Cs-137 also by interrupting the enteral cycle of radiocaesium in sheep. It was proved that ZEOFe accelerated approx. twice the excretion of Cs-137 from sheep's body. The whole effect resulted in 15 to 50 times lowering of the equilibrium concentration of radiocaesium in the case of constant intake of the contaminated feed and simultaneous application of 50 grams of ZEOFe daily. The actual reduction depends mainly on the way of administration. The reduction of Cs-137 by non-modified clinoptilolite – ZEO – has been investigated, too. More than 10x lower sorption efficiency has been observed in comparison with ZEOFe.

sheep; radiocaesium; sorbent; clinoptilolite; hexacyanoferrate

ABSTRAKT: Je popsána účinnost sorbentu připraveného imobilizací hexakvanoželeznanu železnatého [Fe(II)HCF₆(II)] na klinoptilolitu pro sorpci Cs-137 v těle ovcí. Sledováním *in vivo* bylo zjištěno, že podávání sorbentu snižuje rovnovážnou retenci radiocesia při současném konstantním příjmu radiocesia s krmivem 15 až 50krát ve srovnání se situací, kdy toto opatření není aplikováno. Výsledek je důležitý zvláště z hlediska případného radiačního ohrožení, kdy volně se pasoucí ovce mohou patřit k exponovaným druhům hospodářských zvířat.

ovce; radiocesium; sorbent; klinoptilolit; hexakvanoželeznan železnatý

ÚVOD

V současné době činí roční příjem české populace přibližně 1 000 Bq (becquerelů) Cs-137, z toho více než 50 % z masa zvířat a z mléčných produktů. Radiocesium se ve zvýšené míře bude vyskytovat v biosféře ještě asi 20 roků (následkem testů jaderných zbraní a po černobylské havárii), takže je účelné hledání technologií pro ochranu potravního řetězce před tímto radiobiologicky významným radionuklidem, a to i pro případ jakkoliv vzniklé mimořádné radiační situace.

Pro sorpci radiocesia byly často využívány látky ze skupiny berlínské modři (dále HCF₆) a rovněž jílovité materiály, převážně bentonit, vermiculit nebo mordeinit. Experimenty s ovci jsou popsány v pracích Van den Hoek (1976), Beresford aj. (1989), Daburon aj. (1991) a Ioannides aj. (1991). Souhrnou práci publikovala Voigt (1993).

Použití obou druhů látek (HCF₆ a jílu) má své nevýhody: manipulace s HCF₆ je v praxi poněkud obtížná a jíly vykazují značně menší účinnost než HCF₆. Procházková aj. (1991) připravili kompozitní sorbent

navázáním HCF₆ na perlovou celulózu. Přes dobré sorpční vlastnosti se sorbent ukázal jako ekonomicky nevýhodný. Novosad aj. (1992) připravili a charakterizovali *in vitro* sorbent vzniklý imobilizací [Fe(II)HCF₆(II)] na dostupný přírodní zeolit-klinoptilolit.

Cílem této práce bylo zjistit účinnost tohoto sorbentu při redukcí radiocesia v těle ovcí *in vivo*. Byl zjišťován vliv způsobu podávání sorbentu ve vztahu ke krmivu a bylo rozlišeno jeho působení ovlivněním primární, sekundární nebo celkové resorpce radiocesia. Pro srovnání byly provedeny také experimenty s neupraveným klinoptilolitem, bez [Fe(II)HCF₆(II)].

MATERIÁL A METODY

Ovce

Pokusy byly provedeny s osmi dospělými ovci (věk čtyři roky) zušlechtěného valašského plemene o průměrné hmotnosti 48,6 ± 8,0 kg. Během pokusů byl zdravotní stav všech ovcí dobrý.

Kontaminované krmivo

Do 10–20 g krmné směsi bylo vneseno 0,5–5 ml zásobního roztoku Cs-137, doplněno vodou do kašovitě konzistence, promícháno a sušeno při 100 °C. Odparek směsi byl pak znovu rozdrcen a drť byla přidávána do krmné směsi. V jednom případě bylo Cs-137 aplikováno intravenózně. Množství aplikovaného radiocesia (tab. I) bylo vypočteno z údajů výrobce (ÚVVVR Praha) o aktivitě základního roztoku, opraveného na poločas rozpadu (30,4 roku) a na příslušné ředění, pokud bylo provedeno.

Sorbenty

- [Fe(II)HCFE(II)] vázaný na klinoptilolit, dále označen jako ZEOFe. Příprava ZEOFe (Novosad aj., 1992): K 1 000 g klinoptilolitu v H-cyklu bylo přidáno 1 000 ml $1,5 \cdot 10^{-1}$ M roztoku FeSO_4 . Po jedné hodině míchání byl přebytečný roztok odfiltrován a klinoptilolit byl přelit 1 000 ml $7,5 \cdot 10^{-2}$ M roztokem $\text{K}_4\text{Fe}(\text{CN})_6$. Po důkladném promíchání byla nadbytečná sraženina odstraněna dekantací destilovanou vodou. Srážecí reakce je velmi rychlá, proto již po několika minutách je možné klinoptilolit promýt tak, aby se odstranila sraženina, která není vázána klinoptilolitem. Získaný produkt byl usušen při laboratorní teplotě.
- Klinoptilolit pro krmivářské účely vyrábějí Keramické závody Michalovce. Složení je uvedeno v práci autorů Šingliar aj. (1992).

Způsoby krmení a podávání sorbentů

Ovce byly během pokusů krmeny krmnou směsí pro kojící bahnice (0,5 kg/kus/den) a senem (2kg/ks/den) a ustájeny odděleně. Týden před pokusy probíhala aklimatizace a návyk na způsob krmení. Den prvního podání kontaminovaného krmiva byl vždy označen jako nultý den pokusu. Kontaminované krmivo a sorbenty byly podávány následujícími způsoby:

- DS – způsob, kdy do denní krmné dávky (0,5 kg) byl současně dodán aktivní vzorek i sorbent, směs doplněna vodou, promíchána a podávána („dohromady společně“);
- ZN – způsob, kdy do 0,1 kg krmiva byl přidán aktivní vzorek, směs byla zvlhčena a podána, po sežráním této směsi ovce obdržela 0,4 kg zvlhčeného krmiva se sorbentem („zvlášť, následně“);
- ZS – způsob, kdy do 0,1 kg krmiva byl přidán aktivní vzorek a do 0,4 kg krmiva přidáno 0,4 kg sorbentu a obě krmiva byla podána současně („zvlášť, současně“);
- B – podávání sorbentu v 0,5 kg krmiva ve dnech, kdy nebylo aplikováno 137-Cs („bez“).

Ve všech případech bylo zkrmení dávky kontrolováno vizuálně. Nebyly zjištěny případy odmítání krmiva pokusnými zvířaty.

Měření radioaktivity

In vivo byla radioaktivita Cs-137 v ovčích měřena periodicky dvakrát týdně na celotělovém počítači Vojenské lékařské akademie Hradec Králové čtyřmi detektory se scintilačními krystaly NaI(Tl) velikosti 100 x 120 mm. Na základě těchto měření provedli Neruda aj. (1990) výpočty retence Cs-137 v ovčích, které byly na tomto pracovišti při pokusech ustájeny. Retenční rovnice, popisující úbytek radioaktivity s časem t , má obecný tvar:

$$A_t = I_1 \cdot e^{-\lambda_1 t} + I_2 \cdot e^{-\lambda_2 t} + \dots + I_n \cdot e^{-\lambda_n t} \quad (1)$$

kde: A_t – aktivita v čase t

$I_{1..n}$ – jsou konstanty odpovídající úsekům, pro které platí jistý $T_{1/2}$

$-\lambda_{1..n}$ – jsou konstanty biologického úbytku (d), které jsou s biologickým poločasem spojeny vztahem:

$$\lambda_{1/2} = \ln 2/T_{1/2} \quad (2)$$

Rovnice (1) má tolik členů, kolikrát se během exkrece radionuklidu změní biologický poločas, což je doba, za kterou se z organismu biologickými pochody vyloučí polovina původně přítomného množství radionuklidu. Počet poločasů zjistíme analýzou retenční křivky

I. Přehled základních parametrů pokusů – Summary of basic experimental parameters

Ovce ¹		Aplikované 137-Cs ³		Sorbent		Dny aplikace ⁷	Způsob podání ⁸
číslo ²	kg	(kBq)	dny ⁴	druh ⁵	hmotnost ⁶ (g)		
1	46	24	0	nepodáván ⁹			
2	63	24	0	nepodáván			
3	39	305	0–2	ZEOFe	20	–1–4	DS
4	39	608	0–2	ZEOFe	20	–1–4	ZS
5	44	203	0	ZEOFe	20	20–34	B
6	57	203	0 i.v.	ZEOFe	50	20–34	B
7	45	160	0–13	ZEO	30	–1–13	ZN
8	40	160	0–13	ZEO	30	–1–13	DS

¹sheep, ²no., ³137-Cs application, ⁴days, ⁵kind, ⁶weight, ⁷days of application, ⁸method of application, ⁹no application

Číslo ovce ¹	Aplikace 137-Cs v x. den ²	Způsob aplikace sorbentu ³	Aplikace sorbentu v x. den ⁴	Druh sorbentu ⁵	Redukční faktor F(t)/den ⁶
3	0-2	DS	-1-4	ZEOFe	F(3) = 9 F(8) = 45 F(14) = 55
4	0-2	ZS	-1-4	ZEOFe	F(6) = 35 F(13) = 27 F(21) = 30
7	0-13	ZN	-1-13	ZEO	F(14) = 1,4 F(17) = 2,2 F(19) = 2,4 F(25) = 2,8
8	0-13	DS	-1-13	ZEO	F(14) = 1,4 F(17) = 2,2 F(25) = 3,1

¹sheep no., ²137-Cs application on x-th day, ³method of sorbent application, ⁴sorbent application on x-th day, ⁵sorbent kind, ⁶reduction factor F(t)/day

extrapolací pomalejší složky k $t = 0$ a odečtením ordinát extrapolované přímky od ordinát původní křivky.

- ovlivnění sekundární resorpce Cs-137, tj. ovlivnění enterálního cyklu,
- stanovení celotělové retence Cs-137 při podávání sorbentu, to jest celkové účinnosti.

Sestavení pokusů

Základní parametry jednotlivých pokusů jsou uvedeny v tab. I.

STANOVENÍ CELOTĚLOVÉ RETENCE CS-137 BEZ PODÁNÍ SORBENTŮ

VÝSLEDKY A DISKUSE

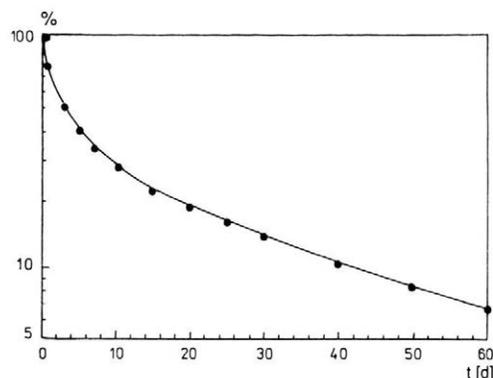
Účinnost sorbentů byla zjišťována srovnáním retence radiocesia s kontrolní skupinou, které bylo podáno jen kontaminované krmivo buď jednorázově, nebo opakovaně. Podle sledovaných cílů lze pokusy rozdělit následovně:

- stanovení celotělové retence Cs-137 bez podání sorbentu,
- ovlivnění primární resorpce Cs-137 podáváním sorbentu,

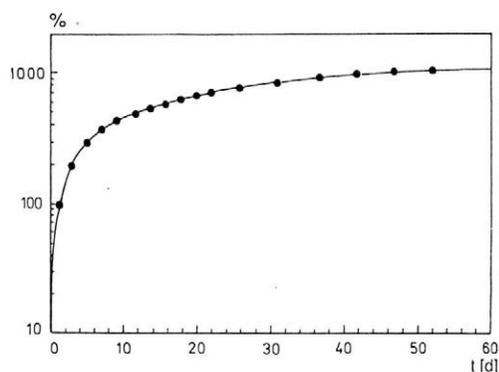
Z těchto pokusů byly vypočteny základní retenční křivky nutné pro srovnání účinku sorbentů. Na obr. 1 je křivka celotělové retence Cs-137 po jednorázové aplikaci radionuklidu, neovlivněná podáním sorbentů. Její průběh lze popsat vztahem (3), ve kterém t je doba po aplikaci Cs-137:

$$r(t) = 0,61 \cdot e^{-0,41t} + 0,14 \cdot e^{-0,054t} + 0,25 \cdot e^{-0,022t} \quad (3)$$

Ze vztahu (3) plynoucí tříexponenciální průběh nasvědčuje tomu, že radiocesium v těle ovcí není tak



1. Celotělová retence Cs-137 (%) u kontrolních zvířat, neovlivněná podáváním sorbentů. Jednorázově aplikovaná aktivita v čase $t = 0$ je brána jako 100 % – The whole body retention of Cs-137 (%) in control animals not affected by application of sorbents. One-time administered activity in the time $t = 0$ is taken as 100%



2. Retence Cs-137 (%) vypočtená pro příjem radiocesia opakovaně po t dní. Denně aplikované množství radiocesia je rovno 100 %. Křivka limituje k hodnotě 1 450 %, to znamená, že rovnovážná koncentrace Cs-137 u ovcí se rovná 14,5násobku denního příjmu – Cs-137 retention (%) calculated for t days of repeated intake of radio-caesium. The daily intake is taken as 100%. The curve limits to the value 1 450%, so the equilibrium concentration of Cs-137 in sheep is 14.5 multiple of the daily intake

rychle směřitelné, aby průběh mohl být popsán často používaným jednosložkovým modelem.

Na obr. 2 je vypočtená retenční křivka pro t dní opakovanou aplikaci radiocesia, kde denní příjem je vzat jako 100 %.

Pro $t = \infty$ hodnota limituje k 1 450 %, to znamená, že rovnovážné množství v organismu ovcí se rovná asi 14,5násobku denního příjmu po zhruba 100 dnech konstantního příjmu.

OVLIVNĚNÍ PŘEVÁŽNĚ PRIMÁRNÍ RESORPCE RADIOCESIA

Snížení primární resorpce je kvantifikováno redukčním faktorem F , který je roven poměru hodnoty dané veličiny stanovené bez podání sorbentu k hodnotě téže veličiny po aplikaci sorbentu. Výsledky jsou v tab. II. Z tabulky je vidět, že podávání ZEOFe zároveň s kontaminovaným krmivem (DS) vede až k $F =$ asi 50, zatímco způsob při kterém nedojde ke kontaktu sorbentu s radionuklidem před ingescí je charakterizován spíše $F = 10$ až 30. U ZEO byl zjištěn F řádově menší (max $F = 3,1$).

OVLIVNĚNÍ PŘEVÁŽNĚ SEKUNDÁRNÍ RESORPCE RADIOCESIA

Účinnost sorbentů snížením sekundární resorpce radiocesia při enterálním cyklu byla ověřena prolongovaným podáváním ZEOFe a ZEO po jednorázové ingesci kontaminovaného krmiva.

Vyhodnocení vlivu podávání látek na snížení retence prostřednictvím snižování sekundární resorpce je komplikované vzhledem k tomu, že neplatí jednosložkový model kinetiky cesia. Jeden z možných postupů, jak popsat tento proces, vychází ze srovnání středních rychlostních konstant $k_e(t_1, t_2)$. Pro $k_e(t_1, t_2)$ platí:

$$k_e(t_1, t_2) = [\ln r(t_1) - \ln r(t_2)] \cdot (t_1 - t_2)^{-1} \quad (4)$$

Pro jednotlivé experimenty jsou dále vypočteny hodnoty $k_e(t_1, t_2)_L$ tzn. hodnoty za období, kdy byla podávána látka, a ty jsou srovnány s hodnotami $k_e(t_1, t_2)_K$ vypočtenými pro stejná t_1 a t_2 ovšem z „kontrolní“ křivky $r(t)_K$. Získaný podíl f představuje násobek zvýšení rychlostní konstanty celkové exkrece.

Ovce č. 5

20 g ZEOFe bylo podáno 20. až 28. den po aplikaci 137-Cs způsobem B.

$$k_e(t_1, t_2)_L = 0,0660$$

$$k_e(t_1, t_2)_K = 0,0292$$

Podání 50 g ZEOFe zvyšuje průměrnou rychlostní konstantu eliminace 137-Cs mezi 20. až 28. dnem 2,26krát ($f = 2,26$).

Ovce č. 6

50 g ZEOFe bylo podáváno 20. až 34. den po *i. v.* aplikaci 137-Cs způsobem B.

$$k_e(t_1, t_2)_L = 0,0522$$

$$k_e(t_1, t_2)_K = 0,0275$$

Podávání 50 g ZEOFe tedy zvyšuje průměrnou rychlostní konstantu eliminace 137-Cs mezi 21. až 35. dnem 1,90krát ($f = 1,9$).

Lze předpokládat, že rychlostní konstanta endogenní sekrece do střeva bude větší z rychleji směřitelných složek než ze složky s nejpomalejším obratem. Časové intervaly podávání látek představují období, kdy je již do značné míry ustavena rovnováha. Zvýšení rychlostních konstant celkové exkrece cesia má proto zřejmě menší význam při podávání ochranné látky dodatečně s větším časovým odstupem od kontaminace než při podání v akutní fázi kontaminace.

RETENCE CS-137 PŘI PODÁVÁNÍ ZEOFE – CELKOVÁ ÚČINNOST

Při stálém příjmu kontaminovaného krmiva se po asi 100 dnech ustaví rovnovážná koncentrace radiocesia rovnající se 14,5násobku denního příjmu, není-li podáván sorbent (obr. 2). Při stálém podávání sorbentu lze rovnovážné množství Cs-137 zjednodušeně popsat rovnicí (5):

$$R = F^{-1} \cdot f^{-1} \cdot r \quad (\text{Bq/kg}) \quad (5)$$

kde: R – rovnovážné množství (koncentrace) Cs-137 v organismu při podávání sorbentu současně s kontaminovaným krmivem

r – rovnovážná koncentrace Cs-137 ($\text{Bq} \cdot \text{kg}^{-1}$) u kontrolní skupiny bez podávání sorbentu

F – redukční faktor primární resorpce

f – násobek zvýšení rychlostní konstanty celkové exkrece radiocesia

Dosazením změřených hodnot do rovnice (3) lze očekávat, že dlouhodobé podávání ZEOFe sníží rovnovážnou koncentraci Cs-137 v ovcích 15 až 50krát v závislosti na způsobu podání.

ZÁVĚR

Na základě získaných výsledků lze konstatovat, že sorbent ZEOFe vykazuje vysokou účinnost při snížení resorpce radiocesia v trávicím ústrojí ovcí. Na výsledném efektu se podílí redukce primární i sekundární resorpce. Účinnost neupraveného klinoptilolitu – ZEO je řádově nižší.

Z celkové bilance vyplývá, že denní podávání 50 g ZEOFe s redukčním faktorem primární resorpce $F = 10$ –30 a při urychlení celkové exkrece charakterizovaným faktorem $f = 1,6$ –2,0 sníží hodnotu rovnovážné retence radiocesia u ovcí přibližně 15 až 50krát. K dalšímu upřesnění dosud získaných poznatků jsou nutné doplňující experimenty.

Poděkování

V práci byly využity poznatky z pobytu autorů na Imperial College of Science, Technology and Medicine, University of London, UK, hrazené z grantů Euro-

pean Environmental Research Organisation (EERO), Wageningen, Holandsko. Autoři vysoce oceňují finanční podporu od této organizace.

Experimentální podklady byly získány ve Výzkumném ústavu veterinárního lékařství, Hudcova 70, 621 32 Brno-Medlánky a ve Vojenské lékařské akademii v Hradci Králové v rámci řešení úkolu P06-529-837-03-03-02.

Acknowledgement

The knowledge gained during scientific visits of the authors to the Imperial College of Science, Technology and Medicine, University of London, UK, was used in this paper. The visits were funded by a grant from the European Environmental Research Organization (EERO), Wageningen, The Netherlands. The financial support by EERO is gratefully acknowledged.

LITERATURA

BERESFORD, N. A. – LAMB, C. S. – MAYES, R. W. – HOWARD, B. J. – COLGROVE, P. M.: The effect of treating pastures with bentonite on the transfer of Cs-137 from grazed herbage to sheep. *J. Environ. Radioact.*, 9, 1989: 251–264.
DABURON, F. – ARCHIMBAUD, Y. – COUSI, J. – FAYART, G. – HOFFSCHIR, D. – CHEVALLEREAU, I. –

LeCREFF, H.: Radiocaesium transfer to ewes fed contaminated hay after the Chernobyl accident: effect of vermiculite and AFCF (ammonium ferricyanoferrate) as countermeasures. *J. Environ. Radioact.*, 14, 1991: 73–84.

IOANNIDES, K. G. – MANTZIOS, A. S. – PAPPAS, C. P.: Influence of Prussian blue in reducing transfer of radiocesium into ovine milk. *Hlth Phys.*, 60, 1991: 261–264.

NERUDA, O. – HEJZLAR, J. – ŠPELDA, S.: Ovlivnění retence Cs-137 u ovcí. [Studijní zpráva.] Hradec Králové 1990. 26 s. – Vojenská lékařská akademie JEP.

NOVOSAD, J. – JANDL, J. – WOOLLINS, J. D.: Characterization of modified clinoptilolite. *J. Radioanal. Nucl. Chem., Lett.*, 165, 1992: 287–294.

PROCHÁZKA, H. – JANDL, J. – NOVOSAD, J. – NERUDA, O. – HEJZLAR, J. – ŠPELDA, S.: Ovlivnění retence radiocesia u miniprasat. *Veter. Med. (Praha)*, 36, 1991: 341–348.

ŠINGLIAR, M. – SOPKOVÁ, A. – BUBANEC, J. – FABÍÁN, P. – KALAVSKÝ, F.: Využití přírodních zeolitů v poľnohospodárstve. *Agrochémia*, 32, 1992: 91–93.

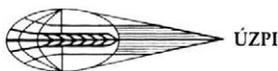
VAN DEN HOEK, J.: Cesium metabolism in sheep and the influence of orally ingested bentonite on cesium absorption and metabolism. *Z. Tierphysiol. Tierernähr. Futterm.-Kde*, 43, 1976: 101–109.

VOIGT, G.: Chemical methods to reduce the radioactive contamination of animals and their products in agricultural ecosystems. *Sci. Total Environ.*, 137, 1993: 205–225.

Došlo 20. I. 1995

Současná kontaktní adresa:

RNDr. Jaromír J a n d l, CSc., Vysoké učení technické, Fakulta chemická, Veslařská 230, 637 00 Brno, Česká republika
Tel. 05/43 21 03 94–6, fax 05/43 21 11 01, e-mail: jandl@fch.vutbr.cz



ÚZPI

ÚSTAV ZEMĚDĚLSKÝCH A POTRAVINÁŘSKÝCH INFORMACÍ

(Slezská 7, 120 56 Praha 2, fax: 25 70 90)

vydává v roce 1995 v edici

METODIKY PRO ZAVÁDĚNÍ VÝSLEDKŮ VÝZKUMU DO ZEMĚDĚLSKÉ PRAXE

tyto publikace:

1. Systém hubení plevelů v oblastech s narušenými plevelnými společenstvy (*Mikulka J. a kol.*)
2. Technologické postupy pro racionální pěstování jednotlivých užitkových směrů brambor (*Vokál B. a kol.*)
3. Metodika konverze podniku na ekologické zemědělství (*Petr J. a kol.*)
4. Metody použití kombinací herbicidů a hnojiv (*Mikulka J. a kol.*)
5. Hořčice (*Vašák J. a kol.*)
6. Cukrovka – úsporné technologie (*Šroller J. a kol.*)
7. Pěstování pohanky a prosa (*Petr J. a kol.*)
8. Výživa a hnojení zemědělských plodin (*Neuberg J. a kol.*)
9. Využití sonografie v reprodukci hospodářských zvířat (*Petelíková J. a kol.*)
10. Výživa dojníc v průběhu mezidobí z hlediska ekonomické efektivity výroby mléka (*Lossmann J. a kol.*)
11. Doporučené potřeby minerálních látek a jejich nové zdroje u skotu a ovcí (*Šimek M. a kol.*)
12. Alternativní využití progesteronového testu u hospodářských zvířat, zvláště u plemenic skotu (*Pöschl M. a kol.*)
13. Chov masných plemen skotu (*Golda J. a kol.*)
14. Jak vyrobit kvalitní mléko (*Kratochvíl L.*)
15. Technika v postupech ochranného zpracování půdy k širokořádkovým plodinám (*Hůla J. a kol.*)
16. Malotonážní zpracování řepky olejné (*Jevič P. a kol.*)
17. Optimalizace parametrů palivové soustavy motoru při použití metylesteru řepkového oleje jako paliva (*Křepelka V. a kol.*)
18. Stanovení a ekonomické hodnocení nákladů na mechanizované práce v zemědělství (*Abrhám Z. a kol.*)
19. Snižování spotřeby energie ve sklenících (*Šrámek F.*)
20. Přirozená obnova lesa (*Vacek S. a kol.*)
21. Podsadby lesních porostů (*Vacek S. a kol.*)
22. Finanční řízení zemědělských podnikatelských subjektů (*Novák J. a kol.*)

AN ABNORMALLY HIGH OCCURRENCE OF MALFORMED KINOCILIA IN THE TRACHEAL EPITHELIUM OF A CLINICALLY HEALTHY RABBIT

ABNORMÁLNĚ VYSOKÝ VÝSKYT MALFORMOVANÝCH ŘASINEK V TRACHEÁLNÍM EPITELU KLINICKY ZDRAVÉHO KRÁLÍKA

J. Uhlík, V. Konrádová, J. Šrajer, A. Zajícová

Institute of Histology and Embryology of the 2nd Faculty of Medicine at Charles University, Praha, Czech Republic

ABSTRACT: An abnormally high occurrence of malformed kinocilia containing axonemes with different number or arrangement of microtubules compared with the typical 9+2 pattern of motile cilia was encountered in the tracheal epithelium of one clinically healthy rabbit. The malformed cilia amounted to 6.87% of all kinocilia. Individual types of ciliary malformations were further classified. The frequency of ciliary malformations was compared with that in all other rabbits the ciliary border of which has been quantitatively evaluated in our laboratory. Using Grubbs test the extremely low probability of occurrence of such a high number of malformed kinocilia in the rabbits' population was verified. The studied rabbit suffered from a mild form of the immotile cilia syndrome, but the loss of less than 10% of moving cilia did not lead to the expression of the clinical signs of the impaired function of cilia in the organism.

rabbit; tracheal epithelium; malformed cilia; immotile cilia syndrome

ABSTRAKT: V tracheálním epitelu jednoho klinicky zdravého králíka byl nalezen abnormálně vysoký počet malformovaných řasinek, jejichž axonémy se počtem nebo uspořádáním mikrotubulů lišily od typické (9+2) axonémy pohyblivých řasinek. Malformované řasinky představovaly 6,87 % všech kinocilií. Jednotlivé typy řasinkových malformací jsme dále klasifikovali. Výskyt řasinkových malformací jsme porovnali s výskytem těchto elementů u všech ostatních králíků, jejichž řasinkový lem jsme kvantitativně hodnotili. Pomocí Grubbsova testu jsme prokázali extrémně nízkou pravděpodobnost výskytu takto vysokého počtu malformovaných řasinek v populaci králíků. Lehká forma syndromu nepohyblivých řasinek, jejíž přítomnost jsme u sledovaného králíka prokázali, se klinicky neprojevila, protože malformace postihla méně než 10 % populace řasinek.

králík; tracheální epitel; malformované řasinky; syndrom nepohyblivých řasinek

INTRODUCTION

In 1962 Satir found the first malformed cilium among the population of cilia with the 9+2 inner pattern. Since then papers describing isolated malformed or atypical ciliary elements have occurred rather frequently (Hando et al., 1968; Konrádová, 1973; Konrádová et al., 1975). In 1975 Afzelius with his fellow-workers described generalized malformations of axonemes of the spermatozoa in two brothers. Later (Afzelius, 1976) he extended his studies to the cilia in their airways and he gave the first account of the immotile cilia syndrome (ICS). Almost boundless number of papers dealing with this syndrome have later appeared. Using the quantitative approach the occurrence of a limited number of malformed cilia was ascertained in all healthy individuals (Fox et al., 1983; Konrádová and Šrajer, 1987; Nielsen et al., 1983; Rossman et al., 1984; Wisseman et al.,

1981). In recent years the ICS or at least an abnormally higher occurrence of malformed cilia were reported in several animals – mice, dogs, and pigs (Bryan, 1983; Edwards et al., 1989; Roberto et al., 1993; Wilman et al., 1987). However, in rabbits the ICS has not been described. Studying the effect of the intratracheal application of iodinated contrast agents on the ultrastructure of the tracheal epithelium an extremely great number of malformed kinocilia was revealed in one rabbit. We decided to describe this unusual finding, to classify the types of ciliary malformations and to compare their frequency with that found in the other rabbits so far studied in our laboratory.

MATERIAL AND METHODS

An adult male rabbit (body weight 3,400 g) kept under standard laboratory conditions did not show any

signs of disease. 1 ml of iopamidol was intratracheally applied under the thiopental anaesthesia. The whole experiment was described in another paper (Konrádová et al., 1994). The tracheal mucous membrane was collected from the caudal part of trachea out of reach of the catheter. Fragments of the mucous membrane were fixed for 90 min in 5% glutaraldehyde in 0.1 M cacodylate buffer (pH 7.2) and then postfixed for 60 min in 2% OsO₄ in 0.1 M cacodylate buffer (pH 7.4). The material was dehydrated by graded series of ethanol and embedded in a Durcupan-Epon mixture. Zones suitable for an ultrathin sectioning were detected in semithin sections stained with toluidine blue. Ultrathin sections were cut on an Ultratome Nova (LKB), contrasted with uranyl acetate and lead citrate. They were subsequently examined in a JEM 100C (JEOL) electron microscope.

The ciliary border was evaluated quantitatively using our method (Konrádová and Šrajter, 1987). In 599 μm² of the ciliary border 3,419 cilia were counted. The kinocilia were divided into 4 groups. 3,013 intact cilia revealed the typical 9+ inner pattern. In 47 pathological cilia local swellings of the ciliary membrane or tiny vacuoles situated inside their shafts were observed. 124 degenerating cilia were represented by axonemes incorporated into the cytoplasmic blebs on the apical portions of the ciliated cells or by isolated axonemes and their fragments situated freely in the area of the ciliary border. 235 malformed cilia contained axonemes with different number or arrangement of microtubules compared with the typical 9+2 pattern.

The finding of malformed cilia was compared with the findings in all other rabbits, the ciliary border of which was quantitatively evaluated in our laboratory. Together 45 rabbits were studied by the same method as the described one and the survey of them is given in

Tab. I. The occurrences of malformed cilia in all rabbits were statistically evaluated by the Grubbs test.

RESULTS

On average 5.7 kinocilia per 1 μm² of the ciliary border were found. The intact, pathological, degenerating and malformed cilia represented 88.13%, 1.37%, 3.63% and 6.87%, respectively.

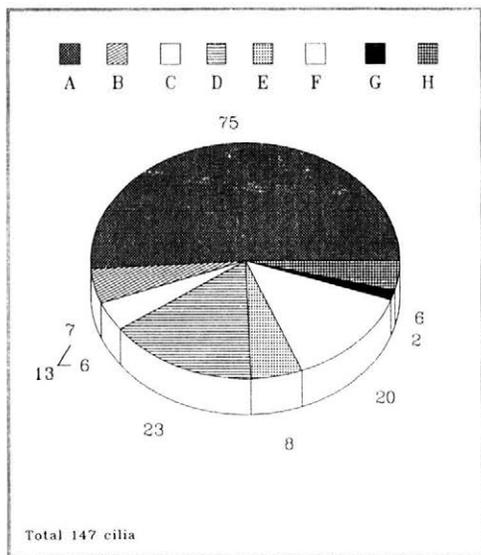
Among the malformed cilia elements with missing microtubules prevailed (62.5%) over those with the supernumerary ones (34.5%). Various dislocations of microtubules in the 9+2 axonemes were relatively rare (3%).

Approximately a half of the cilia with missing microtubules (Fig. 1) were represented by structures with axonemes reduced to 1 to 4 doublets or even single microtubules (Fig. 2a, g). Mostly only 2 microtubular elements were contained in one „cilium“. The rest of the cilia with missing microtubules more resembled the typical kinocilia. The elements without one or two central microtubules (9+0, 9+1; Fig. 2b, c), with a defect of isolated peripheral microtubules (Fig. 2f, g) or whole peripheral doublets (3+2 to 8+2; Fig. 2d, e, g) belonged to this group. In some cilia combined defects of central microtubules and peripheral doublets (Fig. 2c, f, g) were also revealed. Special forms represented 2 cilia of the 7+3 and 8+3 type (Fig. 2e). In their axonemes combination of disappearance of peripheral doublets with the occurrence of a supernumerary central microtubule was discovered. In 6 cilia an incomplete axoneme was noticed, but due to the plane of section the precise classification of these elements was not possible.

The malformed cilia with supernumerary elements in their axonemes were of a more uniform appearance compared with the previous group (Fig. 3). The occurrence of supernumerary central microtubules prevailed.

I. Correlation of the relative number of malformed kinocilia and the degree of damage to the tracheal epithelium in individual experimental groups of rabbits

Experimental procedure	Collection of material	Malformed cilia (%)	Degree of damage
Controls		0.49, 0.39, 0.19	0
Intratracheal application of 1 ml of iodinated contrast agent Iopamiro	5 min after application	6.87, 0.97, 0.80	mild
Inhalation of 0.4 mg of bronchospasmodolyticum Berotec	30 min after application	0.57, 0.42, 0.80	mild
Peroral application of 5 droplets of antitussicum Intussin	20 min after application	0.57, 0.47, 0.45	mild
Intravenous application of 0.04 mg of Atropin	20 min after application	0.34, 0.29, 0.57	mild
Bronchoalveolar lavage by 3 x 10 ml of saline	72 h after lavage	0.15, 0.29, 0.52	mild
Bronchoalveolar lavage by 3 x 10 ml of saline	48 h after lavage	0.43, 0.92, 0.97	moderate
Intravenous application of 0.5 mg of Atropin	20 min after application	1.34, 1.71, 1.41	moderate
Intratracheal application of 1 ml of iodinated contrast agent Omnipaque	5 min after application	0.87, 1.41, 1.99	moderate
Bronchoalveolar lavage by 3 x 10 ml of saline	24 h after lavage	0.71, 0.86, 1.93	moderate
Intratracheal application of 1 ml of iodinated contrast agent Hexabrix	5 min after application	1.30, 0.53, 0.46	moderate
Inhalation of 90% unmoistened O ₂ for 2 hours	immediately after inhal.	1.15, 1.89, 1.40	moderate
Inhalation of 90% moistened O ₂ for 2 hours	immediately after inhal.	4.32, 1.56, 3.38	moderate
Bronchoalveolar lavage by 3 x 10 ml of saline	immediately after lavage	3.74, 2.44, 2.04	severe
Bronchoalveolar lavage by 3 x 10 ml of saline	2 h after lavage	2.90, 3.44, 4.47	severe



I. Cilia with missing microtubules (absolute values)

- A – 1 to 4 irregularly arranged single or double microtubules
- B – complete defect of central microtubules (9+0)
- C – partial defect of central microtubules (9+1)
- D – defect of complete peripheral doublets (3+2 to 8+2)
- E – defect of isolated peripheral microtubules
- F – combination of defects of central microtubules and peripheral doublets
- G – combination of a defect of peripheral doublets with an appearance of 1 central microtubule (7+3 and 8+3)
- H – undefined

More than a half of the kinocilia with supernumerary microtubules were represented by the 9+3 cilia (Fig. 2i, j). The presence of 2 or even 3 supernumerary central microtubules (9+4 and 9+5) was recorded with decreasing frequency (Fig. 2f, h, i). The cilia with 1 to 9 supernumerary peripheral single or double microtubules were also discovered (Fig. 2g, h). In 2 elements the development of 2 supernumerary central microtubules and one peripheral singlet was recorded (Fig. 2j). In the last 4 cilia axonemes with irregular arrangement of 12 to 17 doublets occurred.

In the ciliated cells extensive intracytoplasmic ciliary vacuoles containing fibrogranular matrix, remnants of membranes and tiny vesicles with electron-dense content were discovered rather frequently. Inside these vacuoles microvilli and kinocilia protruded. Numerous kinocilia with missing central or peripheral microtubules and also cilia with dislocations in the 9+2 axoneme were revealed there (Fig. 4).

DISCUSSION

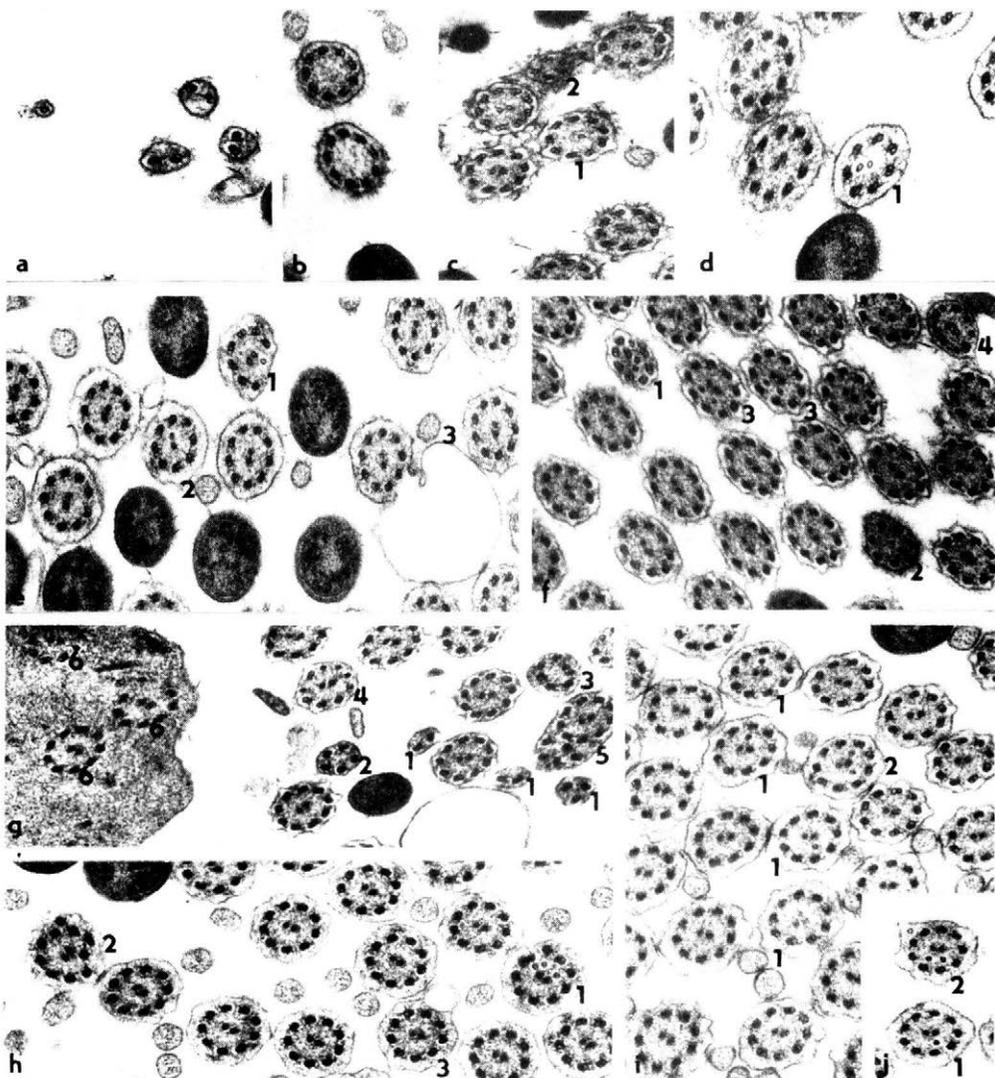
Many authors have studied the malformed kinocilia in airways of healthy humans or patients with various diseases. Only some of them attempted to evaluate their

findings quantitatively. The occurrence of malformed kinocilia in clinically healthy humans was estimated between 1 and 5 percent of the total number of cilia (Fox et al., 1983; Konrádová and Šrajter, 1987; Nielsen et al., 1983; Rossmann et al., 1984; Wissemann et al., 1981). An increased number of malformed cilia was recorded in patients with chronic respiratory diseases. A generalized malformation of axonemes of cilia and flagella was noticed in patients with the ICS (Fox et al., 1983; Nielsen et al., 1983; Rossmann et al., 1984; van der Baan et al., 1987).

Only a few studies dealing with the quantitative evaluation of the ciliary border in airways of other mammals have appeared. Their results varied considerably. Bryan (1983) did not find any malformed cilia in airways of normal mice. Ranga and Kleinerman (1981) discovered 1.5% and Sato et al. (1985) with his co-workers (1985) even 5.5% malformed cilia in airways of these animals. An average occurrence of malformed cilia in healthy dogs was estimated to be 2.2% of the total number of cilia (Wilsmann et al., 1982). In healthy guinea pigs Dalen (1981) noticed only isolated ciliary malformations (< 0.1%). In our laboratory $0.4 \pm 0.2\%$ malformed kinocilia were encountered in the tracheal epithelium of healthy rabbits (Konrádová and Šrajter, 1987). This finding did not significantly differ from that in an unaltered human mucous membrane.

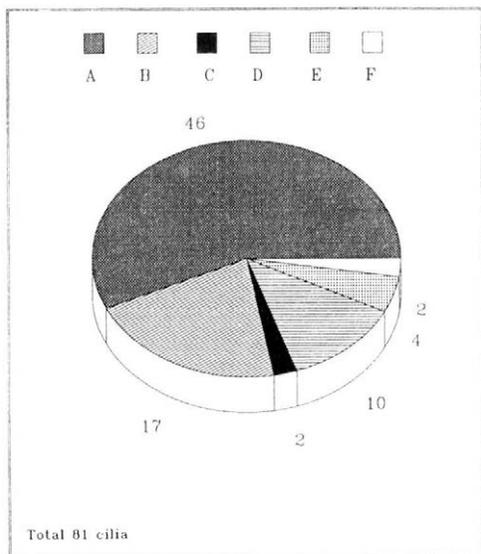
In the present case 6.87% malformed cilia were counted in the ciliary border above the airway epithelium of our rabbit. We decided to compare this high occurrence of malformed cilia with that found in other rabbits in which the ciliary border was evaluated quantitatively. This procedure was performed in 45 rabbits. With the exception of a control group the animals were subjected to an experimental procedure (Tab. I). Processing of the collected material and also the quantitative evaluation were always the same.

According to our classification the injury to the airways epithelium was evaluated as mild, moderate or severe (Konrádová, 1991). The occurrence of the malformed kinocilia in correlation with the degree of damage to the tracheal epithelium is given in the Tab. I. We demonstrated that the relative number of the malformed cilia increases with the degree of the damage to the epithelium. In the studied rabbit the degree of the damage to the tracheal epithelium was evaluated as mild. Neither in the control rabbits nor in those showing a mild degree of damage to the tracheal epithelium more than 1% malformed kinocilia was discovered (0.19% to 0.97%). The average number of malformed cilia was 0.68% in this group. Even in rabbits with a moderate injury of this epithelium the occurrence of malformed kinocilia exceeded the 2% level only twice and the average frequency was 1.45%. Only in rabbits with a severely damaged airway epithelium more than 2% malformed kinocilia were always recorded and the average percentage of ciliary malformation was 3.17%.



2. Malformed cilia in the ciliary border

- a) 3 „cilia“ containing 2 doublets and 1 element with 1 single microtubule – 70,000x
 b) 9+0 cilia – 50,000x
 c) 9+1 (1) and 5+0 (2) cilia – 50,000x
 d) 7+2 cilia (1) – 75,000x
 e) 7+3 (1) and 8+2 (2) cilia and a pathological cilium with a swelling of the ciliary membrane (3) – 50,000x
 f) dislocations in 9+2 axoneme where instead of 1 peripheral doublet only a single microtubule is situated (1), 7+1 (2) and 9+4 (3) cilia and 9+2 cilium with a defect of isolated peripheral microtubules (4) – 50,000x
 g) elements with 2 or 3 doublets (1), 5+0 (2) and 5+2 (3) cilia. 9+2 cilium with a defect of isolated peripheral microtubules (4), 9+2 cilium with several supernumerary peripheral microtubules (5) and axonemes of degenerating cilia (6) – 50,000x
 h) dislocations in 9+5 axoneme (1), dislocations in 10+2 axoneme (2) and a pathological cilium with a tiny vacuole situated in its shaft (3) – 50,000x
 i) 9+3 (1) and 9+4 (2) cilia – 50,000x
 j) 9+3 cilium (1) and 9+4 cilium with a single supernumerary peripheral microtubule (2) – 50,000x

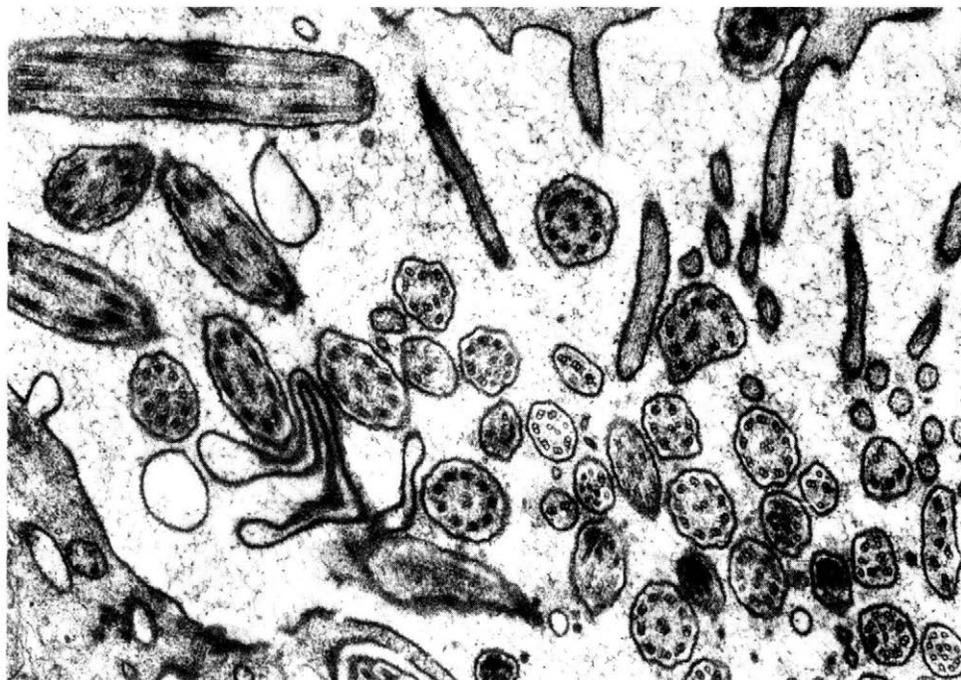


3. Cilia with supernumerary microtubules (absolute values)

- A - 1 supernumerary central microtubule (9+3)
- B - 2 supernumerary central microtubules (9+4)
- C - 3 supernumerary central microtubules (9+5)
- D - 1 to 9 supernumerary peripheral microtubules or whole doublets
- E - 12 to 17 irregularly arranged doublets
- F - 2 supernumerary central microtubules and 1 supernumerary peripheral microtubule

We decided to evaluate statistically the exceptional-ity of the occurrence of 6.87% malformed kinocilia in the studied rabbit. We used the Grubbs test. The presumed Poisson distribution of relative values f was transformed into the normal distribution by the transformation $\arcsin \sqrt{f}$. Using all 45 rabbits the probability of the occurrence of a rabbit with 6.87% malformed cilia in the rabbits' population was calculated 2.26×10^{-3} . This conclusion is significant at the level $p = 0.01$. Then only the control rabbits and the rabbits with the mild damage to the tracheal epithelium ($N = 18$) were tested. The probability of the occurrence of a rabbit with 6.87% malformed cilia in the population was 1.61×10^{-4} ($p = 0.0003$). We thus verified our conclusion that the appearance of 6.87% ciliary malformations is extremely exceptional in the rabbit tracheal epithelium.

We suppose that the abnormal high percentage of malformed cilia in our rabbit represents a mild form of the ICS. Also the finding of malformed kinocilia in the intracytoplasmic ciliary vacuoles gives an evidence of the pathological ciliogenesis. In the individuals with the fully developed ICS usually a higher relative number of malformed cilia was ascertained. The impairment of all cilia was not always encountered (Edwards et al., 1989; Rossman et al., 1984; Van der Baan, 1987). The severity of the clinical symptoms differs according to the degree of injury to the population of kinocilia and flagella. Some authors thus proposed the term dyskinetic cilia syndrome or primary ciliary dyskinesia showing thus that some cilia can



4. Intracytoplasmic ciliary vacuole filled with a fibrogranular matrix. Numerous malformed axonemes are contained in the cilia protruding in this vacuole - 50,000x

keep the capability of moving (Rossman et al., 1981; Nielsen et al., 1983). The absence of the clinical symptoms of the ICS in our rabbit confirms our hypothesis that the loss of less than 10% of moving cilia need not lead to the expression of the clinical signs of the impaired function of the cilia and flagella in the organism.

REFERENCES

- AFZELIUS, B. A.: A human syndrome caused by immotile cilia. *Science*, 193, 1976: 317-319.
- BRYAN, J. H. D.: Abnormal cilia in a male-sterile mutant mouse. *Virchows Arch. [Pathol. Anat.]* 400, 1983: 77-86.
- DALEN, H.: An ultrastructural study of primary cilia, abnormal cilia and ciliary knobs from the ciliated cells of the guinea-pig trachea. *Cell Tissue Res.*, 220, 1981: 685-697.
- EDWARDS, D. F. - KENNEDY, J. R., - PATTON, C. S. - TOAL, R. L. - DANIEL, G. B. - LOTHROP, C. D.: Familial immotile-cilia syndrome in English springer spaniel dogs. *Am. J. Med. Genet.*, 33, 1989: 290-298.
- FOX, B. - BULL, T. B. - OLIVER, T. N.: The distribution and assessment of electron-microscopic abnormalities of human cilia. *Eur. J. Resp. Dis.*, 64, Suppl. 127, 1983: 11-18.
- HANDO, T. - OKADA, D. M. - ZAMBONI, L.: Atypical cilia in human endometrium. *J. Cell Biol.*, 39, 1968: 475-481.
- KONRÁDOVÁ, V.: Atypical kinocilia in the tracheal epithelium. *Folia Morphol.*, 21, 1973: 71-78.
- KONRÁDOVÁ, V.: Quantitative evaluation of the degree of damage to tracheal epithelium. *Funct. Dev. Morphol.*, 1, 1991: 47-50.
- KONRÁDOVÁ, V. - ŠRAJER, J.: Quantitative evaluation of the ciliary border of the epithelium of the rabbit trachea and the human primary bronchus. *Folia Morphol.*, 35, 1987: 67-74.
- KONRÁDOVÁ, V. - HLOUŠKOVÁ, Z. - TOMÁNEK, A.: Atypical kinocilia in human epithelium from large bronchus. *Folia Morphol.*, 22, 1975: 293-295.
- KONRÁDOVÁ, V. - TŮMA, S. - UHLÍK, J. - ZAJÍCOVÁ, A.: Ultrastructure of the rabbit tracheal epithelium after application of iopamidol. *Funct. Dev. Morphol.*, 4, 1994: 183-185.
- NIELSEN, M. H. - PEDERSEN, M. - CHRISTENSEN, B. - MYGIND, N.: Blind quantitative electron microscopy of cilia from patients with primary ciliary dyskinesia and from normal patients. *Eur. J. Res. Dis.*, 64, Suppl. 127, 1983: 19-30.
- RANGA, V. - KLEINERMAN, J.: A quantitative study of ciliary injury in the small airways of mice. *Exp. Lung Res.*, 2, 1981: 49-55.
- ROPERTO, F. - GALATI, P. - ROSSACCO, P.: Immotile cilia syndrome in pigs. A model for human disease. *Am. J. Pathol.*, 143, 1993: 643-647.
- ROSSMAN, C. M. - FORREST, J. B. - LEE, R. M. K. W. - NEWHOUSE, A. F. - NEWHOUSE, M. T.: The dyskinetic cilia syndrome. Abnormal ciliary motility in association with abnormal ciliary ultrastructure. *Chest*, 80, Suppl., 1981: 861-864.
- ROSSMAN, C. M. - LEE, R. M. K. W. - FORREST, J. B. - NEWHOUSE, M. T.: Nasal ciliary ultrastructure and function in patients with primary ciliary dyskinesia compared with that in normal subjects and in subjects with various respiratory diseases. *Am. Rev. Resp. Dis.*, 129, 1984: 161-167.
- SATO, T. - TAKUSAGAWA, K. - ASOO, N. - KONNO, K.: Abnormal cilia in the small airways of mice induced by Bleomycin. *Exp. Molec. Pathol.*, 43, 1985: 13-21.
- VAN DER BAAN, S. - BEZEMER, P. D. - VEERMAN, A. J. P. - FEENSTRA, L.: Primary ciliary dyskinesia: quantitative investigation of the ciliary ultrastructure with statistical analysis. *Ann. Otol. Rhinol. Laryngol.*, 96, 1987: 264-272.
- WILSMAN, N. J. - FARNUM, C. E. - REED, D. K.: Variability of ciliary ultrastructure in normal dogs. *Am. J. Anat.*, 164, 1982: 343-352.
- WILSMAN, N. J. - MORRISON, W. B. - FARNUM, C. E. - FOX, L. E.: Microtubular protofilaments and subunits of the outer dynein arm in cilia from dogs with primary ciliary dyskinesia. *Am. Rev. Respir. Dis.*, 135, 1987: 137-143.
- WISSEMAN, C. L. - SIMEL, D. L. - SPOCK, A. - SHELBURNE, J. D.: The prevalence of abnormal cilia in normal pediatric lungs. *Arch. Pathol. Lab. Med.*, 105, 1981: 552-555.

Arrived 22nd February 1995

Contact Address:

MUDr. Jiří Uhlík, Ústav histologie a embryologie 2. LF UK, V úvalu 84, 150 18 Praha 5-Motol, Česká republika, Tel. 02/24 43 59 81-2, fax 02/24 43 58 20

SEASONAL OCCURRENCE AND ITS EFFECT ON THYROID HORMONE CONCENTRATIONS IN BLOOD SERUM OF GERMAN SHEPHERDS, DACHSHUNDS AND THEIR HEALTH STATUS

SEZÓNNOŠŤ A JEJ VPLYV NA HLADINY TYROIDNÝCH HORMONÓV V KRVNOM SÉRE NEMECKÝCH OVČIAKOV, JAZVEČÍKOV A ICH ZDRAVOTNÝ STAV

M. Tučková, M. Fialkovičová, D. Baranová, E. Bekeová, M. Kozák, E. Páleník

University of Veterinary Medicine, Košice, Slovak Republic

ABSTRACT: A relatively frequent prevalence of dermatoses in summer has drawn our attention. Dermatoses of endocrine origin occur very often. We have noticed the deterioration of skin changes in animals with hypothyroidism. Bubeník et al. (1983), Webster et al. (1991), Reiter et al. (1988) reported that changes in concentrations of thyroid hormones were found in fallow-deer, sheep and hamsters due to the effect of temperature and season. Based upon this knowledge we have decided to observe the health status and function of the thyroid gland in two randomly selected groups of various size dogs – German shepherd and dachshund during four seasons. We observed following parameters: concentration of triiodothyronine (T_3), thyroxine (T_4), cholesterol (Chol) and total lipids (TL) in the blood serum, average temperatures in individual seasons. Blood was always withdrawn fasting in the morning from vena antebrachii. Concentrations of T_3 and T_4 were determined by the commercial kits RIA-test- T_4 and RIA-test- T_3 (Huma-Lab, Košice, Slovak Republic). The levels of cholesterol and total lipids were determined by the BIO-LA-tests (Lachema, Brno, Czech Republic). March, April, May were included into spring season; June, July, August into summer; September, October, November into autumn; and December, January, February into winter. The Slovak Hydrometeorologic Institute in Košice provided the values of average temperatures in observed seasons. The average temperatures in individual seasons were the following: spring +9.8 °C, summer +18.4 °C, autumn +8.5 °C, winter -1.2 °C. During the observed period concentrations of cholesterol and total lipids ranged within the reference values in both breeds. The different values were measured in German shepherds; the TL concentration in autumn (4.58 ± 1.13 mmol/l) was outside the reference range. Similarly, in the group of dachshunds the TL concentration in summer (7.64 ± 2.85 mmol/l) was higher than the reference value. Concentrations of hormones T_3 and T_4 varied during seasons in both breeds. The lowest values of T_3 and T_4 were measured in summer. In German shepherds and dachshunds the T_3 concentrations were 0.40 ± 0.11 and 1.48 ± 0.37 nmol/l, respectively. The T_4 concentrations in German shepherds and dachshunds in this season were 18.06 ± 7.04 and 29.70 ± 15.34 nmol/l, respectively. The highest concentrations of T_3 in German shepherds and dachshunds were found in winter (1.63 ± 1.93 and 2.22 ± 0.34 nmol/l, respectively). The highest T_4 concentration in both breeds of dogs was found in autumn (German shepherds 21.90 ± 13.67 and dachshunds 44.64 ± 8.62 nmol/l). In the group of 8 dachshunds, marked skin changes – dry, rugose, coarse, inelastic skin with conspicuous hair loss and pruritus – occurred in two of them. In these animals an increased concentration of serum TL (9.53 and 8.22 mmol/l) and low values of serum T_3 (0.93 nmol/l) and T_4 (3.45 nmol/l) also occurred. In the group of 59 German shepherds dermatosis was in 11 cases. The skin changes were similar to those in dachshunds. In no case the T_3 concentration was lower than 0.3 nmol/l. The T_4 concentrations in sick dogs were within the range of 0.3 to 38.2 nmol/l. In sick animals of both breeds a pronounced deterioration of skin changes in summer was observed. Our results confirm the need of observing the levels of given hormones during the whole year in sick animals. As well, it is necessary to increase individually the dose of hormonal preparations administered to these animals in summer.

German shepherd; dachshund; thyroxine; triiodothyronine; cholesterol; total lipids; hypothyroidism; seasonal occurrence

ABSTRAKT: Cieľom práce bolo sledovanie funkcie štítnej žľazy u náhodne vybraných psov dvoch plemien rozličnej veľkosti – nemecký ovčiak (NO) a jazvečík (J) počas štyroch ročných období. Sledovanými parametrami boli koncentrácie trijódtyronínu (T_3), tyroxínu (T_4), cholesterolu (Chol), celkových lipidov (TL) v krvnom sére a priemerné teploty v jednotlivých ročných obdobiach. Krv bola odoberaná vždy nalačno, z vena antebrachii. Koncentrácie T_3 a T_4 boli stanovené RIA súpravami, RIA-test- T_3 a RIA-test- T_4 (Huma-lab, Košice). Koncentrácie Chol a TL boli stanovené Bio-La-testami (Lachema, Brno). Koncentrácie hormónov T_3 a T_4 sa u oboch plemien v priebehu ročných období menili. Najnižšie hodnoty T_3 a T_4 boli

namerané v letnom období pri najvyššej priemernej teplote (+18,4 °C). U NO bola koncentrácia T_3 0,40 ± 0,11 nmol/l a u J 1,48 ± 0,37 nmol/l. Koncentrácia T_4 v tomto období bola u NO 18,06 ± 7,04 nmol/l a u J 29,70 ± 15,34 nmol/l. Medzi sledovanými zvieratami boli aj jedince z hypotyreózu. U týchto došlo v danom období k zhoršeniu kožných zmien. Najvyššie hodnoty T_3 boli zistené v obidvoch skupinách v zimnom období (-1,2 °C): NO 1,63 ± 1,93 nmol/l, J 2,22 ± 0,34 nmol/l. Koncentrácia T_4 bola u oboch plemien najvyššia v jeseni (+8,5 °C) s hodnotou 21,90 ± 3,67 nmol/l u NO a u J 44,64 ± 8,62 nmol/l. Koncentrácie Chol a TL nevykazovali výrazné rozdiely v jednotlivých ročných obdobiach a pohybovali sa prevažne v referenčných rozmedziach. Z výsledkov vyplýva, že v letnom období, pri najvyšších priemerných teplotách výrazne klesajú koncentrácie T_3 a T_4 , čo sa hlavne u psov s hypotyreózou prejavuje vo výraznom zhoršení kožných zmien.

nemecký ovčiak; jazvečík; tyroxín; trijódtyronín; cholesterol; celkové lipidy; hypotyreóza; sezónnosť

ÚVOD

S kožnými ochoreniami psov sa v klinickej praxi stretávame čoraz častejšie. Veľmi častou formou dermatózy je endokrinná dermatóza hypotyreózneho pôvodu (Scott, 1982). Pri sledovaní zdravotného stavu psov z lokality Košice sme sa zamerali na funkciu štítnej žľazy týchto zvierat. Plemená nemecký ovčiak a jazvečík boli v našom skúmanom súbore zvierat najpočetnejšie zastúpené a tak najviac vyhovovali nášmu zámeru porovnať dve plemená rozdielnej veľkosti. Výber psov bol náhodný a v obidvoch skupinách boli aj zvieratá s hypotyreózou. U týchto sme si všimli zhoršenie kožných zmien v letnom období. Pretože aj Bahnak a i. (1981), Bubenik a i. (1983), Webster a i. (1991), Reiter a i. (1988) vo svojich prácach uvádzajú, že zistili zmeny v koncentráciách tyroidných hormónov u danielov, oviec a škrečkov vplyvom teploty a sezóny, rozhodli sme sa sledovať tieto súvislosti u psov. V práci uvádzame výsledky, ktoré sme v danom období dosiahli.

MATERIÁL A METÓDY

Od januára do decembra 1993 sme sledovali 59 psov plemena nemecký ovčiak a osem jazvečíkov. Vyšetřili sme ich zdravotný stav a urobili tieto biochemické stanovovania v krvnom sére: cholesterol, celkové lipidy, tyroxín a trijódtyronín. Cholesterol a celkové lipidy boli stanovované Bio-La-testami z Lachemy Brno. Tyroxín a trijódtyronín sme stanovovali testami RIA-test- T_4 a RIA-test- T_3 z Huma-lab Košice. Súčasne sme sledovali aj prostredie v akom zvieratá žijú. Všetkých osem jazvečíkov bolo chovaných v bytoch. 42 nemeckých

ovčiakov bolo držaných vonku a 17 ich bolo držaných v bytoch. Rok sme rozdelili na obdobia: jar – marec, apríl, máj, leto – jún, júl, august, jeseň – september, október, november, zima – december, január, február. Krv sme odoberali vždy ráno, nalačno, z *vena antebra-chii*. Hodnoty priemerných teplôt v sledovanom období nám poskytli pracovníci Slovenského hydrometeorologického ústavu v Košiciach. V jednotlivých ročných obdobiach boli nasledovné: jar +9,8 °C, leto +18,4 °C, jeseň +8,5 °C, zima -1,2 °C.

VÝSLEDKY

Hladiny cholesterolu kolísali u oboch skupín v rozmedzí referenčných hodnôt od 3,26 ± 0,096 do 5,83 ± 2,05 mmol/l vo všetkých hodnotených obdobiach. U nemeckých ovčiakov kolísali koncentrácie celkových lipidov od 4,58 ± 1,13 do 6,20 ± 2,45 mmol/l, čo boli, až na hodnotu 4,58 ± 1,13 mmol/l v jeseni, hodnoty odpovedajúce referenčným. U jazvečíkov sa hladina celkových lipidov pohybovala v rozmedzí 6,22 ± 0,23 až 7,64 ± 2,85 mmol/l, čo sú okrem hodnoty 7,64 ± 2,85 mmol/l v lete hodnoty referenčné. Hladiny trijódtyronínu mali v oboch skupinách podobný sezónny priebeh. U nemeckých ovčiakov stúpali od najnižšej hodnoty 0,40 ± 0,11 nmol/l v lete, 1,23 ± 0,48 nmol/l v jeseni, 1,37 ± 0,58 nmol/l v jari, po najvyššiu 1,63 ± 1,93 nmol/l v zime. Priebeh hladín tyroxínu bol podobný. Jeho koncentrácia stúpala v poradí leto 18,06 ± 7,04 nmol/l, zima 19,58 ± 13,99 nmol/l, jar 21,56 ± 11,31 nmol/l a jeseň 21,90 ± 13,67 nmol/l. V skupine jazvečíkov bol priebeh koncentrácií trijódtyronínu nasledovný: 1,48 ± 0,37 nmol/l v lete, 1,82 ± 0,17 nmol/l v jari, 2,06 ± 0,38 nmol/l v jeseni a 2,22 ± 0,34 nmol/l

I. Koncentrácie cholesterolu (Chol), celkových lipidov (TL), trijódtyronínu (T_3) a tyroxínu (T_4) u nemeckých ovčiakov – Concentrations of cholesterol (Chol), total lipids (TL), triiodothyronine (T_3) and thyroxine (T_4) in German shepherds

Obdobie ¹	Priemerná teplota ² (°C)	Chol (mmol/l)	TL (mmol/l)	T_3 (nmol/l)	T_4 (nmol/l)	
Jar ³	$\bar{x} \pm SD$	+9,8	4,43 ± 1,77	6,20 ± 2,45	1,37 ± 0,58	21,56 ± 11,31
Leto ⁴	$\bar{x} \pm SD$	+18,4	5,83 ± 2,05	5,52 ± 2,16	0,40 ± 0,11	18,06 ± 7,04
Jeseň ⁵	$\bar{x} \pm SD$	+8,5	4,55 ± 3,25	4,58 ± 1,13	1,23 ± 0,48	21,90 ± 13,67
Zima ⁶	$\bar{x} \pm SD$	-1,2	3,26 ± 0,96	4,71 ± 1,45	1,63 ± 0,93	19,58 ± 13,99

¹season, ²average temperature, ³spring, ⁴summer, ⁵autumn, ⁶winter

Obdobie ¹	$\bar{x} \pm SD$	Priemerná teplota ² (°C)	Chol (nmol/l)	TL (nmol/l)	T ₃ (nmol/l)	T ₄ (nmol/l)
Jar ³	$\bar{x} \pm SD$	+9,8	5,38 ± 1,57	6,44 ± 3,78	1,82 ± 0,17	39,94 ± 9,97
Leto ⁴	$\bar{x} \pm SD$	+18,4	4,70 ± 0,96	7,64 ± 2,85	1,48 ± 0,37	29,70 ± 15,34
Jeseň ⁵	$\bar{x} \pm SD$	+8,5	5,60 ± 1,22	6,50 ± 1,38	2,06 ± 0,38	44,64 ± 8,62
Zima ⁶	$\bar{x} \pm SD$	-1,2	3,82 ± 0,53	6,22 ± 0,23	2,22 ± 0,34	38,84 ± 5,72

For 1–6 see Tab. I

v zime. Hladiny tyroxínu stúpali v poradí: 29,70 ± 15,34 nmol/l v lete, 38,84 ± 5,72 nmol/l v jeseň, 39,94 ± 9,97 nmol/l v jari, 44,64 ± 8,62 nmol/l v jeseň. Výsledky sú uvedené v tab. I a II a na obr. 1 a 2.

Čo sa týka zdravotného stavu skúmaných jazvečkov, z celkového počtu osem u dvoch (sučka a pes) sa vyskytovali výrazné kožné zmeny. Kožu mali suchú, drsnú, hrubú, nepružnú s nápadným vypadávaním srsti. Obe zvieratá boli mierne obézne a letargické. Taktiež mali zvýšenú koncentráciu celkových lipidov v sére (9,53 a 8,22 mmol/l). Po posúdení celkového stavu, zväžení výsledkov vyšetrení a odozvy na liečbu tyroidnými hormónmi sme v oboch prípadoch stanovili diagnózu hypotyreóza. U sučky sme stanovili hodnoty T₃ na 0,93 nmol/l a T₄ na 3,45 nmol/l. Obe zvieratá boli liečené Thyreoidínom Spofa v dávke 2–3 tbl denne (1 tbl obsahuje 100 mg čerstvej štítnej žľazy v HD = 0,06 špecificky viazaného jódu).

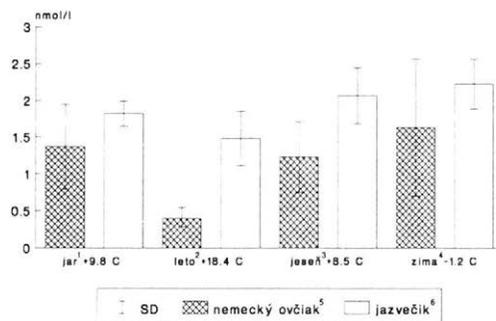
V skupine nemeckých ovčiakov v počte 59 sa vyskytlo ochorenie kože v 11 prípadoch. Medzi spoločný znak týchto ochorení možno zaradiť kožné zmeny charakterizované suchou, silne vypadávajúcou srstou, alopecia, hyperpigmentácia, akatóza, seborea, znížená elasticita kože s následným zvrásnením. V mnohých prípadoch došlo ku vzniku sekundárnej infekcie, následkom čoho bol v 10 prípadoch pozorovaný pruritus. Aj napriek nezmenenému príjmu potravy sa prejavovala obezita. Koncentrácia T₃ nebola ani v jednom prípade chorých psov nižšia ako 0,3 nmol/l. Koncentrácie T₄

boli u chorých zvierat od 0,3 nmol/l do 38,2 nmol/l. Koncentrácia celkových lipidov bola v dvoch prípadoch zvýšená (8,35 a 8,10 mmol/l), zatiaľčo koncentrácia cholesterolu bola zvýšená len v jednom prípade (7,34 mmol/l). U sučiek s hypotyreózou sa u oboch plemien vyskytovala sterilita. Choré zvieratá boli liečené Thyreotomom tbl (Liothyroninum 0,01 mg, Levothyroxinum 0,04 mg v 1 tbl). Počiatočná dávka bola 1/2 tbl denne. Táto dávka sa individuálne upravovala podľa výsledkov zistených hladín hormónov až na 2–3 tbl denne. Výber liečebných prípravkov bol podmienený momentálnou dostupnosťou. Napriek neštandardnosti Thyreoidínu sme dosiahli v liečbe uspokojivé výsledky.

U chorých zvierat oboch plemien bolo pozorované výrazné zhoršenie zdravotného stavu v letnom období. Prejavovalo sa najmä vo zvýraznení kožných zmien.

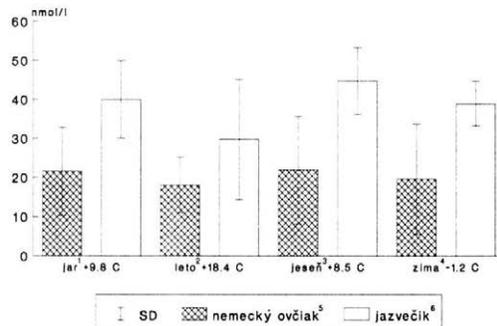
DISKUSIA

V práci sme sa zamerali na sledovanie hladín tyroxínu, trijódtyronínu, cholesterolu a celkových lipidov u psov plemena nemecký ovčiak a jazvečiek počas štyroch ročných období. Zároveň sme sledovali aj ich zdravotný stav. Z výsledkov vidieť, že koncentrácie tyroxínu a trijódtyronínu u nemeckých ovčiakov sú takmer o polovicu nižšie ako u jazvečkov. Ako referenčné hodnoty celkového T₄ pre psa 13–52 nmol/l a T₃ 0,3–2,0 nmol/l uvádza S v o b o d a (1994). Naše výsledky potvrdzujú tvrdenie autorov H a m m e r l i n g o v á



1. Koncentrácie T₃ u nemeckých ovčiakov a jazvečkov – T₃ concentrations in German shepherds and dachshunds

¹spring, ²summer, ³autumn, ⁴winter, ⁵German shepherd, ⁶dachshund



2. Koncentrácie T₄ u nemeckých ovčiakov a jazvečkov – T₄ concentrations in German shepherds and dachshunds

For 1–6 see Fig. 1

(1987) a Reimers a i. (1990), že koncentrácie T_4 a T_3 sú silne ovplyvnené vekom a plemenom psa. Zároveň sa potvrdil predpoklad, že podobne ako u iných zvierat zistili Bubenik a i. (1983), Webster a i. (1991), Reiter a i. (1988) aj u psov badať zníženie hladín tyroidných hormónov v sére počas letnej sezóny. Výrazné zníženie hladín T_3 a T_4 sa vyskytlo u oboch plemien, bez ohľadu na to, či boli chovaný vonku alebo v byte. Efekt zníženia hodnoty T_3 a T_4 v letnom období bol veľmi výrazný u zvierat s diagnózou hypotyreóza. Súčasne sa týmto zvieratám výrazne zhoršili kožné zmeny. U niektorých zvierat sa dokonca vyskytlo zníženie hladiny T_4 v letnom období na 0 nmol/l. U zvierat s takouto hladinou sme palpačne zistili zväčšenie štítnej žľazy. Väčšina chorých psov bola tiež letargická a obézna, čo popisujú aj Campbell a Small (1991), Nelson a Ihle (1987) a Scott (1982).

Záverom možno uviesť, že sledovaním skupín 59 nemeckých ovčiakov a ôsmich jazvečiekov sme zistili u 11 nemeckých ovčiakov a dvoch jazvečiekov výskyt ochorenia kože. Po posúdení celkového stavu a zväžení všetkých výsledkov vyšetrení a odozvy na liečbu tyroidnými hormónmi u týchto zvierat sme stanovili diagnózu hypotyreóza. Sledovaním hladín hormónov T_3 a T_4 u oboch plemien sme zistili, že koncentrácie týchto hormónov sa v priebehu ročných období menia. Najnižšie hodnoty hormónov T_3 a T_4 boli v letnom období pri najvyššej priemernej teplote. U chorých zvierat v tomto období došlo k výraznému zhoršeniu kožných zmien. Z týchto výsledkov a našich skúseností s liečbou vyplýva, že u zvierat s hypotyreózou je potrebné individuálne zvýšiť dávku hormonálnych prípravkov v letnom období, čo predpokladá sledovať hladiny uvedených hormónov počas celého roka.

LITERATÚRA

BAHNAK, B. R. – HOLLAND, J. C. – VERME, L. J. – OZOGA, J. J.: Seasonal and nutritional influences on growth

hormone and thyroid activity in white tailed deer. *J. Wildl. Mgmt.*, 45, 1981: 140–146.

BUBENIK, G. A. – BUBENIK, A. B. – SCHANS, B. – LEATHERLAND, J. F.: Circadian and circannual rhythms of LH, FSH, Testosterone (T), prolactin, cortisol, T_3 and T_4 in plasma of mature, male white-tailed deer. *Comp. Biochem. Physiol.*, 76A, 1983: 37–45.

CAMPBELL, K. L. – SMALL, E.: Identifying and managing the cutaneous manifestation of various endocrine diseases. *Vet. Med. (Praha)*, 36, 1991: 118–135.

DRAZNER, F. H. et al.: *Small Animal Endocrinology*. 1st ed. New York, Churchill Livingstone Inc. 1987. 508 s.

HAMMERLING, R.: Labordiagnostische Erfassung von Schilddrüsenerkrankungen in der Kleintierpraxis. *Prakt. Tierarzt*, 7, 1987: 25–33.

JEFFERS, J. G.: Recognizing and managing the effects of canine hypothyroidism. *Vet. Med.*, Dec., 1990: 1294–1308.

NELSON, R. W. – IHLE, S. L.: Treating hypothyroidism through hormone supplementation. *Vet. Med.*, 1987: 153–156.

REIMERS, T. J. – LAWLER, D. F. – SUTARIA, P. M. – CORREA, A. M. T. – ERB, H. N. 1990: Effects of age, sex and body size on serum concentration of thyroid and adrenocortical hormones in dogs. *Amer. J. Vet. Res.*, 51, 1990: 454–457.

REITER, R. J. – KANG, LI. – GONZALES BRITO, A. – TANNENBAUM, M. G. – VANGHAM, M. K. – VANGHAM, G. M. – WILLANUA, M. A.: Elevated environmental temperature alters the responses of the reproductive and thyroid axes female Syrian hamsters to afternoon melatonin injections. *J. Pin. Res.*, 5, 1988: 301–315.

SCOT, D. W.: Histopatologic findings in endocrine skin disorders of the dog. *JAAHA*, 18, 1982: 173–183.

SVOBODA, M. a kol.: *Dermatologie psa a kočky*. I. vyd. Brno, ČAVLMZ 1994: 203–210.

WEBSTER, J. R. – MOENTER, S. M. – WOODFILL, C. J. I. – KARSCH, F. J.: Role of the thyroid gland in seasonal reproduction. II. Thyroxine allows a season – specific suppression of gonadotropin secretion in sheep. *Endocrinology*, 129, 1991: 176–183.

Došlo 1. 8. 1994

Kontaktná adresa:

MVDr. Mária Fialkovičová, Univerzita veterinárskeho lekárstva, Komenského 73, 041 81 Košice, Slovenská republika
Tel. 095/633 21 11, fax 095/76 76 75

NATURAL UTERINE *MYCOPLASMA PULMONIS* INFECTION IN FEMALE RATS

PŘIROZENÁ INFEKCE DĚLOHY *MYCOPLASMA PULMONIS* U SAMIC LABORATORNÍHO POTKANA

K. Busch¹, T. Naglić²

¹PLIVA – Research Institute, Zagreb, Croatia

²Veterinary Faculty University of Zagreb, Zagreb, Croatia

ABSTRACT: Uterine washings from 124 apparently healthy and non-pregnant female Wistar rats of different ages were cultured for mycoplasmas and bacteria. The animals originated from four conventional breeding colonies which were known to be chronically infected with *M. pulmonis* from the previous microbiological examination. Mycoplasmas were isolated from the uterus in 30.6% of examined females. All the isolates were biochemically and serologically identified as *M. pulmonis*. Uterine colonization with this organism was first evidenced in non-mated female rats at the age of three months. After mating the number of infected females rapidly increased. This observation points out the microbiologically uncontrolled mating as an important factor in the distribution of genital infection within the colony. Bacterial examination of uterine washings revealed only ubiquitous organisms in some animals. Gross lesions in the form of purulent salpingitis and mild endometritis were observed only in two animals.

Mycoplasma pulmonis; uterine infection; rat; Wistar

ABSTRAKT: Bylo kultivováno 124 vzorků děložních výplášků ve snaze prokázat v nich mykoplazmata a bakterie. Vzorky byly odebrány od klinicky zdravých samic laboratorního potkana linie Wistar nestejného věku a nacházejících se mimo stadium březosti. Zvířata pocházela ze čtyř chovných kolonií konvenčního typu, kde již při předchozím mikrobiologickém vyšetření byla zjištěna chronická mykoplazmová infekce. U 30,6 % vyšetřovaných samic byla z dělohy izolována mykoplazmata. Všechny izoláty byly biochemicky a sérologicky identifikovány jako *Mycoplasma pulmonis*. Osídlení dělohy tímto mikroorganismem bylo poprvé prokázáno u dosud nepřipuštěných samic ve věku tří měsíců. Po připuštění se počet infikovaných samic prudce zvýšil. Toto zjištění naznačuje, že připuštění zvířat bez předchozího kontrolního mikrobiologického vyšetření může být významným faktorem v šíření infekcí pohlavního ústrojí v koloniích zvířat. Bakteriálním vyšetřením děložních výplášků byly u některých jedinců detekovány pouze ubiquitousní mikroorganismy. Makroskopické léze ve formě purulentní salpingitidy a lehké endometritidy byly pozorovány pouze u dvou zvířat.

Mycoplasma pulmonis; děložní infekce; laboratorní potkan linie Wistar

INTRODUCTION

For a long time (Nelson, 1937) it has been well known that chronic murine respiratory mycoplasmosis (CMRM) caused by *M. pulmonis* was the most common and important health problem in conventional colonies of the laboratory murids all over the world (Schütze and Laber, 1985). Evidences have been accumulated during the last few decades showing that *M. pulmonis* may also be associated with infertility and genital disorders in rats and mice (Nelson, 1954; Graham, 1963; Leader et al., 1970; Casillo and Blackmore, 1972; Cassel et al., 1976, 1981; Naot et al., 1978; Juhr et al., 1989a, b; Brown and Reyes, 1991; Koshimizu et al., 1993). But many questions concerning harboring mycoplasmas in the murine genital tract and their patho-

genicity still remain to be answered. Our previous microbiological surveys indicate that CMRM is a common disease in Croatian colonies of rodents (Naglić et al., 1987; Šimpraga, 1990). In continuation of this research we report on the occurrence of *M. pulmonis* in the uterus of apparently healthy female rats originating from these colonies.

MATERIAL AND METHODS

Examined were female Wistar rats originating from four separate conventional breeding colonies of laboratory murids housing 200 to 400 animals in each. The colonies were kept in air conditioned rooms at 18–24 °C, with a 12 hours light-dark cycle. The animals were housed in Tecniplast macrolone cages, type 4G, with wire

tops, holding food and glass bottles providing tap water by sipper tube, and wooden shavings as cage bedding. The rats were fed the commercial diet (Pliva-Zagreb) *ad libitum*. The females were mated at the age of 3 months. Breeding cages had harems of one to three females and one male. Mean litter size at weaning was 8 pups. There was no history on acute epizootics of respiratory disease with high mortality, but the colonies were known to be infected with *M. pulmonis* from the previous microbiological examination. During two years of investigation, uterine washings from a total of 124 apparently healthy and non-pregnant females were cultivated for mycoplasmas and other bacteria. The examined animals were predominantly aged 6 to 9 months and from different breeding cycles. From 29 out of these 124 examined females at the age of 9 months besides uterine washings also middle ear aspirated fluid and tracheolung washings were concurrently cultured. In one of the four colonies with a long record of CMRM uterine washings from ten females of the same breeding cycle were examined at 1, 3, 5 and 7 months of age.

For detecting mycoplasmal infections animals were euthanized with ether and necropsied. With a sterile plastic syringe a small quantity of nutrient broth (cca 0.4 ml) was injected in the lumen of the uterus and after a short-term massage aspirated. This material was immediately inoculated onto solid and fluid mycoplasma media in three dilutions (Hayflick, 1965), and on nutrient agar enriched with horse serum. After incubation for 3 and 7 days at 37 °C material from broth cultures was inoculated on solid mycoplasma media. The same procedure was used for culturing tracheolung washings and aspirated middle ear fluid. Biochemical characterization of isolated mycoplasma was performed as described by Erno and Stipkovits (1973) and Cassell and Hill (1979). The isolated strains were serologically identified by growth inhibition test (Clyde, 1964) using specific antisera to murine mycoplasma generously provided by Dr. Auriol Hill (Medical Research Council, Laboratory Animals Centre, Carshalton, Surrey, England). Bacterial isolates were identified according to Krieg and Holt (1984).

RESULTS

Using mentioned media and procedure mycoplasmas were cultivated from 38 (30.6%) out of 124 examined uterine washings. Genital infections were found in three out of four examined conventional breeding colonies. The rate of infected animals in the colonies varied from 10% to 38%. As mentioned previously, in one colony with long history of CMRM a total number of 40 female rats from the same breeding cycle but of different age, were investigated for genital infections. Uterine colonization with this organism was first detected in one (10%) out of ten examined three-month-old female. After that mycoplasmas were isolated from uterine washings in 5 (50%) out of ten examined six-month-old

females and in 7 (70%) out of ten females examined at the age of nine months. In the same colony from twenty-nine females aged 9 months aspirated middle ear fluid, and lung and uterine washings were cultured concurrently. All these animals were found mycoplasma infected. These organisms were detected in the genital tract and in the respiratory tract and/or middle ear of 14 (48.3%) females. In 13 females mycoplasmas were found only in the respiratory tract or middle ear and in two only in the uterus.

All isolated mycoplasmas grew in typical „fried egg colonies“ with granulated or vacuolated surface, not reversing to bacteria after propagation in media without inhibitors. Isolated strains fermented dextrose and reduced tetrazolium chloride aerobically. All were arginine negative and did not possess phosphatase activity. Formation of „film and spots“ was detected on the standard media and special egg yolk medium. All strains were sensitive to digitonine, reacted positively in growth inhibition test with antiserum against *M. pulmonis* and negatively with antiserum against *M. neurolyticum*. Growth inhibition zone measured from the rim of disc soaked with antiserum amounted 4 to 6 mm. There was no difference in the number of isolates obtained by direct inoculating solid media or previous culturing uterine washings in fluid mycoplasma media.

Bacterial examination revealed one *Escherichia coli*, four α -hemolytic streptococcal strains and one *Staphylococcus epidermidis* isolate.

On the autopsies gross lesions in the form of purulent salpingitis and mild endometritis were observed only in two animals. The genital organs of other females appeared normal.

DISCUSSION

Our investigations clearly demonstrate that *M. pulmonis* is a common inhabitant of genital organs in adult female rats from conventional colonies. High correlation between respiratory and genital mycoplasmal infections (48.3%) indicates the relationship between respiratory and genital mycoplasmosis as two manifestations of basically the same disease. Monitoring of animals of the same breeding cycle but of different age, showed the genital infection occurred at the earliest in non-mated three-month-old females. It can be mentioned that Lindsey et al. (1985) have cultured the uteri of rats at 6, 12, 24, 36 and 72 weeks and have succeeded only in isolating *M. pulmonis* from 72 week-old-animals. After being mated at the age of 3 months, the colonization of uteri rapidly increased to the rate of 60% at the age of 6 months, and reached the highest rate of 70% at the age of 9 months. These observations point out that the microbiologically uncontrolled mating is an important factor in the distribution of genital infections within the colony.

Our clinical and pathomorphological findings confirm the opinion of other authors that the majority of

animals is harboring mycoplasma in genital organs without lesions. But their presence in these sites can not be neglected by scientists using infected animals, especially if sex hormone balance has been manipulated (Leader et al., 1970). Lesions thought to be caused by experimental procedures could be the consequence of activated latent mycoplasma infection.

REFERENCES

- BROWN, M. B. – REYES, L.: Immunoglobulin class- and subclass-specific responses to *Mycoplasma pulmonis* in sera and secretions of naturally infected Sprague-Dawley female rats. *Infect. Immun.* 59, 1991: 2181–2185.
- CASSELL, G. H. – HILL, A.: Murine and other small-animal mycoplasmas. In: TULLY, J. G. – WHITCOMB, R. F. (eds.): *The Mycoplasmas*. Vol. II. Human and animal mycoplasmas. New York, San Francisco, London, Academic Press 1979: 235–273.
- CASSEL, G. H. – CARTER, P. B. – SILVERS, S. H.: Genital disease in rats due to *Mycoplasma pulmonis* development of an experimental model. *Proc. Soc. Gen. Microbiol.*, 3, 1976: 150.
- CASSEL, G. H. – LINDSEY, J. R. – DAVIS, J. K.: Respiratory and genital mycoplasmosis of laboratory rodents: implications for biomedical research. *Isr. J. Med. Sci.*, 17, 1981: 548–554.
- CASILLO, S. – BLACKMORE, D. K.: Uterine infections caused by bacteria and mycoplasma in mice and rats. *J. Comp. Path.*, 82, 1972: 477–482.
- CLYDE, W. A.: Mycoplasma species identification based upon growth inhibition by specific antisera. *J. Immunol.*, 92, 1964: 958–965.
- ERNO, H. – STIPKOVITS, L.: Bovine mycoplasmas: Cultural and biochemical studies. II. *Acta Vet. Scand.*, 14, 1973: 450–463.
- GRAHAM, W. R.: Recovery of a pleuropneumonia-like organism (P.P.L.O.) from the genitalia of the female albino rat. *Lab. Anim. Care*, 13, 1963: 719–724.
- HAYFLICK, L.: Tissue cultures and mycoplasmas. *Tex. Rep. Biol. Med.*, 23, Suppl. 1, 1965: 285–303.
- JUHR, N. C.: Untersuchungen zur kronischen murinen Pneumonie. *Z. Versuchstierkde*, 13, 1971: 217–223.
- JUHR, N. C. – RATSCH, H. – STUCKENBERG, R.: *Mycoplasma pulmonis* Besiedlung des weibliche Genitaltraktes der Ratte in Abhängigkeit vom Sexualzyklus. *Z. Versuchstierkde*, 32, 1989a: 208.
- JUHR, N. C. – RATSCH, H. – STUCKENBERG, R. – SCHILLER, S.: Besiedlung der Geschlechtsorgane männlichen Ratten mit *Mycoplasma pulmonis*. *Z. Versuchstierkde*, 32, 1989b: 208.
- KRIEG, N. R. – HOLT, J. G. (eds.): *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*. Vol. 1, 2. Baltimore, London, Williams and Wilkins 1994.
- KOSHIMIZU, K. – SAITO, T. – SHINOZUKA, Y. – TSUCHIYA, K. – CERDA, R. O.: Isolation and identification of mycoplasma strains from various species of wild rodents. *J. Vet. Med. Sci.*, 55, 1993: 323–324.
- LEADER, R. W. – LEADER, I. – WITSCHI, E.: Genital mycoplasmosis in rats treated with testosterone propionate to produce constant estrus. *J.A.V.M.A.*, 157, 1970: 1923–1925.
- LINDSEY, J. R. – DAVIDSON, M. K. – SCHOEB, T. R. – CASSELL, G. H.: *Mycoplasma pulmonis*-host relationships in a breeding colony of Sprague-Dawley rats with enzootic murine respiratory mycoplasmosis. *Lab. Anim. Sci.*, 35, 1985: 597–608.
- NAGLIĆ, T. – ŠIMPRAGA, B. – BUKOVIĆ, B. – ŽILIĆ, M.: Murine mycoplasmosis. First findings of *Mycoplasma pulmonis* in laboratory mice and rats in Yugoslavia. *Vet. Arhiv*, 57, 1987: 243–247.
- NAOT, Y. – SHARF, M. – KLEIN, A.: Mycoplasma infection in pregnant rats: low viability of foetuses and newborn offspring. *J. Med. Microbiol.*, 11, 1978: 61–267.
- NELSON, J. B.: Infectious catarrh of mice. *J. Exp. Med.*, 65, 1937: 833–860.
- NELSON, J. B.: The selective localisation of murine pleuropneumonia-like organisms in the female genital tract on intraperitoneal infection in mice. *J. Exp. Med.*, 100, 1954: 311–321.
- SCHÜTZE, E. – LABER, G.: Mycoplasma-Infektionen bei Labortieren. In: GYLSTORFF, I. (ed.): *Infektionen durch Mycoplasmatales*. Jena, VEB Gustav Fischer Verlag 1985: 253–299.
- ŠIMPRAGA, B.: Mikoplazmoza murida: II. Proširenost infekcija vrstom *Mycoplasma pulmonis* u laboratorijskih miševa i štakora. *Prax. Vet.*, 41, 1993: 221–227.

Received on 15th March 1995

Author's Address:

Dr. Kristina Busch, V. M. PLIVA, Pharmaceutical Chemical, Food and Cosmetic Industry Research Institute, Animal Health and Agrochemicals, Laboratory for Biologicals, Svetonedjelska 2, 41431 Kalinovica, Croatia, Phone: 385-41-871-804, Fax: 385-41-576-690

Corresponding Author's Address:

Prof. Dr. sc. Tomo Naglić, Department of Microbiology and Infectious Diseases, Veterinary Faculty University of Zagreb, Heinzelova 55, 41000 Zagreb, Croatia, Phone: 385-01-290-111, Fax: 385-01-239 01 11

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

Current Contents

na disketách

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

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

Přístup k informacím Current Contents je umožněn dvojným způsobem:

- 1) Zakázkový přístup** – po vyplnění příslušného zakázkového listu (objednávky) je vhodný především pro mimopražské zájemce.
Finanční podmínky: – použití PC – 15 Kč za každou započatou půlhodinu
– odborná obsluha – 10 Kč za 10 minut práce
– vytištění rešerše – 1 Kč za 1 stranu A4
– žádanky o separát – 1 Kč za 1 kus
– poštovné + režijní poplatek 15 %
- 2) „Self-service“** – samoobslužná práce na osobním počítači v ÚZLK.
Finanční podmínky jsou obdobné. Vzhledem k tomu, že si uživatel zpracovává rešerši sám, je to maximálně úsporné. (Do kalkulace cen nezapočítáváme cenu programu a databáze Current Contents.)

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

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

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

RESISTANCE TO ANTHELMINTICS IN NEMATODES OF SHEEP AND GOATS

REZISTENCIA VOČI ANTIHELMINTIKÁM U NEMATÓDOV OVIEC A KÔZ*

J. Praslička, J. Čorba

Institute of Parasitology, Slovak Academy of Sciences, Košice, Slovak Republic

ABSTRACT: The article offers a brief view on the most important theoretical knowledge of resistance of gastrointestinal nematodes to anthelmintic drugs in sheep and goats. Besides the definition and basic terms, factors of development and occurrence of resistance on farm are analysed. Furthermore, methods for detection of resistant nematodes as well as complex of recommended preventive measures are given.

anthelmintic resistance; sheep; goats; *Trichostrongylidae*; anthelmintics; preventive measures

ABSTRAKT: Príspevok predstavuje stručný súhrn najdôležitejších teoretických poznatkov o rezistencii gastrointestinálnych nematódov voči antihelmintikám. Popri definícii a základných pojmoch práca rozoberá príčiny výskytu a faktory pôsobiace pri vzniku a vývoji rezistencie v chove, metódy detekcie rezistentných nematódov a ponúka tiež komplex preventívnych opatrení, na ktorých je boj proti rezistencii založený.

rezistencia voči antihelmintikám; ovce; kozy; *Trichostrongylidae*; antihelmintiká; preventívne opatrenia

ÚVOD

Rezistencia sa u pôvodcov niektorých infekčných ochorení môže vyvinúť, ak sú opakovane vystavovaní pôsobeniu liečiv. Najlepšie je to dokumentované u baktérií, ale tiež u niektorých parazitických protozoí, napr. kokcií a najnovšie aj u parazitických nematódov tráviacej sústavy niektorých hospodárskych zvierat.

Jednou z najaktuálnejších problematik, s ktorými sa v súčasnosti stretáva veterinárna parazitológia, je práve rezistencia gastroenterohelminťov voči antihelmintickým prípravkom.

Definícia a základné pojmy

Rezistenciu voči antihelmintikám definovali Taylor a Hunt (1989) ako dedičnú zmenu schopnosti jednotlivých parazitov prežiť terapiu doporučenou dávkou antihelmintika. Ide teda o jav, keď populácia nematódov, pôvodne na antihelmintikum citlivá, dedí po opakovanom podávaní liečiva schopnosť odolávať jeho pôsobeniu. Jav „rezistencia“ sa v praxi často zamieňa s „toleranciou“, keď nematódy taktiež nereagujú na pô-

sobenie liečiva, avšak tomuto liečivu nikdy predtým vystavené neboli.

V súvislosti s fenoménom rezistencie sa často používa termín „vedľajšia rezistencia“, ktorá vzniká medzi liečivami s podobným mechanizmom účinku. Je bežná najmä medzi antihelmintikami benzimidazolovej skupiny. Ak sú nematódy rezistentné napr. voči albandazolu, je veľmi pravdepodobné, že nebudú dostatočne účinné ani prípravky na báze fenbendazolu, oxfendazolu, mebendazolu alebo iných liečiv z tejto skupiny. Ďalším pojmom je „skrížená rezistencia“ alebo „polyrezistencia“, ktorá znamená rezistenciu k dvom alebo viacerým antihelmintikám z rôznych chemických skupín, teda s rozdielnym mechanizmom účinku. Napokon „reverzia“ je návratom vnímavosti k antiparazitiku u pôvodne rezistentného kmeňa nematódov. Na fenomén reverzie sú značne rozdielne názory v súvislosti s jej krátkodobým efektom.

Výskyt rezistencie voči antihelmintikám

Rezistencia voči antihelmintikám sa stala kozmopolitným veterinárnym a chovateľským problémom, ktorý sa týka najmä malých prežúvavcov infikovaných ne-

* Práca vznikla pri riešení vnútorného grantu SAV č. 163/1991–1993 a 2/1363/1994.

matódmi z čeľade *Trichostrongylidae*. Prehľad o výskyte rezistentných nematódov v SR u oviec podáva V á r a d y (1994) a u kôz P r a s l i č k a (1993). Táto problematika je najaktuálnejšia v Austrálii, na Novom Zélande, v JAR, Veľkej Británii, ale aj v iných európskych krajinách, ako sú Francúzsko, Holandsko, Grécko, či v niektorých štátoch Ázie, Afriky a oboch amerických kontinentov. Zatiaľ menší ekonomický význam má rezistencia voči antihelmintikám u ošípaných. Nález rezistentných nematódov (*Oesophagostomum* spp.) bol potvrdený u prasiat v Dánsku a Nemecku (B j o r n, 1993) a v súčasnosti pokračuje intenzívny výskum rezistencie voči antihelmintikám u ošípaných v Dánsku. Rezistencia voči antihelmintikám bola dokázaná tiež u malých strongylov koní (B a u e r, 1993) a u hovädzieho dobytku (G e r t s, 1993). Experimentálne bola tiež dokázaná rezistencia rybiech parazitov *Pseudodactylogyrus* spp. k mebendazolu (B u c h m a n n a i., 1992). Okrem nematódov bola antihelmintická rezistencia zistená aj u trematódov *Fasciola hepatica* a *Schistosoma* spp. (C o l e s a i., 1992).

Na Slovensku sme pri prieskume výskytu rezistencie voči benzimidazolovým antihelmintikám zistili rezistentné trichostrongylidy u 8 % domácich stád oviec (P r a s l i č k a a i., 1994a). Vyšetrenie na rezistenciu voči levamizolu sa vykonalo len v jednom stáde a nález bol pozitívny (P r a s l i č k a a i., 1995). Predpokladáme, že pri obsiahlejšom prieskume by sa v chovoch oviec potvrdilo značné rozšírenie levamizol-rezistentných kmeňov nematódov, lebo tento prípravok sa u nás používa vyše dvadsať rokov.

Rezistenciu voči trom druhom širokospektrálnych antihelmintík, t.j. albendazolu, levamizolu a ivermektínu sme zistili u kôz importovaných z Nového Zélandu, ktoré boli postupne rozmiestnené do rôznych oblastí Slovenska a dnes predstavujú asi 50 % kozích fariem (V á r a d y a i., 1993; P r a s l i č k a a i., 1994b).

Dá sa predpokladať, že rezistencia voči antihelmintikám je v skutočnosti ešte rozšírenejšia než naznačujú doterajšie poznatky. V každej krajine, kde sa doposiaľ prieskum výskytu rezistentných nematódov robil, sa rezistentné nematódy zistili. V mnohých krajinách, kde chov oviec a kôz má svoju tradíciu a používanie antihelmintík je bežné, je situácia nepreskúmaná.

Moderné širokospektrálne antihelmintiká, ktoré sa dnes vo svete aj u nás v terapii oviec a kôz používajú, sa na základe svojej chemickej príbuznosti a mechanizmu účinku delia do viacerých skupín. Sú to benzimidazoly (albendazol, fenbendazol, mebendazol a iné), imidotiazoly (levamizol a tetramizol) a avermektíny a milbemycíny (ivermektín, doramektín, moxidektín). Rezistencia bola zaznamenaná voči liečivám každej z týchto skupín antihelmintík a bola zistená aj u niektorých úzkospektrálnych antihelmintík (fenotiazín, rafoxanid, klosantel). Najrozšírenejšia je u nematódov z čeľade *Trichostrongylidae*, najmä rodov *Haemonchus*, *Ostertagia* a *Trichostrongylus*. Výskyt rezistentných nematódov v chovoch oviec a kôz sa rozširuje na ďalšie rody a druhy helmintov (B o r g s t e e d e, 1993).

Ekonomický aspekt

Nematódy parazitujúce v gastrointestinálnom trakte hospodárskych zvierat zapríčínujú zníženú úžitkovosť, chorobnosť a niekedy aj mortalitu napadnutých hostiteľov.

V súčasnosti sa pri tlmení gastroenterohelminióz používajú moderné širokospektrálne antihelmintiká. V prípade výskytu rezistentných helmintov sa však účinnosť týchto inak vysoko efektívnych liečiv stáva nedostatočnou. Ďalšie používanie neefektívneho antihelmintika a nemalé náklady vynaložené na takéto dehelmintizácie sú potom zbytočné. Naviac, kontakt s nedostatočne účinným liečivom umožní nematódom ďalšiu selekciu odolných jedincov a zvyšuje sa tak hladina rezistencie prítomnej populácie helmintov.

Najväčšie problémy spôsobuje najmä v krajinách, kde si klimatické a epizootologické podmienky vyžadujú častú aplikáciu antihelmintík. Napr. v niektorých oblastiach JAR je nutné podávať odčervovacie prípravky už v trojtýždňových intervaloch počas celého roka. Takto sa významný stupeň rezistencie voči ivermektínu u terénneho ovčieho kmeňa *Haemonchus contortus* vyvinul už po jednom roku jeho intenzívneho používania (V a n W y k a a M a l a n, 1988).

Faktory pôsobiace pri vzniku a vývoji rezistencie

Výskyt rezistencie voči antihelmintikám v chove je následkom postupnej genetickej selekcie rezistentných jedincov v rámci prítomnej populácie nematódov.

Ako kľúčové faktory pri vzniku rezistencie pôsobia:

1. Podávanie antihelmintík v nedostatočných dávkach. Nízka dávka liečiva pôsobí len proti najcitlivejším jedincom v populácii nematódov. Tie, ktoré disponujú určitým stupňom odolnosti prežijú a dajú základ ďalšej generácii, ktorá ich odolnosť môže dediť.
2. Časté podávanie antihelmintík, alebo dlhodobé podávanie toho istého liečiva, umožňujú nematódom, ktoré terapiu prežívajú, opakovaný kontakt s liečivom a tým aj ich rýchlejšiu adaptáciu na jeho pôsobenie. Každé ďalšie odčervenie tým istým antihelmintikom odstraňuje len citlivé jedince, kým odolné ponecháva v organizme hostiteľa. Tým sa zvyšuje pravdepodobnosť ich kríženia, čo opäť vyústí do nástupu rezistencie.

3. Používanie expirovaných liečiv má podobný efekt ako podávanie liečiv v nedostatočných dávkach.

Inou príčinou výskytu rezistentných nematódov v chove môže byť ich priama introdukcia prostredníctvom novonakúpených nakazených zvierat. Rezistentné kmene parazitov sa môžu šíriť nielen do susedných chovov, ale aj v medzinárodnom merítku, napr. z Nového Zélandu na Slovensko (V á r a d y a i., 1993) či z Veľkej Británie do Grécka (H i m o n a s a P a p a d o p u l o s, 1994). Bežný je tiež prenos rezistentných nematódov z kôz na ovce a naopak (C o l e s a R o u s h, 1992) aj prostredníctvom voľne žijúcich prežívavcov (P r a s l i č k a a i., nepublikované údaje).

Metódy detekcie rezistentných nematódov

Na detekciu rezistentných nematódov sa používajú *in vivo* a *in vitro* testy. Najpoužívanjšou metódou je *in vivo* test redukcie počtu vajčiek v truse – FECR test (faecal egg count reduction test), doporučený Svetovou asociáciou pre pokrok vo veterinárnej parazitológii – WAAVP (Coles a i., 1992). Pri FECR teste sa porovnáva EPG (počet vajčiek v 1 g trusu) v deň aplikácie liečiva a 10–14 dní neskôr. Testovaná populácia nematódov je považovaná za rezistentnú ak je redukcia EPG pri druhom vyšetrení nižšia než 95 %.

Spomedzi viacerých *in vitro* testov je najrozšírenejším test liahnutia lariev – EHA (egg hatch assay – Coles a i., 1992), ktorý sa používa na detekciu rezistencie voči benzimidazolovým antihelmintikám. Vajčička nematódov sa kultivujú v stúpajúcom rade koncentrácií čistého tiabendazolu. Podľa percentuálneho zastúpenia vajčiek a vyliahnutých lariev v jednotlivých koncentráciách liečiva sa vypočíta hodnota ED₅₀, čo je koncentrácia, v ktorej sa vyliahne 50 % lariev a 50 % uhynie vo vajčičkách v rôznych štádiách vývoja. Testovaný kmeň nematódov sa považuje za rezistentný vtedy, ak ED₅₀ je minimálne 0,1 µg/ml.

Ďalším *in vitro* testom je test vývinu kariet – LD test (larval development test – Lacey a i., 1991; Hubert a Kerboeuf, 1992). Opäť sa sledujú vajčička vyvíjajúce sa v rôznych koncentráciách liečiva. Výsledky testu sa vyjadrujú ako minimálna inhibičná koncentrácia (MIC), ktorá zabráni vývoju lariev do invázneho štádia (L₃). Podľa najnovších výskumov v Dánsku, tento test je najpresnejšou *in vitro* metódou a je doporučovaný na detekciu rezistencie voči všetkým skupinám širokospektrálnych antihelmintík.

Opatrenia proti rezistencii

Opatrenia proti rezistencii voči antihelmintikám sa v prvom rade sústreďujú na prevenciu, ktorá spočíva predovšetkým v zásadách správneho používania antihelmintík. Až na druhom mieste sú pokusy o zvládnutie už existujúceho problému.

Problematikou prevencie sme sa zaoberali v niekoľkých prácach (Veselý a i., 1992; Praslička a Várady, 1993; Praslička, 1994a).

Najdôležitejšími preventívnymi zásadami sú:

1. Podávanie dostatočných dávok liečiv (podľa zásady radšej mierne predávkovať ako poddávkovať) a so špeciálnym zreteľom na potrebu vyšších dávok pri kozách v porovnaní s ovcami.
2. Obmedzenie používania antihelmintík na najnutnejšiu možnú mieru.
3. Obmieňanie používaných liečiv s rôznym mechanizmom účinku.
4. Používanie iných metód v boji proti helmintózam (vhodné chovateľské a pastevné postupy, asanácia ustajňovacích priestorov po dehelmintizácii).
5. Opatrenia pri presunoch zvierat.
6. Pravidelné monitorovanie účinnosti antihelmintík.

Pri plošnom podávaní antihelmintík sa odporúča nastaviť aplikátor podľa hmotnosti najťažších jedincov v stáde, aby nedošlo k poddávkovaniu (Coles, osobná konzultácia). Potreba vyšších dávok antihelmintík pre kozy je podmienená tým, že u kôz sa liečivá metabolizujú rýchlejšie a dosahujú nižšie maximálne koncentrácie ako u oviec. To znamená, že parazity nie sú vystavené účinným dávkam antihelmintík dostatočne dlhú dobu. Preto sa odporúča podávať antihelmintiká pre kozy v 1,5 až 2-násobných dávkach odporúčaných pre ovce (Delattour, 1984; Prichard a Hennessy, 1981; Sangster a i., 1991). Navyiac, kozy v porovnaní s ovcami všeobecne disponujú nižším stupňom prirodzenej odolnosti voči helmintom.

Pri výskyte rezistentných nematódov v chove treba zistiť účinnosť jednotlivých antihelmintík a podľa toho aplikovať účinnú terapiu. Táto však v prípade polyrezistentných nematódov môže byť značne problematická, jej úspešnosť je spravidla len krátkodobá a rezistentné kmene nematódov v chove prežívajú aj po niekoľkoročnej cielej terapii (Čorba a i., 1993; Praslička a i., 1994c).

Takisto je nevyhnutné zamedziť šíreniu rezistentných helmintov do iných chovov. Preto by sa mali obmedziť presuny zvierat a ak sú tieto nutné, zvieratá sa musia pred transportom účinne odčerviť a nový majiteľ je ešte v karanténe povinný dať zvieratá vyšetriť na rezistenciu voči antihelmintikám (Coles a i., 1994). Dôležité je tiež zavedenie príslušnej legislatívy, na základe ktorej na Slovensku podliehajú povinnému vyšetreniu na rezistenciu voči antihelmintikám všetky importované mäle prežúvavce (Praslička, 1994b).

ZÁVER

Malo by byť spoločným záujmom chovateľskej aj veterinárskej verejnosti, aby sa dodržiavaním navrhnutých opatrení predchádzalo nástupu rezistencie voči používaným antihelmintikám. Je nutné používať antihelmintiká v správnych dávkach, nie zbytočne často a najmä využívať širokú škálu liečiv, ktoré dnešný trh ponúka. Treba tiež dodržiavať opatrenia pri presunoch zvierat a pravidelne monitorovať účinnosť antihelmintík.

Vývoj antihelmintík s úplne novým mechanizmom účinku je finančne i časovo náročný a jeho uvedenie na trh sa v najbližšom období neočakáva (Walker, 1993). Takisto nové alternatívne metódy pre boj proti helmintózam, ako sú vakcíny, hormonálne regulátory rastu nematódov, využitie niektorých plesní ako biologického nepriateľa nematódov, alebo vyšľachtenie voči helmintom odolných, resp. tolerantných plemien hospodárskych zvierat, sú ešte len v štádiu výskumu, alebo sa nimi dosiahli zatiaľ len čiastočné úspechy.

LITERATÚRA

BAUER, C.: Antihelmintic resistance in nematodes of horses. In: COLES, G. C. – BORGSTEEDE, F. H. M. – GEERTS, S. (eds.): Anthelmintic resistance in nematodes of farms animals. EC working document, Brussels 1993: 17–24.

- BJORN, H.: Anthelmintic resistance in nematodes of pigs. In: COLES, G. C. – BORGSTEEDE, F. H. M. – GEERTS, S. (eds.): Anthelmintic resistance in nematodes of farm animals. EC working document, Brussels 1993: 31–39.
- BORGSTEEDE, F. H. M.: Anthelmintic resistance in nematodes of sheep and goats. In: COLES, G. C. – BORGSTEEDE, F. H. M. – GEERTS, S. (eds.): Anthelmintic resistance in nematodes of farm animals. EC working document, Brussels, 1993: 1–16.
- BUCHMAN, K. – ROEPSTORFF, K. – WALLER, P. J.: Experimental selection of mebendazole – resistant gill monogeneans from the European eel, *Anquilla anquilla* L. J. Fish Diseases, 15, 1992: 393–400.
- COLES, G. C. – BAUER, C. – BORGSTEEDE, F. H. M. – GEERTS, S. – KLET, T. R. – TAYLOR, M. A. – WALLER, P. J.: W.A.A.V.P. (World Association for the Advancement of Veterinary Parasitology) methods for the detection of anthelmintic resistance in nematodes of veterinary importance. Vet. Parasit., 44, 1992: 35–44.
- COLES, G. C. – ROUSH, R. T.: Slowing the spread of anthelmintic resistant nematodes of sheep and goats in the United Kingdom. Vet. Rec., 130, 1992: 505–510.
- COLES, G. C. – BORGSTEEDE, F. H. M. – GEERTS, S.: Anthelmintic resistant nematodes in the EU. Parasit. Today, 10, 1994: 288–289.
- ČORBA, J. – VÁRADY, M. – PRASLIČKA, J. – VESELÝ, L.: Anthelmintické ovplyvnenie polyrezistentných nematódov gastrointestinálneho traktu u importovaných kôz. Vet. Med. – Czech, 38, 1993: 369–374.
- DELATOUR, P.: Pharmacokinétique comparée de l'oxfendazole chez la chevre et le mouton. Les Colloques de l'INRA (Institut National de la Recherche Agronomique, France), 1984: 513–516.
- GEERTS, S.: Anthelmintic resistance in nematodes of cattle. In: COLES, G. C. – BORGSTEEDE, F. H. M. – GEERTS, S. (eds.): Anthelmintic resistance in nematodes of farms animals. EC working document, Brussels, 1993: 25–30.
- HIMONAS, C. – PAPADOPOULOS, E.: Anthelmintic resistance of small ruminants nematodes. Vet. Rec., 134, 1994: 456.
- HUBERT, J. – KERBOEUF, D.: A microlarval development assay for the detection of anthelmintic resistance in sheep nematodes. Vet. Rec., 130, 1992: 442–446.
- LACEY, E. – REDWIN, J. M. – GILL, G. H. – DEMARGHERITI, V. M. – WALLER, P. J.: A larval development assay for the simultaneous detection of broad spectrum anthelmintic resistance. In: BORAY, J. C. – MARTIN, P. J. – ROUSH, R. T. (eds.): Resistance of parasites to antiparasitic drugs. MSD AGVET, Rahway, USA, 1991: 177–184.
- PRASLIČKA, J.: Rezistencia gastrointestinálnych nematódov kôz voči antihelmintikám a možnosti jej tľmenia. [Kandidátska dizertácia.] Košice 1993. – Parazitologický ústav SAV.
- PRASLIČKA, J.: Širokospektrálne antihelmintiká pre malé prežúvavce: ako ich správne používať. Slov. Vet. Čas., 19, 1994a: 32–35.
- PRASLIČKA, J.: Controlling the spread of anthelmintic resistance. Vet. Rec., 135, 1994b: 607.
- PRASLIČKA, J. – VÁRADY, M.: Rezistencia gastrointestinálnych nematódov oviec a kôz voči antihelmintikám. Náš chov, 53, 1993: 31.
- PRASLIČKA, J. – VÁRADY, M. – ČORBA, J. – VESELÝ, L.: A survey of anthelmintic resistance in sheep in Slovakia. Vet. Parasit., 52, 1994a: 169–171.
- PRASLIČKA, J. – VÁRADY, M. – ČORBA, J.: Výskyt rezistentných nematódov v chovoch oviec a kôz na Slovensku. Slov. Vet. Čas., 19, 1994b: 115–119.
- PRASLIČKA, J. – VÁRADY, M. – ČORBA, J.: Persistent infection with multiple anthelmintic-resistant gastrointestinal nematodes in Cashmere goats. Vet. Res. Commun., 18, 1994c: 443–446.
- PRASLIČKA, J. – PILKO, P. – VÁRADY, M. – ČORBA, J.: Nález gastrointestinálnych nematódov rezistentných k levamizolu a tetramizolu u oviec. Vet. Med. – Czech, 40, 1995: 45–48.
- PRICHARD, R. K. – HENNESSY, D. R.: Effect of oesophageal groove closure on the pharmacokinetic behaviour and efficacy of oxfendazole in sheep. Res. Vet. Sci., 30, 1981: 22–27.
- SANGSTER, N. C. – RICKARD, R. M. – HENNESSY, D. R. – STEEL, J. W. – COLLINS, G. H.: Disposition of oxfendazole in goats and efficacy compared with sheep. Res. Vet. Sci., 51, 1991: 258–263.
- TAYLOR, M. A. – HUNT, K. R.: Anthelmintic drug resistance in the UK. Vet. Rec., 125, 1989: 143–147.
- VAN WYK, J. A. – MALAN, F. S.: Resistance of a field strain of *Haemonchus contortus* to ivermectin, closantel, radoxanide and the benzimidazoles in South Africa. Vet. Rec., 123, 1988: 226–228.
- VÁRADY, M.: Rezistencia gastrointestinálnych nematódov oviec voči antihelmintikám a metódy jej detekcie. [Kandidátska dizertácia.] Košice 1994. – Parazitologický ústav SAV.
- VÁRADY, M. – PRASLIČKA, J. – ČORBA, J. – VESELÝ, L.: Multiple anthelmintic resistance of nematodes in imported goats. Vet. Rec., 132, 1993: 387–388.
- VÁRADY, M. – PRASLIČKA, J. – ČORBA, J.: Treatment of multiple resistant field strain of *Ostertagia* spp. in Cashmere and Angora goats. Int. J. Parasit., 24, 1994: 335–340.
- VESELÝ, L. – PRASLIČKA, J. – VÁRADY, M. – ČORBA, J.: Rezistencia nematódov voči antihelmintikám. Veterinářství, 42, 1992: 54–55.
- WALLER, P. J.: Towards sustainable nematode parasite control of livestock. Vet. Parasit., 48, 1993: 295–309.

Kontaktná adresa:

Doc. MVDr. Július Čorba, DrSc., Parazitologický ústav SAV, Hlinkova 3, 040 01 Košice, Slovenská republika
Tel. 095/633 14 11–13, 633 44 55, fax 095/633 14 14

THE FIRST FINDINGS OF NATURAL CRYPTOSPORIDIUM INFECTION OF STOMACH IN DESERT HAMSTERS (*PHODOPUS ROBOROVSKII* SATUNIN, 1903)

PRVNÍ NÁLEZY SPONTÁNNÍ ŽALUDEČNÍ KRYPTOSPORIDIOVÉ INFEKCE U KŘEČÍKŮ (*PHODOPUS ROBOROVSKII* SATUNIN, 1903)

I. Pavlásek, M. Lávička

National Veterinary Institute, Praha, Czech Republic

ABSTRACT: The desert hamster (*Phodopus roborovskii* Satunin, 1903) represents a new host of *Cryptosporidium muris* Tyzzer (1907), 1910. This very first finding was made in the laboratories of the National Veterinary Institute, Prague, Czech Republic. In September 1994 three 11-month and one 3-month desert hamsters were sent for laboratory examination. Parasitological examination *post mortem* of a 3-month desert hamster revealed „large” *Cryptosporidium* oocysts in excrements as well as in the contents of intestines. In all animals in which autopsy was carried out congestion of lungs, spleen and liver, acute catarrhal inflammation and flatulences in portions of gut were observed. Presence of morphologically identical oocysts of cryptosporidia was confirmed in the same group of desert hamsters also during parasitological reexamination carried out in October 1994. Applying the methods according to Breza (1957) and Pavlásek (1991) oocysts of the protozoon under study were detected in pooled samples of excrements of 3, 4, 5, 10 and 11-month animals. Two out of four live 2–3-month desert hamsters were infected naturally, both parents (10–11 months old), sent by the owner to our laboratory to be used for further observation. Both adult animals showed slight tremor, somnolence, rough hair and recumbent position, the male showed paresis of pelvic limbs. For four days in the laboratory conditions excrements of all six live desert hamsters, the interval being 2–12 hours, were examined and in four of them the finding of oocysts of the protozoon was repeatedly positive. Adult animals were euthanased. From the internal (heart, lungs, liver, spleen, kidneys, brain) organs and from the different parts of stomach and from the full length of small intestine (in the distance of 1–1.5 cm), of caecum and colon impressions and scrapings of mucous epithelium were made and, after fixation by methanol, stained according to Giemsa. In examining smear preparations endogenous developmental stages of *Cryptosporidium* were detected, sexual stages prevailing, only in the stomach of both desert hamsters. Oocysts of the protozoon were found in higher numbers (1–2 oocysts within one observation field at 450x magnification in examining native preparation) in stomach contents, sporadically in digesta from particular portions of the gut and, obviously, in formed excrements in the colon of animals. After measuring 100 oocysts (50 oocysts obtained from the stomach contents and the same number isolated from excrements of live naturally infected desert hamsters) their size in native preparations was 7.6–8.8 x 4.8–6.08 µm with the mean of 8.07 x 5.3 µm. The size most frequently observed was 8.0 x 4.8 µm. The index of the oocysts was – length/width 1.3–1.7 with the mean of 1.5; width/length 0.59–0.77 with the mean of 0.65. On the basis of localization of endogenous developmental stages and of morphometrical parameters of cryptosporidial oocysts, by comparing our findings with the data of authors cited in the paper who have given information on occurrence of the so called „large” oocysts of the protozoon in cattle, house rats and mice and also in view of the knowledge gained until now about the species spectrum of coccidia of the genus *Cryptosporidium* it comes out that desert hamsters have been infected with the *C. muris* species. At present further studies are going on, using the group of duration 30 desert hamsters, and other observations are carried out aimed at discovering the length of prepatent and patent period of naturally infected animals, studying specificity and pathogenicity of this protozoon.

Cryptosporidium muris; desert hamster; oocysts; endogenous developmental stages

Současné poznatky z výzkumů kokcií rodu *Cryptosporidium* dovolují, z hlediska taxonomického, rozlišovat u savců dva druhy těchto parazitických protozoí. Žaludeční forma kryptosporidiové infekce, vyvolaná *Cryptosporidium muris*, byla poprvé zjištěna v roce 1907

Tyzerem u myši (*Mus musculus*). Střevní infekce je způsobena druhem *C. parvum* Tyzzer, 1912 (Tyzzer, 1912). Tento prvok je rozšířen prakticky po celém světě a parazituje zejména u mláďat savců. *C. parvum* je považován za primárního enteropatogena při průjmo-

vých onemocněních zvířat. Infikuje také člověka, a proto mu byla během posledních 15 let věnována skutečně mimořádná pozornost. Doposud však existuje velmi málo informací o druhu *C. muris*.

Z dostupné literatury je zřejmé, že kromě prioritního nálezu (Tyzzer, 1907) byl *C. muris* detekován u skotu v USA (Reese aj., 1982; Anderson, 1987) a v České republice (Pavlas ek, 1994), dále v Japonsku u spontánně nakažených potkanů (*Rattus norvegicus*) Isekim (1986) a v Anglii u myší (*Mus musculus*) odchycených ve volné přírodě (Chalmers aj., 1994).

V tomto krátkém sdělení informujeme o vůbec prvních nálezech kryptosporidie, jejíž vývojová stadia byla lokalizována v žaludečních žlázách křečička (*Phodopus roborovskii* Satunin, 1903). Morfometrická charakteristika oocyst prvka odpovídala původním popisům (Tyzzer, 1907, 1910), údajům autorů Upton a Current (1985) i výše zmíněných autorů pro druh *C. muris*.

Křečičk Roborovského byl na naše území dovezen počátkem 70. let ze Střední Asie. V některých případech se chová pro laboratorní účely, většinou je však miláčkem rodin, zvláště dětí.

Na pracoviště Státního veterinárního ústavu v Praze (SVÚ) byli v září 1994 k laboratornímu vyšetření zasláni od jednoho soukromého chovatele tři křečičci ve věku 11 měsíců. Postmortálně bylo u všech zvířat zjištěno překrvení plic, sleziny a jater, akutní katarální zánět a úseková plynatost střev. U dvou z nich byl při bakteriologickém vyšetření orgánů (srdce, plíce, játra, slezina, ledviny, trávicí ústrojí) zjištěn *Staphylococcus intermedius* a u jednoho křečička *Pseudomonas seruginosa*. Při parazitologickém vyšetření byly detekovány u dvou zvířat cysty *Giardia* spp. a u jednoho oocysty kokcií rodu *Eimeria*. Ze stejného chovu, o počtu asi 500 křečičků, byl téhož měsíce zaslán na SVÚ k vyšetření jeden křečičk ve věku tři měsíce. Při postmortálním parazitologickém vyšetření zažitiny jejuna, ilea a částečně zformovaných exkrementů z tlustého střeva metodou podle Pavlas ka (1991) a flotačně-centrifugační metodou podle Brezy (1957) byly u něho nalezeny velmi početné tzv. velké oocysty kryptosporidie. Bakteriologickým vyšetřením byla z plic tohoto křečička izolována *Bordetella bronchoseptica*.

Na základě tohoto zjištění a po konzultaci s chovatelem nám byli k detailnějšímu laboratornímu sledování zasláni počátkem října 1994 dva dospělí 11měsíční (samec a samice) a čtyři dvou- až tříměsíční živí křečičci a současně směsné vzorky exkrementů od zvířat různých věkových kategorií (1, 2, 3, 4, 5, 10 až 11 měsíců). Koprologické vyšetření uskutečněné výše uvedenými metodami potvrdilo přítomnost oocyst prvka ve směsných vzorcích výkalů tří- až 11měsíčních křečičků. Oocysty kryptosporidie vylučovali dva ze čtyř živých dvou- až tříměsíčních křečičků a obě dospělá zvířata. U samce i samice jsme registrovali mírný třes, ospalost, naježenou srst a choulení se, u samce parézu pánevních končetin.

Po opakovaných vyšetřeních exkrementů metodou nativních preparátů (Pavlas ek, 1991) prováděných ve 2–12hodinových intervalech po dobu čtyř dnů a vždy pozitivních nálezech tzv. velkých oocyst prvka, byli samec i samice utraceni. Z orgánů (srdce, plíce, játra, slezina, ledvina, mozek) byly zhotoveny otisky. Ze tří různých částí žaludku, duodena a dále potom z celé délky tenkého (ve vzdálenosti 1 až 1,5 cm), slepého a tlustého střeva obou zvířat byly provedeny seškraby epitelu. Po zaschnutí byly preparáty fixovány metanolem a barveny metodou podle Giemsy.

Při vyšetřování rozetřových preparátů byla detekována endogenní vývojová stadia kryptosporidie, s převahou sexuálních, pouze v žaludku křečičků. Oocysty prvka byly nalezeny ve větším množství (jedna až dvě oocysty v jednom zorném poli mikroskopu při 450násobném zvětšení) v nativním preparátu zhotoveném z obsahu žaludku, ojediněle v zažitině z jednotlivých úseků tenkého střeva a pochopitelně ve zformovaných výkalech z tlustého střeva postmortálně vyšetřovaných křečičků.

Po proměření 50 oocyst získaných z obsahu žaludku a stejného počtu oocyst ve vyloučených exkrementech od živých, spontánně nakažených křečičků (v nativních preparátech) byla jejich velikost 7,6 až 8,8 x 4,8 až 6,08 μm (průměr 8,07 x 5,3 μm). Nejčastější rozměr oocyst byl 8 x 4,8 μm. Index oocyst – délka/šířka byl 1,3 až 1,7 (průměr 1,5); šířka/délka 0,59 až 0,77 (průměr 0,65).

Na základě zjištěné lokalizace endogenních vývojových stadií a morfometrických parametrů oocyst kryptosporidie, dále porovnáním našich nálezů s údaji citovaných autorů, kteří informovali o výskytu tzv. velkých oocyst prvka u skotu, potkanů a myší a také s ohledem na dosavadní poznatky o druhovém spektru kokcií rodu *Cryptosporidium* vyplývá, že křečičk Roborovského je novým hostitelem *C. muris*. Naše další sledování, které v současné době provádíme na skupině 30 křečičků, je zaměřeno zejména na zjištění délky prepatentní a patentní periody, studium specifity a patogenity tohoto prvka.

Poděkování

Autoři práce děkují chovateli Z. M. za poskytnutí veškerého materiálu a živých křečičků k dalšímu studiu uvedené problematiky. Poděkování za spolupráci na překladech rozšířeného souhrnu do angličtiny patří Mgr. Z. Polákov i, pracovníku Státního veterinárního ústavu v Praze.

LITERATURA

- ANDERSON, B. C.: Abomasal cryptosporidiosis in cattle. Vet. Path., 24, 1987: 235–238.
BREZA, M.: Niekoľko praktických poznatkov a námetov k helmintokoprologickéj diagnostike. Helminológia, 1, 1957: 57–63.

- CHALMERS, R. M. – STURDEE, A. P. – CASEMORE, D. P. – CURRY, A. – MILLER, A. – PARKER, N. D. – RICHMOND, T. M.: *Cryptosporidium muris* in wild house mice (*Mus musculus*) – 1st report in the UK. Eur. J. Protistol., 30, 1994: 151–155.
- ISEKI, M.: Two species of *Cryptosporidium* naturally infecting house rats, *Rattus norvegicus*. Jap. J. Parasit., 35, 1986: 521–526.
- PAVLÁSEK, I.: Využití glycerínu při detekci oocyst *Cryptosporidium parvum* a *C. baileyi* v trusu savců a ptáků. Veter. Med. (Praha), 36, 1991: 255–256.
- PAVLÁSEK, I.: První případy zjištění spontánní nákazy skotu *Cryptosporidium muris* Tyzzer (1907), 1910 v České republice. Vet. Med. – Czech, 39, 1994: 279–286.
- REESE, N. C. – CURRENT, W. L. – ERNST, J. V. – BAILEY, W. S.: *Cryptosporidiosis* of man and calf. A case report and results of experimental infections in mice and rats. Amer. J. Trop. Med. Hyg., 31, 1982: 226–229.
- TYZZER, E. E.: A protozoan found in the peptic glands of the common mouse. Proc. Soc. Exp. Biol. Med., 5, 1907: 12–13.
- TYZZER, E. E.: An extracellular coccidium *Cryptosporidium muris* (gen. et sp. nov.) of the gastric glands of the common mouse. J. Med. Res., 23, 1910: 487–509.
- TYZZER, E. E.: *Cryptosporidium parvum* (sp. nov.) a coccidium found in the small intestine of the common mouse. Arch. Protistenkd., 26, 1912: 349–412.
- UPTON, S. J. – CURRENT, W. L.: The species of *Cryptosporidium* (*Apicomplexa: Cryptosporidiidae*) infecting mammals. J. Parasit., 71, 1985: 625–629.

Došlo 21. 10. 1994

Kontaktní adresa:

Ing. Ivan P a v l á s e k, DrSc., Státní veterinární ústav, Sídlíštní 24/136, 165 03 Praha 6-Lysolaje, Česká republika
Tel. 02/34 46 00–9, fax 02/34 42 91

Upozornění pro autory vědeckých časopisů

Z důvodu rychlejšího a kvalitnějšího zpracování grafických příloh (grafů, schémat apod.) příspěvků zasílaných do redakce Vás žádáme o jejich dodání kromě tištěné formy i na disketách.

Týká se to samozřejmě těch grafických příloh, které byly vytvořeny v nějakém programu PC (např. CorelCHART, Quatro Pro, Lotus 1-2-3, MS Excel). Vzhledem k tomu, že nejsme schopni upravit a použít pro tisk všechny typy (formáty) grafických souborů, žádáme Vás, abyste nám také kromě originálních souborů (např. z MS Excel typ *.XLS) zasílali grafické předlohy vyexportované jako bodovou grafiku v jednom z těchto formátů:

Bitmap	*.BMP
Encapsulated Postscript	*.EPS
Graphic Interchange Format	*.GIF
Mac paint	*.MAC
MS Paint	*.MSP
Adobe Photoshop	*.PSD
Scitex	*.SCT
Targa	*.TGA
Tag Image File Format	*.TIF

Redakce časopisu

POKYNY PRO AUTORY

Časopis uveřejňuje původní vědecké práce, krátká sdělení a výběrově i přehledné referáty, tzn. práce, jejichž podkladem je studium literatury a které shrnují nejnovější poznatky v dané oblasti. Práce jsou uveřejňovány v češtině, slovenštině nebo angličtině. Rukopisy musí být doplněny krátkým a rozšířeným souhrnem. Časopis zveřejňuje i názory, postřehy a připomínky čtenářů ve formě kurzívy, glosy, dopisu redakci, diskusního příspěvku, kritiky zásadního článku apod., ale i zkušenosti z cest do zahraničí, z porad a konferencí.

Autoři jsou plně odpovědní za původnost práce a za její věcnou i formální správnost. K práci musí být přiloženo prohlášení o tom, že práce nebyla publikována jinde.

O uveřejnění práce rozhoduje redakční rada časopisu, a to se zřetel k lektorským posudkům, vědeckému významu a přínosu a kvalitě práce. Redakce přijímá práce impromované vedoucím pracoviště nebo práce s prohlášením všech autorů, že se zveřejněním souhlasí.

Rozsah původních 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 práce rukopisu má odpovídat státní normě ČSN 88 0220 (formát A4, 30 řádek na stránku, 60 úhozů na řádku, mezi řádky dvojitě mezery). K rukopisu je vhodné přiložit disketu s prací pořízenou na PC v některém textovém editoru, nejlépe v T602. Tabulky, grafy a fotografie se dodávají zvlášť, nepodlepují se. Na všechny přílohy musí být odkazy v textu.

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.

Název práce (titul) nemá přesáhnout 85 úhozů a musí dát přesnou představu o obsahu práce. Jsou vyloučeny podtitulky článků.

Krátký souhrn (Abstrakt) musí vyjádřit všechno podstatné, co je obsaženo v práci, a má obsahovat základní číselné údaje včetně statistických hodnot. Nemá překročit rozsah 170 slov. Je třeba, aby byl napsán celými větami, nikoliv heslovitě.

Rozšířený souhrn prací v češtině nebo slovenštině je uveřejňován v angličtině, měly by v něm být v rozsahu cca 1–2 strojopisných stran komentovaný výsledek práce a uvedeny odkazy na tabulky a obrázky, popř. na nejdůležitější literární citace. Je vhodné jej (včetně názvu práce a klíčových slov) dodat v angličtině, popř. v češtině či slovenštině jako podklad pro překlad do angličtiny.

Literární přehled má být krátký, je třeba uvádět pouze citace mající úzký vztah k problému. Tato úvodní část přináší také informaci, proč byla práce provedena.

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 a způsob hodnocení výsledků.

Výsledky tvoří hlavní část práce a 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 výsledky se konfrontují s údaji 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 odkazy v textu.

Klíčová slova mají umožnit vyhledání práce podle sledovaných druhů zvířat, charakteristik jejich zdravotního stavu, podmínek jejich chovu, látek použitých k jejich ovlivnění apod. Jako klíčová slova není vhodné používat termíny uvedené v nadpisu práce.

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

INSTRUCTIONS FOR AUTHORS

Original scientific papers, short communications, and selectively reviews, that means papers based on the study of technical literature and reviewing recent knowledge in the given field, are published in this journal. Published papers are in Czech, Slovak or English. Each manuscript must contain a short or a longer summary. The journal also publishes readers' views, remarks and comments in form of a text in italics, gloss, letter to the editor, short contribution, review of a major article, etc., and also experience of stays in foreign countries, meetings and conferences.

The authors are fully responsible for the originality of their papers, for its subject and formal correctness. The authors shall make a written declaration that their papers have 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 editors accept papers approved to print by the head of the workplace or papers with all the authors' statement they approve it to print.

The extent of original papers 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). A PC diskette should be provided with the paper, written in an editor program, preferably T602. 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 and it should provide a clear-cut idea of the paper subject. Subtitles of the papers are not allowed either.

Abstract. It must present 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.

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. This introductory section also provides information why the study has been undertaken.

Review of literature should be a short section, containing only literary citations with close relation to the treated problem.

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 and the method of result evaluation.

In the section **Results**, which is the core of the paper, 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.

Key words should make it possible to retrieve the paper on the basis of the animal species investigated, characteristics of their health, husbandry conditions, applied substances, etc. The terms used in the paper title should not be used as keywords.

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, telephone and fax number, or E-mail.

VETERINARY MEDICINE – CZECH

Volume 40, No. 8, August 1995

CONTENTS

Jandl J., Novosad J.: <i>In vivo</i> reduction of radiocaesium by modified clinoptilolite in sheep.....	237
Uhlík J., Konrádová V., Šrajger J., Zajícová A.: An abnormally high occurrence of malformed kinocilia in the tracheal epithelium of a clinically healthy rabbit.....	243
Tučková M., Fialkovičová M., Baranová D., Bekeová E., Kozák M., Páleník L.: Seasonal occurrence and its effect on thyroid hormone concentrations in blood serum of German shepherds, dachshunds and their health status.....	249
Busch K., Naglič T.: Natural uterine <i>Mycoplasma pulmonis</i> infection in female rats.....	253
INFORMATION – STUDIES – COMMUNICATIONS	
Praslička J., Čorba J.: Resistance to anthelmintics in nematodes of sheep and goats.....	257
Pavlíšek I., Lávička M.: The first findings of natural <i>Cryptosporidium</i> infection of stomach in desert hamsters (<i>Phodopus roborovskii</i> Satunin, 1903).....	261

VETERINÁRNÍ MEDICÍNA

Ročník 40, č. 8, Srpen 1995

OBSAH

Jandl J., Novosad J.: <i>In vivo</i> redukce radiocesia modifikovaným klinoptilolitem u ovcí.....	237
Uhlík J., Konrádová V., Šrajger J., Zajícová A.: Abnormálně vysoký výskyt malformovaných řasinek v tracheálním epitelu klinicky zdravého králíka.....	243
Tučková M., Fialkovičová M., Baranová D., Bekeová E., Kozák M., Páleník L.: Sezónnost a jej vplyv na hladiny tyroidných hormónov v krvnom sére nemeckých ovčiakov, jazvečkov a ich zdravotný stav.....	249
Busch K., Naglič T.: Pôrodná infekcia dēlohy <i>Mycoplasma pulmonis</i> u samic laboratorného potkana....	253
INFORMACE – STUDIE – SDĚLENÍ	
Praslička J., Čorba J.: Rezistencia voči anthelmintikám u nematódov oviec a kôz.....	257
Pavlíšek I., Lávička M.: První nálezy spontánní žaludeční kryptosporidiové infekce u křečků (<i>Phodopus roborovskii</i> Satunin, 1903).....	261

Vědecký časopis VETERINÁRNÍ MEDICÍNA ● Vydává Ústav zemědělských a potravinářských informací ● Redakce: Slezská 7, 120 56 Praha 2, tel.: 02/25 75 41, fax: 02/25 70 90 ● Sazba: Studio DOMINO – ing. Jakub Černý, Pražská 108, 266 01 Beroun, tel.: 0311/240 15 ● Tisk: ÚZPI Praha ● © Ústav zemědělských a potravinářských informací, Praha 1995

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