

ÚSTAV ZEMĚDĚLSKÝCH A POTRAVINÁŘSKÝCH INFORMACÍ

VETERINÁRNÍ MEDICÍNA

Veterinary Medicine – Czech

ČESKÁ AKADEMIE ZEMĚDĚLSKÝCH VĚD

2

VOLUME 43
PRAHA
JANUARY 1998
CS ISSN 0375-8427

Mezinárodní vědecký časopis vydávaný z pověření Ministerstva zemědělství České republiky a pod gescí České akademie zemědělských věd

An international journal published under the authorization by the Ministry of Agriculture and under the direction of the Czech Academy of Agricultural Sciences

Editorial Board – Redakční rada

Chairman – Předseda

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

Members – Členové

Doc. MVDr. ing. Jiří Brož, CSc., Reinfeld, Switzerland

Arnost Cepica, DVM., PhD., Associate Professor (Virology/Immunology), Atlantic Veterinary College, U.P.E.I., Charlottetown, Canada

Dr. Milán Fránek, DrSc., Veterinary Research Institute, Brno, Czech Republic

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

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

Prof. MUDr. Drahoš Horký, DrSc., Faculty of Medicine, Masaryk University, Brno, Czech Republic

Doc. MVDr. RNDr. Petr Hořín, CSc., University of Veterinary and Pharmaceutical Sciences, Brno, Czech Republic

Doc. MVDr. František Kovářů, DrSc., University of Veterinary and Pharmaceutical Sciences, Brno, Czech Republic

Doc. MVDr. Dr. Jozef Laurinčík, DrSc., Institute of Genetics and Experimental Biology, RIAP, Nitra, Slovak Republic

Prof. MUDr. M. V. Nermut, PhD., DSc. (h. c.), National Institute for Biological Standards and Control, United Kingdom

Prof. MUDr. MVDr. h. c. Leopold Pospíšil, DrSc., Veterinary Research Institute, Brno, Czech Republic

Prof. RNDr. Václav Suchý, DrSc., University of Veterinary and Pharmaceutical Sciences, Brno, Czech Republic

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

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

Editor-in-Chief – Vedoucí redaktorka

Ing. Zdeňka Radošová

World Wide Web (URL): <http://www.clark.cz/vri/casopis.htm>

Cíl a odborná náplň: Časopis Veterinární medicína uveřejňuje původní vědecké práce a studie typu review ze všech oblastí veterinární medicíny 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 43 vychází v roce 1998.

Přijímání rukopisů: Rukopisy ve třech vyhotoveních je třeba zaslat na adresu redakce: Ing. Zdeňka Radošová, vedoucí redaktorka, Ústav zemědělských a potravinářských informací, Slezská 7, 120 56 Praha 2, tel.: 02/24 25 79 39, fax: 02/24 25 39 38, e-mail: editor@login.cz. Podrobné pokyny pro autory lze vyžádat v redakci.

Informace o předplatném: Objednávky na předplatné jsou přijímány pouze na celý rok (leden–prosinec) a zasilají se na adresu: Ústav zemědělských a potravinářských informací, vydavatelské oddělení, Slezská 7, 120 56 Praha 2. Cena předplatného pro rok 1998 je 624 Kč.

Aims and scope: The journal Veterinární medicína original publishes papers and reviews from all fields of veterinary medicine 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 43 appearing in 1998.

Acceptance of manuscripts: Three 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.: 02/24 25 79 39, fax: 02/24 25 39 38, e-mail: editor@login.cz. Applications for detailed instructions for authors should be sent to the editorial office.

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 1998 is 145 USD (Europe), 152 USD (overseas).

ACCESS TO AND BLOCKADE OF NERVES AT THE *INCISURA ISCHIADICA MAJOR* IN BOVINES AND GOAT

PŘÍSTUP A BLOKÁDA NERVŮ V *INCISURA ISCHIADICA MAJOR* U SKOTU A KOZY

D. Mihelić¹, Vesna Gjurčević-Kantura¹, A. Brkić², K. Babić¹, Ljiljana Bedrica³,
D. Matičić²

¹ Department of Anatomy, Histology and Embryology, Veterinary Faculty, University of Zagreb, Zagreb, Croatia

² Clinic of Surgery, Orthopedy and Ophthalmology, Veterinary Faculty, University of Zagreb, Zagreb, Croatia

³ Clinic of Internal Diseases, Veterinary Faculty, University of Zagreb, Zagreb, Croatia

ABSTRACT: The possibility of reaching and blocking nerves at the *incisura ischiadica major* was studied in bovines and goat. Orientation points of approaching the bovine *incisura ischiadica major* are the *processus spinosus* of the second *sacral vertebra*, *tuber coxae* and *processus spinosus* of the third *sacral vertebra*, while *tuber ischiadicum*, *tuber coxae*, *trochanter major* and *linea glutea* serve as points of orientation in goat. In bovines the nerves can thus be reached from a line assumed to run through the *processus spinosus* of the second *sacral vertebra* 6–8 cm remote from the mid-plane; at the intersection of lines relating the utmost lateral point of the *tuber coxae* with the top of the *processus spinosus* of the third *sacral vertebra* as well as at the upper point of an assumed equilateral triangle with the base joining the cranio-lateral part of the *trochanter major* with the caudo-medial part of the *tuber ischiadicum*. The needle penetrates 8–10 cm in depth and 40 ml 1% scandicaine were administered. In goat, the nerves can be reached from the cranial third of a line assumed to run from the *tuber coxae* to the *trochanter major*; from the mid-point of the line joining the *tuber sacrale* with the *trochanter major*; along the medial margin of the *linea glutea* to the *incisura ischiadica major*. 10 ml 1% scandicaine were administered at depth 5–8 cm. Blockade symptoms of nerves passing over the *incisura ischiadica major* occur as soon as in 15–30 or 30–60 seconds in goat and bovines respectively, to be manifested as the weakness in the hind leg, leaning against the anesthetized leg, swaying, forceful step forward with the ankle joint not fixed and numb digits flexing and extending passively so that the animal drags the dorsal part of hoof along the ground. Caudal and caudo-lateral femoral muscles, croup muscles and muscles located distally from the knee joint get atonic. The skin of the caudal croup and hips as well as that located caudally and ventrally from the line *crista iliaca* – *trochanter major* – knee joint is insensible. The effect of the anesthetic gradually lessens to completely disappear in 100–120 minutes.

bovines; goat; *n. ischiadicus*; *incisura ischiadica*; access; blockade

ABSTRAKT: U skotu a kozy jsme studovali možnost přístupu a blokády nervů v *incisura ischiadica major*. Orientačními body přístupu k *incisura ischiadica major* u skotu jsou *processus spinosus* druhého sakrálního obratle, *tuber coxae* a *processus spinosus* třetího sakrálního obratle, zatímco u kozy slouží jako orientační body *tuber ischiadicum*, *tuber coxae*, *trochanter major* a *linea glutea*. U skotu se lze k nervům dostat z linie vedené přes *processus spinosus* druhého křížového obratle ve vzdálenosti 6 až 8 cm od střední roviny, na průsečíku linií spojujících nejvyšší laterální bod *tuber coxae* s vrcholkem *processus spinosus* třetího sakrálního obratle, jakož i v horním bodě předpokládaného rovnostranného trojúhelníku se základnou spojující kraniolaterální část *trochanter major* s kaudomedianální částí *tuber ischiadicum*. Jehla se zasouvá do hloubky 8 až 10 cm a aplikuje se 40 ml 1% skandikainu. U kozy je přístup k nervům možný z kraniální třetiny linie, která probíhá od *tuber coxae* k *trochanter major*, z půlčíslo bodu linie spojující *tuber sacrale* s *trochanter major*, podél mediálního okraje *linea glutea* k *incisura ischiadica major*. V hloubce 5 až 8 cm se injikuje 10 ml 1% skandikainu. Příznaky blokády nervů, které procházejí *incisura ischiadica major*, se začínou objevovat už za 10 až 15 vteřin u kozy a za 30 až 60 vteřin u skotu. Projevují se jako ochablost zadní končetiny, naklánění se na znečitlivělou končetinu, kymáčení, výrazné posunutí končetiny dopředu s uvolněním jlezenního kloubu a pasivní flexe a extenze necitlivých prstů, takže zvíře vleče dorzální část paznehtu po zemi. Kaudální a kaudolaterální stehenní svaly, hýžďové svaly a svaly lokalizované distálně od kolenního kloubu ztrácejí tonus. Kůže na kaudální části hýždí a beder, jakož i kůže kaudálně a ventrálně od linie *crista iliaca* – *trochanter major* – kolenní kloub je necitlivá. Účinek anestetika se postupně snižuje, až za 100 až 120 minut zcela vymizí.

skot; koza; *n. ischiadicus*; *incisura ischiadica*; přístup; blokáda

INTRODUCTION

The beginnings of local anesthesia can be traced back to ancient medicine in the findings of Incan human skull trepanation probably performed under a local anesthetic extracted from coca shrub leaves (*Erythoxylon coca*). With the development of medicine, surgery in particular, the role of local anesthetics has gained on importance. Its significance has not been diminished either by the progress made in general anesthesia or any other pain relief drug. On the contrary, conductive anesthesia has presently become irreplaceable in both diagnostics and surgery.

Many a text book and scientific paper on anatomy deal with the formation course and variations occurring in the formation of *n. ischiadicus*, *n. gluteus cranialis*, *n. gluteus caudalis* and *n. cutaneus femoris caudalis* in domestic mammals (Ellenberger and Baum, 1943; Sisson and Grossman, 1962; Berg, 1973; Getty, 1975; Nickel et al., 1984; de Lahunta and Habel, 1986; Koch and Berg, 1985; Constantinescu, 1991; Mihelić et al., 1994b; Dyce et al., 1996; Mihelić et al., 1996). After being formed from ventral branches of the sixth lumbar nerve and the first and second sacral nerve, the *n. ischiadicus* emerges on the *incisura ischiadica major* from the pelvic cavity. The *n. gluteus cranialis* is formed by the joining of ventral branches of the sixth lumbar and first sacral nerve, while ventral branches of the first and second sacral nerve, also coming out from the pelvic cavity to the *incisura ischiadica major*, take part in the formation of the *n. gluteus caudalis*. After its emergence, the *n. ischiadicus* runs in a caudo-ventral direction and turns distally behind the *trochanter major*, the *n. gluteus cranialis* and *n. gluteus caudalis* take a cranio-dorsal and caudo-dorsal direction respectively, whereas the *n. cutaneus femoris caudalis* detaches from the *n. ischiadicus* (Ellenberger and Baum, 1943;

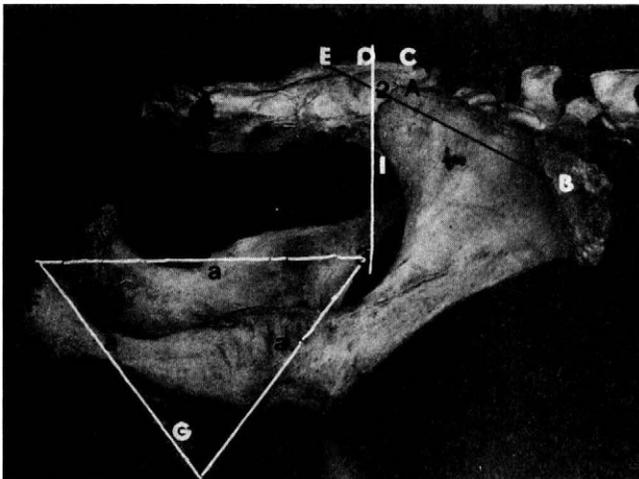
Sisson and Grossman, 1962; Berg, 1973; Getty, 1975; Nickel et al., 1984; de Lahunta and Habel, 1986; Koch and Berg, 1985; Constantinescu, 1991; Dyce et al., 1996). Shortly, the *n. ischiadicus* splits into the *n. peroneus communis* and *n. tibialis*.

So far, very few authors have described access to and blockade of the *n. ischiadicus*. Magda (1960), for instance, reported on access to the *n. ischiadicus* from behind the *trochanter majus* as well as the so-called low access from the groove between the *m. biceps femoris* and *m. semitendinosus* in the horse and bovines. There is also a description of access to the *n. ischiadicus* between the coxal joint and *tuber ischiadicum* (Westheus and Fritsch, 1960; Berg, 1973; Zobundžija and Babić, 1985). In our research studies we have reported on effects of access to the *n. ischiadicus* at the *incisura ischiadica major* in horses, dogs, pigs and sheep (Brkić et al., 1991a, b; Brkić et al., 1992; Brkić and Mihelić, 1992; Mihelić, 1993; Mihelić et al., 1994a; Brkić et al., 1994; Mihelić et al., 1995; Matičić, 1996).

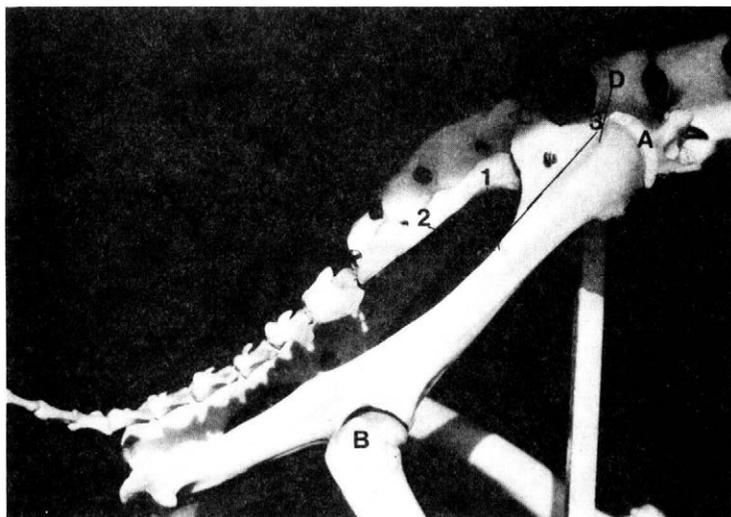
Whereas access to the *n. ischiadicus* at the *incisura ischiadica major* does not involve the *n. ischiadicus* alone but also other nerves which emerge from the pelvic cavity (*n. gluteus caudalis*, *n. gluteus cranialis*, *n. cutaneus femoris caudalis*) at the site, the present paper is aimed at showing the effect of blocking the bovine and goat nerve at the above site in order to make a large portion of the hind leg insensible and thus contribute to surgical treatment of the hind leg in bovines and goat.

MATERIAL AND METHODS

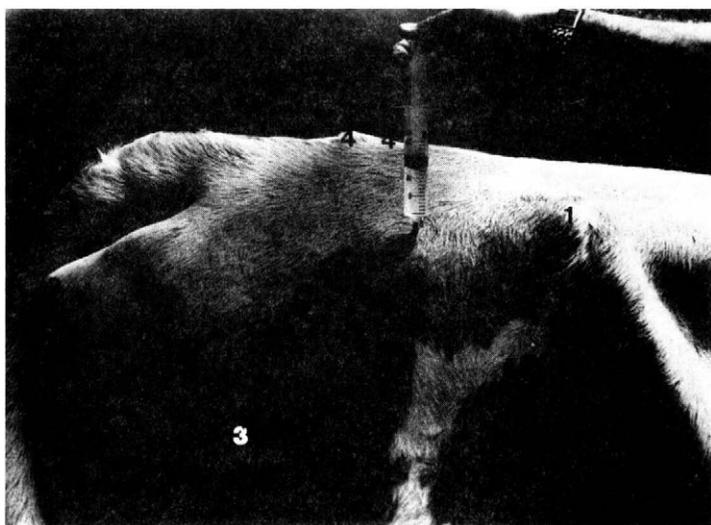
The research study was carried out on experimental bovines of the Clinic for Internal Diseases, Faculty of



1. Bovine pelvic bones – access to the *incisura ischiadica major*. A – *tuber sacrale*, B – *tuber coxae*, C, D and E – apex of the *processus spinosus* of the first, second and third sacral vertebra, F – *tuber ischiadicum*, G – *trochanter major*; 1 – access site to the *incisura ischiadica major* 6–8 cm removed laterally from the line assumed to run parallelly with the second sacral vertebra, 2 – access from the intersection of the assumed lines joining the most lateral point of the *tuber coxae* with the mid-apex of the *processus spinosus* of the third sacral vertebra and the line assumed to run parallelly with the *processus spinosus* of the second sacral vertebra, 3 – access to the *incisura ischiadica major* from the upper point of an equilateral triangle; a – sides of the equilateral triangle



2. Pelvic bones in goat – access to the *incisura ischiadica major*. A – *tuber coxae*, B – *trochanter major*, C – *tuber sacrale*, D – *linea glutea*; 1 – access to the *incisura ischiadica major* from the cranial third of the line assumed to run from the *tuber coxae* to the *trochanter major*, 2 – access from the mid-point of the assumed line joining the *tuber sacrale* and *trochanter major*, 3 – access to the *incisura ischiadica major* along the medial margin of the *linea glutea*



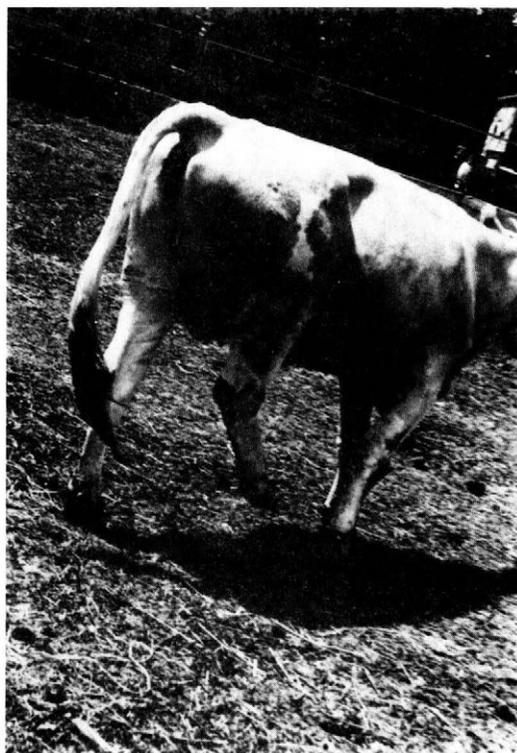
3. Access to the bovine *incisura ischiadica major*. 1 – *tuber coxae*, 2 – *tuber ischiadicum*, 3 – *trochanter majus*, 4 – *processus spinosus* of the second and third *sacral vertebra*

Veterinary Medicine, University of Zagreb, experimental sheep and goats of the „Laguna“ breeding farm. Pore and living animals of the Zagrepčanka's meat-packaging plant, Zagreb.

Elements further used as orientation points for access to the *incisura ischiadica major* were determined at the bovine and goat skeleton. The access site was then checked up on two bullocks and heifers and two young goats before slaughter. The animals were administered 10 ml of methylene blue at that potential site of access to the *incisura ischiadica major*.

Moreover, the application site was evaluated through dissection and, consequently, essential in relation to the selected orientation points and depth of penetration corrections were made in order to reach the nerves at the *incisura ischiadica major*. The investigation was carried out on the right side of 10 living bovines and 12 living goats.

In bovines, these orientation points are as follows: *processus spinosus* of the second *sacral vertebra*, *tuber coxae*, *processus spinosus* of the third *sacral vertebra*, *tuber ischiadicum* and *trochanter majus*.



4. Bovine. Forceful stepping forward and high lifting of the anesthetized leg

There are three possible ways of determining the access spot at the bovine *incisura ischiadica major* (Fig. 1):

- 6–8 cm lateral on the line assumed to run through the *processus spinosus* of the second *sacral vertebra*, needle introduced in ventral and little laterally direction;
- at the intersection of the assumed line relating to the utmost lateral point on the *tuber coxae* with the mid-apex of the *processus spinosus* of the third *sacral vertebra* and the line assumed to run through the *processus spinosus* of the second *sacral vertebra*. Needle introduced in ventral and little laterally direction;
- at the upper point of equilateral triangle with the base joining the cranio-lateral portion of the *trochanter majus* with the caudo-medial portion of the *tuber ischiadicum*. Needle introduced in caudo-medial direction.

The needle, 12 cm long, penetrates 8–11 cm in depth.

As regards the goat, the *tuber sacrale*, *tuber coxae*, *trochanter major* and, clearly observable *linea glutea* were used as orientation points. Access to the *n. ischiadicus* on the *incisura ischiadica major* was possible at a depth of 5–8 cm, with 10 cm long needle dependent upon animal breeding condition and size.

The *n. ischiadicus* at the *incisura ischiadica major* is thus reachable from (Fig. 2):

- the cranial third of the line assumed to run from the *tuber coxae* to the *trochanter major* and needle emboldened in caudo-medio-lateral direction;
- from the mid-point of the line joining the *tuber sacrale* and the *trochanter major* and needle introduced in caudo-lateral direction;
- along the medial margin of the *linea glutea* to the *incisura ischiadica major* and needle introduced in caudo-lateral direction.

Before anesthetic applications in bovines it is recommendable to take on a bit and there is no need. In a goat case it is enough to hold the animal and we do not the need any special method to restraint the animal.

RESULTS AND DISCUSSION

Along with the *n. ischiadicus*, there are also other nerves that come out from the pelvic cavity such as *n. gluteus cranialis*, *n. gluteus caudalis* and *n. cutaneus femoris caudalis*. These nerves lean against the lateral lig. sacrotuberale latum, below the *m. gluteobiceps* and *m. gluteus profundus*. While accessing the bovine nerve from the plane assumed to run through the *processus spinosus* of the second *lumbar vertebra* placed 6–8 cm lateral from the mid-plane, 40 ml of 1% scandicaine were administered (Fig. 3). Progressively intensifying



5. Bovine. High lifting of the anesthetized leg while stepping forward

unsteady walk can be observed in the animal in 30–60 seconds after administration of the anesthetic. The animal then drags the leg and while stepping forward, the leg is actually put in front and lifted high but it does not have any load-bearing capacity (Figs. 4, 5 and 6). While stepping forward, lameness and dragging of the dorsal part of hoof along the ground (Fig. 7) become evident as well as swaying and leaning against the anesthetized leg so that the animal should be assisted in order not to fall down (Fig. 8). Slight abduction and circumduction at walk are shortly observable (Fig. 9) along

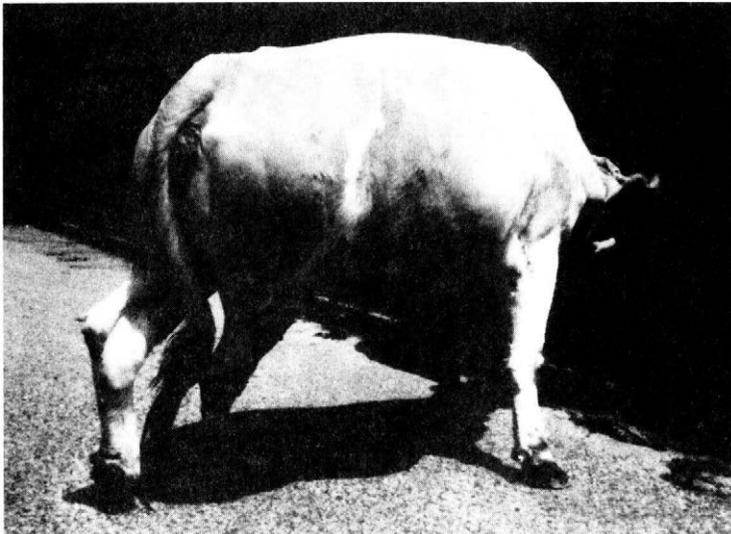
with progressively shortened step forward and body weight shifted to the non-anesthetized leg. As the limb becomes incapable of bearing load the animal lies down with the leg pushed aside laterally and cranially (Figs. 10 and 11) and can hardly get up without assistance (Fig. 12). The ankle joint is not fixed and it therefore flexes and extends passively at load. Moreover, insensible digits flex passively, too, and the animal should be taken well care of in order not to get injured when it occasionally gives try to shift weight to the leg with such flexed digits.



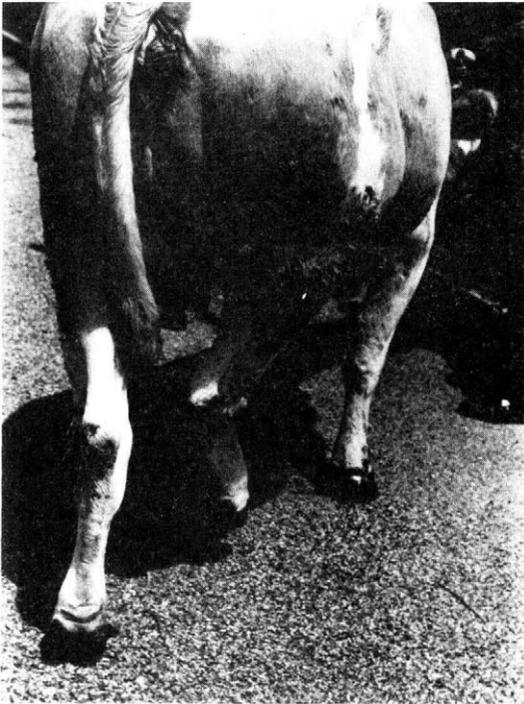
6. Bovine. The anesthetized leg incapable of bearing load



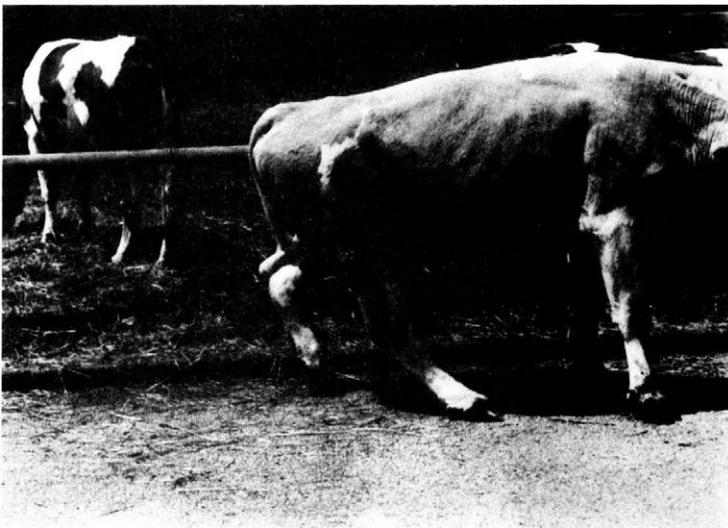
7. Bovine. Dragging of the dorsal part of hoof along the ground



8. Bovine. Leaning against the anesthetized leg



9. Bovine. Slight circumduction and abduction of the anesthetized leg while stepping forward



10. Bovine. Load-bearing incapacity of the anesthetized leg

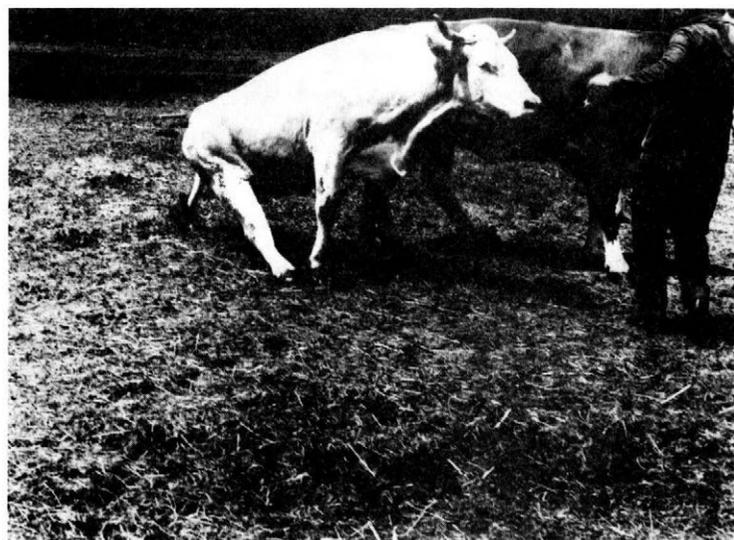
The skin on the caudal side of the hips and croup is insensible, and the area cranially and dorsally restricted by the line joining the *crista iliaca*, *trochanter major* and knee joint. Caudal and caudo-lateral hip muscles, cranial croup muscles and muscles located distally from

the knee joint get atonic. All the symptoms go out in 100–120 minutes.

In goat, the first signs of nerve blocking at the *incisura ischiadica major* occur in 15–30 seconds after administration of 10 ml 1% scandicaine. Unsteady walk



11. Bovine. The animal lies down with the anesthetized leg pushed aside laterally



12. Bovine. Difficulties in getting up after anesthetic administration at the *incisura ischiadica major*

is not a symptom in goat, whereas swaying of the hind part can be observed immediately upon administration of the anesthetic as the limb gradually loses its load-bearing capacity. In 30–60 seconds already, the animal forcefully puts the leg in front but cannot bear weight at the anesthetized limb (Fig. 13). The hind part of the body sways at walk to the side of the anesthetized extremity (Fig. 14). Slight circumduction and abduction can be observed while the animal steps forward. The animal often drags the dorsal part of hoof of the anes-

thetized leg along the ground attempting to take over weight with digits flexed, the same as described in bovine. The above results from atonic muscles and joints of the hind leg located distally from the knee. Therefore, both the ankle joint and digital joints flex and extend passively. In a few minutes (3–5 minutes exactly), the goat should be assisted at walk in order not to fall down (Fig. 14). While in the standing posture, the animal attempts to compensate the load-bearing incapacity of the anesthetized leg by widely spreading the hind



13. Goat. Forceful stepping forward and load-bearing incapacity of the anesthetized leg



14. Goat. Swaying of the hind part of the body on the side of the anesthetized leg

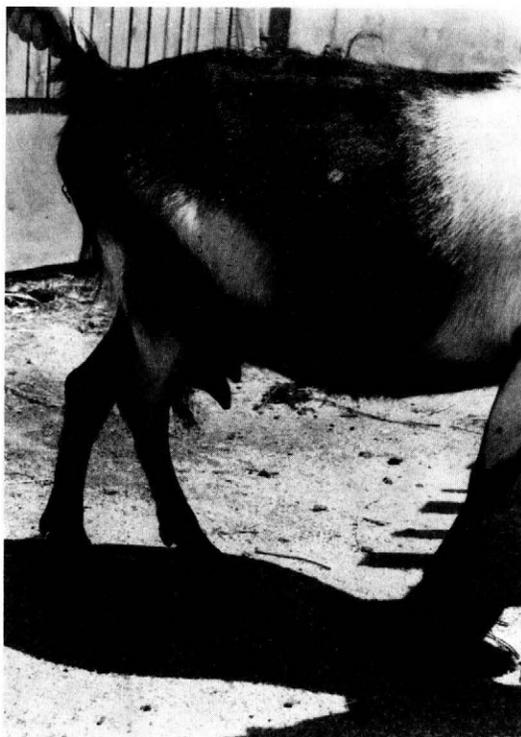
legs (Fig. 15) and, at the same time, shift the body weight to the non-anesthetized limb. Occasionally, the animal crosses the anesthetized leg over the non-anesthetized one (Fig. 16). Shortly after, the animal lies down with the anesthetized limb pushed aside cranially

and laterally, the same as observed in bovine, as the *m. quadriceps femoris* retains its tonicity and muscles of the hind croup, hip and leg get atonic.

Symptoms occurring after nerve blocking at the *incisura ischiadica major*, which besides the *n. ischiadicus*,



15. Goat. Wide spreading of the hind legs due to the incapacity of the anesthetized leg to bear load



16. Goat. The anesthetized leg crossed over the non-anesthetized one in standing posture

description of dissection performed at the *n. peroneus* and *n. tibialis* (Worthman, 1957; Vaughan, 1964; Marolt et al., 19982). Our observations are correspondent even more to those of Worthman (1957) re-

ported after dissection of the *n. ischiadicus* at a level with the *trochanter major*, and those of de Lahunta and Hable (1986) who performed dissection of the *n. ischiadicus* at the *incisura ischiadica major*.

They described the possibility of access to and effects of nerve blocking at the *incisura ischiadica major* in the horse, dog, pig and sheep and their results are alike, or almost identical to the results reported in our previous research studies (Brkić et al., 1991a, b; Brkić et al., 1992; Brkić and Mihelić, 1992; Mihelić, 1993; Mihelić et al., 1994a; Brkić et al., 1994; Mihelić et al., 1995; Matičić, 1996).

Mihelić et al. (1994) reported that the onset of anesthetic effects blocking the *n. femoralis* in the dog can also be influenced by the formation site of the *n. femoralis*. In case blockade is administered at the *incisura ischiadica major*, however, the onset of blockade effects cannot be influenced by the site of the nerve formation as the nerve emerges from the pelvic cavity when already formed. Above all, the onset of blockade effects depends upon the vicinity of the nerve, or the accuracy of anesthetic administration.

We are of the opinion that, in bovines, the right approach could be most readily determined at the line assumed to run parallel with the second *sacral vertebra* removed 6–8 cm laterally from the mid-plane. None the worse are the results of nerve blocking at the *incisura ischiadica major* approached from the mid-point of the line joining the utmost lateral point of the tuber coxae and the mid-apex of the *processus spinosus* of the third *sacral vertebra*, except that this access site is not so easily definable. With such a means of access to the *incisura ischiadica major* the first symptoms will be observed in 60–90 seconds. While approaching nerves at the *incisura ischiadica major* from the assumed equilateral triangle, blockade symptoms will be produced no sooner than 1–3 minutes upon anesthetic administration, let alone that the site of such access is much more difficult to define.

In spite that there is no noteworthy departure as regards the onset, duration and complexity of performing nerve blocking at the *incisura ischiadica major* by using the other two means in goat, priority is, however, given to the access along the *linea glutea*. At the moment of application there were no problems with defensive responses of the animal. Only when needle has come to the nerves, there was a jerk of the hind's limb we wanted to anesthetize.

The described access to the *n. ischiadicus* at the *incisura ischiadica major* involving *n. gluteus cranialis*, *n. gluteus caudalis* and *n. cutaneus femoris caudalis* opens up new possibilities in the veterinary practice as regards anesthetic administration to the hind leg. In both the bovines and goat such administered anesthetic and access to nerves at the *incisura ischiadica major* include all the nerves that come out from the pelvic cavity to the lateral side of the hind leg innervating muscles and skin caudally from the line *tuber ischiadicum – tuber sacrale – tuber coxae* – knee joint, all the joints of the hind leg save the lateral one, as well as muscles and skin on the medial part of the hip innervated by the *n. obturatorius* or *n. saphens*. Finally, unlike infiltrative, conductive anesthesia enables

surgery in the absence of muscular reflexes and tension, with the operation field not being distorted. However we have to be careful because of close presence of *a. glutea cranialis* and *v. glutea cranialis* which can also be found at *incisura ischiadica major* at proximity of the nerves, on their way out from the pelvic cavity. In other words, we can prevent that by aspiration before application anesthetic.

REFERENCES

- BERG, R. (1973): *Angewandte und topographische Anatomie der Haustiere*. Jena, Gustav Fischer Verlag, pp. 261–266.
- BRKIĆ, A. – ZOBUNDŽIJA, M. – BABIĆ, K. – MIHELIĆ, D. (1991a): Clinical significance of topographo-anatomical relations of *nervus ischiadicus* and *foramen ischiadicum majus* in horses. *Vet. Arhiv*, 61, 233–238.
- BRKIĆ, A. – MIHELIĆ, D. – BABIĆ, K. – ZOBUNDŽIJA, M. – GJURČEVIĆ-KANTURA, V. (1991b): Possibility of the *n. ischiadicus* blockade in *foramen ischiadicum majus* in horses. *Vet. Arhiv*, 61, 289–295.
- BRKIĆ, A. – MIHELIĆ, D. (1992): Usporedba efikasnosti blokade *n. ischiadicus* u konja na *foramen ischiadicum majus* i na *incisura ischiadica minor*. In: 5. Spominski sastanak prof. dr. Frana I. Zavrznika, Gozd Martuljek, 2.–4. April. 14 (Abstr.).
- BRKIĆ, A. – ZOBUNDŽIJA, M. – BABIĆ, K. – MIHELIĆ, D. – GJURČEVIĆ-KANTURA, V. (1992): Kliničko značenje topografsko-anatomskih odnosa *n. ischiadicus* na *foramen ischiadicum majus* u goveda. *Vet. Arhiv*, 62, 34–41.
- BRKIĆ, A. – MIHELIĆ, D. – ZOBUNDŽIJA, M. – BABIĆ, K. – GJURČEVIĆ-KANTURA, V. (1994): Possibility to *n. ischiadicus* approach in the swine. *Period. Biol.*, 2, 185–186.
- CONSTANTINESCU, G. M. (1991): *Clinical Dissection Guide for Large Animals*. St. Louis, Baltimore, Boston, Chicago, London, Philadelphia, Sydney, Toronto, Mosby Year Book, 169–220.
- DYCE, K. – SACK W. – WENSING, D. (1996): *Textbook of Veterinary Anatomy*. Philadelphia, London, Toronto, Montreal, Sydney, Tokyo, W. B. Saunders Company, p. 317 and p. 765.
- DE LAHUNTA, A. – HABEL, R. E. (1986): *Applied Veterinary Anatomy*. Philadelphia, London, Toronto, Mexico City, Rio de Janeiro, Sydney, Tokyo, Hong Kong, W. B. Saunders Company, pp. 140–147.
- ELLENBERGER, W. – BAUM, H. (1943): *Handbuch der Vergleichenden Anatomie der Haustiere*. Berlin, Springer Verlag, pp. 896–899.
- GETTY, R. (1975): *Sisson-Grossman's the Anatomy of the Domestic Animals*. Philadelphia, London, Toronto, W. B. Saunders Company, pp. 1139–1151.
- KOCH, T. – BERG, R. (1985): *Lehrbuch der Veterinär-Anatomie*, Band III. Jena, VEB Gustav Fischer, pp. 340–354.
- MAGDA, I. I. (1960): *Lokalanaesthesie Anleitung für Tierärzte*. Jena, VEB Gustav Fischer Verlag, pp. 153–160.
- MAROLT, J. – BEGO, U. – ZOBUNDŽIJA, M. – BRKIĆ, A. (1982): Die Dysfunktion der *n. femoralis* und *tibialis* in licht klinisch-anatomischer Experimente. *Dtsch. Tierarzt. Wschr.*, 89, 189–192.

- MATIČIĆ, D. – MIHELIĆ, D. – ZOBUNDŽIJA, M. – BRKIĆ, A. – BABIĆ, K. – GJURČEVIĆ-KANTURA, V. – CAPAK, D. – SUŠIĆ, V. (1996): Possibility of blockade of *n. ischiadicus* within *foramen ischiadicum majus* in sheep. *Vet. Med. – Czech*, 41, 273–278.
- MIHELIĆ, D. (1993): Mogućnost pristupa do nekih živaca lumbosakralnog spleta u psa. [Doktorska disertacija.] Zagreb, Veterinarski fakultet.
- MIHELIĆ, D. – ZOBUNDŽIJA, M. – BRKIĆ, A. – BABIĆ, K. (1994a): Pristup i blokada *n. ischiadicusa* u psa. *Vet. Stanica*, 25, 205–209.
- MIHELIĆ, D. – BRKIĆ, A. – GJURČEVIĆ-KANTURA, V. – ZOBUNDŽIJA, M. – BABIĆ, K. – JAKOVAC, M. – JANICKI, Z. (1994b): Variation in creation of the canine *n. femoralis*. *Period. Biol.*, 2, 177–180.
- MIHELIĆ, D. – ZOBUNDŽIJA, M. – BRKIĆ, A. – GJURČEVIĆ-KANTURA, V. – SLAVICA, A. – BAČIĆ, G. – MATOLEK, Z. – BROZOVIĆ, S. (1995): Anatomical possibilities of access to and blockade of *n. femoralis* in the dog. *Vet. Med. – Czech.*, 40, 283–287.
- MIHELIĆ, D. – ZOBUNDŽIJA, M. – BABIĆ, K. – GJURČEVIĆ-KANTURA, V. – DŽAJA, P. – GEREŠ, G. – BAČIĆ, G. – HINCAK, Z. (1996): Variations concerning the formation of femoral, obturator and ischiatic nerves in dogs. *Vet. Arhiv*, 66, 51–60.
- NICKEL, R. – SCHUMMER, A. – SCIFERLE, E. (1984): *Lehrbuch der Anatomie der Haustiere*. Band IV. Berlin und Hamburg, Verlag Paul Parey, pp. 235–249.
- SISSON, S. – GROSSMAN, J. D. (1962): Anatomija domaćih životinja. Zagreb, Poljoprivredni nakladni zavod, 979–981.
- VOUGHAN, L. C. (1964): Pheripheral Nerve Injuries: An Experimental Study in Cattle. *Vet. Rec.*, 76, 1293–1301.
- WESTHUES, M. – FRITSCH, R. (1960): *Die Narkose der Tiere*. Berlin und Hamburg, Paul Parey, pp. 117–119.
- WORTHMAN, R. P. (1957): Demonstration as specific nerve paralyzes in the dog. *J.A.V.M.A.*, 131, 174–178.
- ZOBUNDŽIJA, M. – BABIĆ, K. (1985): Primijenjena anatomija domaćih životinja. [Skripta.] Zagreb, Veterinarski fakultet, 130 pp.

Received: 97–08–25

Accepted after corrections: 97–11–28

Contact Address:

Doc. dr. sc. Damir Mihelić, Department of Anatomy, Histology and Embryology, Veterinary Faculty, University of Zagreb, Heinzelova 55, 10000 Zagreb, Croatia
Tel. ++385 1 23 90 247, fax ++385 1 21 46 97, e-mail: mihelic@olimp.irb.hr

THE EFFECTIVENESS OF INACTIVATED, PURIFIED AND CONCENTRATED EXPERIMENTAL RABIES VACCINE FOR VETERINARY USE: ANTIGENIC ACTIVITY. EXPERIMENTS ON DOMESTIC DOGS

ÚČINNOSŤ INAKTIVOVANEJ, PURIFIKOVANEJ A KONCENTROVANEJ EXPERIMENTÁLNEJ ANTIRABICKEJ VAKCÍNY PRE VETERINÁRNE POUŽITIE: ANTIGÉNNÁ AKTIVITA. POKUSY NA PSOCH DOMÁČICH

Z. Beníšek¹, J. Süliová¹, Š. Švrček¹, J. Zavadová², R. Ondrejka¹, A. Ďurové¹

¹University of Veterinary Medicine, Košice, Slovak Republic

²Institute of Experimental Veterinary Medicine, Košice, Slovak Republic

ABSTRACT: The antigenic activity of experimental inactivated, concentrated, purified adjuvant rabies vaccine prepared by the authors was investigated in experiments on domestic dogs and compared with antigenic activity of commercial rabies preparations at intramuscular application. The effectiveness of experimental vaccine was tested in domestic dogs also by non-traditional intradermal method of application at varying doses (0.1 and 0.2 cm³). The results of determination of rabies antibodies by means of VNT and ELISA method at intramuscular administration of vaccines revealed that the antigenic activity of the experimental vaccine is comparable with that of commercial preparations. The effectiveness of the experimental vaccine at intradermal administration at a dose of 0.2 cm³ was even higher. The level of rabies antibodies was sufficient after as many as 15 months following the intradermal administration of vaccine: in none of the experimental animals any values below 0.5 UE/cm³ were detected. The dose of 0.1 cm³, administered intradermally, cannot ensure adequate antirabies protection for the period of 15 months.

rabies; rabies vaccine; antigenic activity; intramuscular and intradermal application of vaccine

ABSTRAKT: Autori sledovali antigénnu aktivitu vlastnej experimentálnej inaktivovanej, koncentrovanej, purifikovanej adjuvantnej antirabickej vakcíny v pokusoch na psoch domáчих a porovnávali ju s antigénnou aktivitou komerčných antirabických preparátov pri intramuskulárnej aplikácii. Účinnosť experimentálnej vakcíny testovali na psoch domáчих aj pri netradičnom intradermálnom spôsobe aplikácie v rôznych dávkach (0.1 a 0.2 cm³). Výsledky stanovenia antirabických protilátok VNT a ELISA metódou pri intramuskulárnom podaní vakcín ukázali, že experimentálna vakcína antigénnou aktivitou sa vyrovná komerčným preparátom. Pri intradermálnej aplikácii v dávke 0.2 cm³ účinnosť experimentálnej vakcíny je ešte vyššia. Aj po 15 mesiacoch po intradermálnej aplikácii vakcíny v tejto dávke bola hladina antirabických protilátok dostatočne vysoká: ani u jedného pokusného zvierata neklesla pod hodnotu 0.5 UE/cm³. Intradermálne aplikovaná dávka 0.1 cm³ v časovom intervale 15 mesiacov je nedostatočná na vyvolanie a zabezpečenie adekvátnej antirabickej protekcie.

besnota; antirabická vakcína; antigénná aktivita; intramuskulárna a intradermálna aplikácia vakcíny

INTRODUCTION

The need to improve constantly the immunoprophylaxis of rabies in domestic animals is reflected in the effort of a number of laboratories to find a rational and undemanding technological procedure for preparation of veterinary rabies vaccines – concentrated and purified – for parenteral administration (El-Karamany, 1987; Demetradze and Safarov, 1991; WHO, 1992). The method of affinity chromatography (Sakamoto et al., 1986) appears suitable also from the point of view of large-capacity production of effective and arectogenic rabies vaccine.

We used this method in our laboratory to prepare inactivated, concentrated, purified adjuvant rabies vaccine. The technology of preparation as well as results of testing of effectiveness – immunogenic activity – of this experimental vaccine were published recently (Süliová et al., 1997a).

The aim of the present study was to test the antigenic activity of the experimental vaccine in experiments carried out on the most important target species – domestic dogs. Its effectiveness was compared with some commercial rabies vaccines using conventional intramuscular (*i.m.*) application. With regard to the character of experimental vaccine (concentrated, purified), the

tests of effectiveness were conducted using also the non-traditional intradermal (*i.d.*) method of administration.

MATERIALS AND METHODS

VACCINES USED

1. Experimental vaccine inactivated, purified, concentrated, adjuvant (Süliová et al, 1997a).
2. Commercial – tissue rabies vaccine (live) Lyscelen, op. No. 960291 (producer Bioveta, Ivanovice na Haně, Czech Republic).
3. Commercial – tissue rabies vaccine, inactivated (adsorbed to Al(OH)₃ gel) Lyscelin, op. No. V 060291 (producer Bioveta, Ivanovice na Haně, Czech Republic).
4. Commercial – inactivated rabies vaccine (adsorbed to Al(OH)₃ gel) Rabisin, op. No. 00C321 (producer Rhône-Mérieux, France).

EXPERIMENTAL ANIMALS

The experiments were carried out on young dogs of various breeds as well as crossbreeds (42 dogs), 3–6 months old, which have not been subjected to vaccination previously.

IMMUNIZATION SCHEME

A) Comparison of antigenic activity of the experimental vaccine with commercial vaccines

1st group (6 dogs) – vaccine Lyscelen was administered *i.m.* to animals to the central third of the neck region at a dose of 3.0 cm³.

2nd group (6 dogs) – vaccine Lyscelin was applied *i.m.* at a dose of 2.0 cm³.

3rd group (6 dogs) – vaccine Rabisin was applied *i.m.* at a dose of 1 cm³.

4th group (6 dogs) – experimental vaccine with lipid adjuvant was applied *i.m.* at a dose of 1.0 cm³.

B) The influence of the method of administration on the effectiveness of experimental vaccine

1st group (6 dogs) – experimental vaccine with lipid adjuvant was administered *i.m.* at a dose of 1.0 cm³.

2nd group (6 dogs) – experimental vaccine with lipid adjuvant was administered *i.d.* to the inner thigh region at a dose of 0.1 cm³.

3rd group (6 dogs) – experimental vaccine with lipid adjuvant was administered *i.d.* at a dose of 0.2 cm³.

SAMPLING

Blood samples from vaccinated animals were obtained on days:

A) 14, 28, 60 and 90

B) 0, 14, 21, 28, 60, 90 and 450

SEROLOGICAL EXAMINATIONS – detection and quantification of rabies antibodies in the serum of experimental animals

Virus neutralization test (VNT) was carried out on mice by the method recommended by WHO (Atanasiu, 1973). The CVS virus strain at a dose of 50 MICLD₅₀ was used as a challenge virus.

ELISA test was carried out employing a kit developed in our laboratory (Beníšek et al., 1989; Süliová et al., 1994). An antispecies conjugate – peroxidase labelled rabbit antibodies to dog's IgG – RAD/IgG Px (Sigma, USA), was used.

Rapid fluorescence focus inhibition test (RFFIT) was carried out on eight-compartment Lab-Tek slides, by the method of Smith et al. (1973) in modification according to Závadová et al. (1996).

STATISTICAL EVALUATION OF RESULTS

Statistical evaluation of results of quantification of rabies antibodies level by the methods ELISA and RFFIT was carried out by means of the Student's *t*-test.

RESULTS

Results of titration of rabies antibodies at identical intramuscular administration of various vaccines, commercial and experimental (comparison of their effectiveness – antigenic activity), obtained by the methods of VNT and ELISA, are presented in Tab. I. The VNT results are presented as ED₅₀ values of the sera tested (i.e. a reciprocal value of dilution of tested sera, that protects 50% of animals – mice – against following challenge); the results of detection of antibodies by the ELISA test and RFFIT are expressed in equivalent units (UE) per cm³ – these are units equivalent to international units.

The results obtained indicate very good effectiveness (antigenic activity) of the experimental vaccine at intramuscular administration which surpasses the activity of commercial rabies vaccines tested. No significant differences (with the exception of live vaccine, $p < 0.025$) in the titres of antibodies in sera obtained on day 14 post vaccination were detected for vaccines mentioned above. Important is the difference observed on day 28. The average titre of antibodies in the group of animals immunized with the experimental vaccine was more than two-fold higher than that detected after vaccination with Rabisin and inactivated adjuvant vaccine, and three-fold higher in comparison with the live vaccine ($p < 0.005$). Similar result as those obtained on day 14 were recorded on days 60 and 90. Administration of the experimental vaccine and vaccine Rabisin resulted serum conversion in protective titres (titre of rabies anti-

I. Comparison of antigenic activity of experimental and commercial rabies vaccines. Results of rabies antibodies titrations by means VNT (expressed in ED₅₀) and ELISA (expressed in UE/cm³) methods*. Experiments on domestic dogs (6 dogs in each group)

Vaccine	14. day		28. day		60. day		90. day	
	VNT	ELISA	VNT	ELISA	VNT	ELISA	VNT	ELISA
Exp.	176.3	1.042 ± 0.235	204.0	1.981 ± 0.312	220.9	1.758 ± 0.370	110.0	0.865 ± 0.110
Live	91.8	0.603 ^x ± 0.256	105.3	0.601 ^{xx} ± 0.122	60.2	0.505 ^{xx} ± 0.091	50.2	0.390 ^{xx} ± 0.048
Inact.	153.3	0.876 ± 0.104	153.3	0.779 ^{xx} ± 0.237	98.2	0.625 ^{xx} ± 0.110	92.0	0.576 ^{xx} ± 0.086
Rab.	162.1	1.098 ± 0.202	162.1	0.902 ^{xx} ± 0.189	90.9	0.865 ^{xx} ± 0.155	105.1	0.708 ^x ± 0.068

* = Immunoenzyme technique – ELISA have been found to have a high degree of correlation with the *in vivo* mouse neutralisation test (WHO reference method). The correlation coefficient $r = 0.84$ ($n = 30$). (Institute Pasteur Production, 1981.)

x = $p < 0.025$

xx = $p < 0.005$

Exp. = experimental vaccine

Live = tissue commercial live vaccine Lyscelen

Inact. = tissue commercial inactivated vaccine Lyscelin

Rab. = tissue commercial inactivated vaccine Rabisin

bodies ≥ 0.5 UE/cm³) in all animals included in the respective groups.

The results of comparison of intramuscular and intradermal methods of administration of the experimental vaccine are presented in Tab. II (results of detection of antibodies by the ELISA test) and Tab. III (RFFIT). The results indicate that intradermal administration of 0.1 cm³ of the experimental vaccine was insufficient – the levels of rabies antibodies in the serum of majority of experimental animals were lower than the recommended minimum protective dose (0.5 UI/cm³) as early as on day 90 post vaccination. The dose of 0.2 cm³, applied intradermally, appeared suitable for inducing

sufficiently high protection level of rabies antibodies. This level persisted for 15 months post immunization and the level of antibodies did not decrease below 0.5 UE/cm³ in none of the animals tested. The results of detection of antibodies with the ELISA method were in good correlation with those obtained by the RFFIT method.

DISCUSSION

Inactivated, concentrated and purified rabies vaccine with its own lipid adjuvant was prepared in our laboratory using a simple, rational and inexpensive techno-

II. Results of titration of rabies antibodies (values expressed in UE/cm³) by the ELISA method in dogs vaccinated with the experimental vaccine at various methods of administration and different doses

Application mode	Dose	Days after vaccination						
		0	14	21	28	60	90	450
<i>i.m.</i>	1.0 cm ³	0.1	1.054 ± 0.088	1.324 ± 0.197	2.152 ± 0.529	1.648 ± 0.270	0.920 ± 0.103	n.d.
<i>i.d.</i>	0.1 cm ³	0.1	0.817 ± 0.594	0.907 ± 0.632	0.935 ^x ± 0.620	0.575 ^{xx} ± 0.302	0.451 ^{xx} ± 0.244	0.259 ± 0.163
<i>i.d.</i>	0.2 cm ³	0.1	1.533 ± 0.681	2.205 ± 0.844	2.165 ± 0.771	1.570 ± 0.428	1.275 ^x ± 0.235	0.632 ± 0.044

x = $p < 0.01$

xx = $p < 0.005$

n.d. = not done (for technical reasons)

Mean values from 6 dogs.

III. Results of titration of rabies antibodies (values expressed in UE/cm³) by the RFFIT in dogs vaccinated with the experimental vaccine at various methods of administration and different doses

Application mode	Dose	Days after vaccination						
		0	14	21	28	60	90	450
<i>i.m.</i>	1.0 cm ³	0.0	1.36 ± 0.11	1.45 ± 0.23	2.38 ± 0.15	1.84 ± 0.30	1.14 ± 0.14	n.d.
<i>i.d.</i>	0.1 cm ³	0.0	0.66 ^{xx} ± 0.31	0.83 ^x ± 0.39	0.83 ^{xx} ± 0.23	0.69 ^{xx} ± 0.19	0.53 ^{xx} ± 0.20	0.44 ± 0.19
<i>i.d.</i>	0.2 cm ³	0.0	1.63 ± 0.28	2.01 ^x ± 0.84	2.76 ± 0.33	2.13 ± 0.27	1.97 ^{xx} ± 0.38	1.08 ± 0.09

x = $p < 0.01$

xx = $p < 0.005$

n.d. = not done (for technical reasons)

Mean values from 6 dogs.

logical procedure (Süliová et al., 1997b). The effectiveness – immunogenic activity – of this vaccine fulfils, with considerable reserve, the requirements of WHO (1992) on rabies veterinary vaccines (Süliová et al., 1997a). In our experiments, aimed at comparison of antigenic activity of the experimental vaccine with commercially available preparations, we concentrated on the most important target animal species – domestic dogs. The conventional intramuscular application of vaccines showed higher potency compared to the commercial vaccines as far as both the induction and dynamics of production of antibodies are concerned. Some technical reasons prevented us from investigating the level of rabies antibodies in intramuscularly immunized dogs for more than 90 days after the vaccination, neither we had the opportunity to carry out challenge experiments. However, there is a close relationship between the level of rabies antibodies and protection of animals against the rabies virus. The best correlation was proved using the inactivated vaccines (Aubert, 1993). On the basis of WHO recommendation (criteria), in the case of pre-exposure immunization, the titre of rabies antibodies above 0.5 UI/cm³ is considered as protective as in humans (WHO, 1984) as in the animals (WHO, 1992; Sage et al., 1993). The yearly obligatory revaccination of dogs in Slovakia should ensure protection of the animals. According to the data of some authors, one dose of the vaccine is not always sufficient to maintain the necessary level of rabies antibodies in primo-vaccinated dogs for one year post immunization (Sage et al., 1993; Sihvonen et al., 1993, 1994, 1995). The authors mentioned recommend to administer a booster dose to primo-vaccinated dogs which should induce a long-lasting immunity.

Our experiments concerning the intradermal application of the purified, concentrated adjuvant vaccine showed that the dose of 0.2 cm³ is capable of inducing sufficiently high titres of antirabies antibodies in dogs persisting for more than one year. A titre lower than the required 0.5 UE/cm³ was not detected in any of the animals. The comparison of intradermal administration with the intramuscular method shows that it induces an accelerated onset of immunity and a more intensive antibody response. Similar conclusions were presented by Koutchoukali et al. (1985), who compared the effectiveness of highly potent adjuvant vaccine administered intradermally at a dose of 0.2 cm³ and intramuscularly at a dose of 1 cm³. The WHO report (1995) informs about the intradermal administration of human rabies vaccines to people vaccinated after the exposure. Various rabies vaccines have been applied in this way to exposed people in Philippines. Because it was post-exposure immunization it was necessary to use 5 doses of vaccine in dose 0.2 cm³ on 0, 3 and 7 day to different (more) places and on 30 and 90 day to one place. On 0 day it was administered also rabies immunoglobulin. Compared with 5 doses intramuscular regimen of vaccine application in dose 1.0 cm³ it was found earlier onset of protective rabies immunity and almost 3 times higher

average titer of virusneutralizing rabies antibodies on 7 and also 14 day after *i.d.* immunization (RFFIT method). Similar results have been obtained using the same way of vaccine application to exposed children in Thailand.

The advantage of intradermal administration in comparison with the intramuscular one is in a rapid onset of the production of antibodies and relatively high titres of antibodies in animals immunized, persisting for longer period of time. Important is also the economical point of view – decrease in the consumption of vaccine by 80 % as well as the simplification of immunization intervention – the possibility of the use of automatic needle-free applicators in mass vaccination programmes.

REFERENCES

- ATANASIU, P. (1973): Quantitative assay and potency test of antirabies serum and immunoglobulin. In: KAPLAN, M. – KOPROWSKI, H. (eds.): *Laboratory Techniques in Rabies*, 3rd ed. Geneva, WHO, 314–318.
- AUBERT, M. F. A. (1993): Can vaccination validated by the titration of rabies antibodies in serum of cats and dogs be an alternative to quarantine measures? Abstracts on Hygiene and Communicable Disease, 68, 6, R2–R22.
- BENÍŠEK, Z. – SÜLIOVÁ, J. – ŠVRČEK, Š. – ZÁVADOVÁ, J. (1989): ELISA test pre titraciu antirabičských protilátok. *Vet. Správy III*, No. 1–2, 25–27.
- DEMETRADZE, L. G. – SAFAROV, L. K. (1991): Rezultaty ispytaniya kulturalnoj antirabičeskoj vakciny. *Veterinarija*, 7, 24–26.
- EL-KARAMANY, R. M. (1987): Production in Vero cells of an inactivated rabies vaccine from strain FRV/K for animal and human use. *Acta Virol.*, 31, 321–328.
- INSTITUT PASTEUR PRODUCTION (1981): EIA Rage Pasteur – Rabies Antibody Enzyme Immunoassay, 21 pp.
- KOUTCHOUKALI, A. M. – BLANCOU, J. M. – COLL, J. L. – ELOIT, M. – TOMA, B. (1985): Vaccination antirabique rappel chez le chien. Sérologie comparée un an après vaccination intradermique ou sous-cutanée. *Rec. Méd. Vét.*, 161, 679–682.
- SAGE, G. – KHAWPLOD, P. – WILDE, H. – LOBAUGH, C. – HEMACHUDCHA, T. – TEPsumETHANON, W. – LUMLERDACHA, B. (1993): Immune response to rabies vaccine in Alaskan dogs: failure to achieve a consistently protective antibody response. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, 87, 593–595.
- SAKAMOTO, K. – OHKUMA, K. – KAWAHARA, T. – SAKOH, M. (1986): A method for purification of rabies virus. *Eur. Pat. Appl. No.* 86110047–9, 13 pp.
- SIHVONEN, B. L. – KULONEN, K. – SOVERI, T. – NIEMINEN, M. (1993): Rabies antibody titres in vaccinated reindeer. *Acta Vet. Scand.*, 34, 199–202.
- SIHVONEN, B. L. – KULONEN, K. – NEUVONEN, E. (1994): Immunization of cattle against rabies using inactivated cell culture vaccines. *Acta Vet. Scand.*, 35, 371–376.
- SIHVONEN, B. L. – KULONEN, K. – NEUVONEN, E. – PEKKANEN, K. (1995): Rabies antibodies in vaccinated dogs. *Acta Vet. Scand.*, 36, 87–91.

- SMITH, J. S. – YAGER, P. A. – BAER, G. M. (1973): A rapid reproducible test for determining rabies neutralizing antibody. *Bull. WHO*, *45*, 535–541.
- SÚLIOVÁ, J. – BENÍŠEK, Z. – ŠVRČEK, Š. – ĎUROVE, A. – ZÁVADOVÁ, J. (1994): Kvantifikácia hladiny antirabických protilátok v sére vakcinovaných ľudí. *Bratisl. Lek. Listy*, *95*, 73–77.
- SÚLIOVÁ, J. – BENÍŠEK, Z. – ŠVRČEK, Š. – ĎUROVE, A. – ONDREJKA, R. (1997a): The effectiveness of inactivated, purified and concentrated experimental rabies vaccine for veterinary use: immunogenic activity. *Vet. Med. – Czech*, *42*, 51–56.
- SÚLIOVÁ, J. – BENÍŠEK, Z. – ŠVRČEK, Š. – ZÁVADOVÁ, J. – PAUER, T. – ONDREJKA, R. – ĎUROVE, A. (1997b): Areactogenic metabolisable lipid adjuvant. In: Central European Conference on Modern Vaccinology „Vaccines and Immunization“, Pulawy (Poland), 6.–9. 5. 1997. Abstracts, P2–8.
- WHO (1984): Expert Committee on Rabies. 7th Report. 78 pp.
- WHO (1992): Expert Committee on Rabies. 8th Report. 87 pp.
- WHO (1995): Report of a WHO Consultation on Intradermal Application of Human Rabies Vaccines. Geneva, 13–14 March, 1995, 19 pp.
- ZÁVADOVÁ, J. – ŠVRČEK, Š. – MAĐAR, M. – ĎUROVE, A. (1996): Titrácia antirabických protilátok rýchlym fluorescenčným fokus inhibičným testom (RFFIT). *Vet. Med. – Czech*, *41*, 225–230.

Received: 97–06–20

Accepted after corrections: 97–11–12

Contact Address:

MVDr. Zdeněk Beníšek, CSc., Univerzita veterinárskeho lekárstva, Komenského 73, 041 81 Košice, Slovenská republika
Tel. +421 95 622 99 24, fax +421 95 632 36 66, e-mail: benisek@vsvnov.uvm.sk

**ULTRASONOGRAPHY IN VETERINARY OBSTETRICS
AND GYNECOLOGY****ULTRASONOGRAFIE VE VETERINÁRNÍM PORODNICTVÍ
A GYNEKOLOGII****J. Grygar, E. Kudláč***Slezan Hlučín, 1997. 247 s. 340 obr., 3 tab., 166 cit.*

Na trh odborných publikací v oblasti veterinární medicíny se v současné době dostává nové dílo autorů MVDr. Ivo Grygara, CSc. a Prof. MVDr. Eduarda Kudláče, DrSc. pod názvem Ultrasonografie ve veterinárním porodnictví a gynekologii. Toto ucelené dílo ve formě knihy o 247 stranách pojednává o teoretických základech ultrasonografie a praktickém využití této diagnostické metody ve veterinárním porodnictví a gynekologii.

Obecná část se zabývá významem, principy, metodami a způsoby využití sonografie. Autoři se zaměřují především na dynamický B-způsob ultrazvukového zobrazení, který nachází ve veterinárním porodnictví a gynekologii nejširší uplatnění. Popis používaných typů zařízení a sond dává přehled o současném trhu a je vhodnou pomůckou pro výběr ultrazvukového přístroje pro určité typy veterinární praxe. Výčet možných artefaktů s příslušnou dokumentací lze využít k vysvětlení obtížně interpretovaných nálezů. Závěrečná kapitola obecné části představuje konkrétní návod použití ultrazvukového zařízení ve veterinární praxi.

Ve speciální části knihy jsou jednotlivé kapitoly zaměřené na využití sonografie u jednotlivých druhů domácích zvířat. Za reprezentativní druhy zvířat byly vybrány klisny, krávy, malí přežvýkavci, prasnice, feny a kočky. Podrobně je popsána a zdokumentována sonografická diagnostika rozličných fyziologických i patologických stavů na pohlavním ústrojí. Nejrozsáhlejší úsek speciální části zaujímá bohatá a kvalitní dokumentace, která představuje 423 původních sonografických zobrazení a 9 fotografií. Ztěžející důraz je dán na rozlišení ovariálních struktur a diagnostiku gravidity. Přehledná úprava a kvalitní křídový papír odpovídá vysoké kvalitě publikace.

Knihy Ultrasonografie ve veterinárním porodnictví a gynekologii představuje exkluzivní doplňkovou literaturu k pregraduálnímu i postgraduálnímu studiu oboru veterinární porodnictví a gynekologie. Ve veterinární praxi ji lze přímo využít jako návod a průvodce k použití ultrasonografie. Toto je zvláště aktuální v současné době, kdy ultrazvuková diagnostika ve veterinární praxi zaznamenává výrazný rozvoj.

*Doc. MVDr. Radovan Doležel, CSc.
Klinika porodnictví, gynekologie a andrologie FVL VFU Brno*

NEOSPOROSIS IN DOGS: THE FIRST CASE REPORT IN THE CZECH REPUBLIC*

PRVNÍ PŘÍPAD NEOSPORÓZY PSŮ V ČESKÉ REPUBLICE

B. Koudela¹, M. Svoboda², C. Björkman³, A. Uggla⁴

¹ Parasitological Institute, Academy of Sciences of the Czech Republic, České Budějovice, Czech Republic

² University of Veterinary and Pharmaceutical Sciences, Brno, Czech Republic

³ Swedish University of Agricultural Sciences, Department of Cattle and Sheep Diseases, Uppsala, Sweden

⁴ National Veterinary Institute and Swedish University of Agricultural Sciences, Department of Parasitology, Uppsala, Sweden

ABSTRACT: *Neospora caninum* is a recently recognised cyst-forming coccidian parasite of dog and other animals. Until 1988 it was misdiagnosed as the closely related *Toxoplasma gondii*. Canine neosporosis often manifests as limb ataxia or paralysis in puppies and young dogs. It may also cause pneumonia, dermatitis, generalised neurological disease, and sudden collapse due to myocarditis in adult dogs. This paper presents the seroprevalence of antibodies to *N. caninum* in dogs from the Czech Republic and Slovak Republic. It also describes clinical findings in a seropositive dog. Serum samples were collected from a total 80 dogs (49 male, 31 females) submitted to the Small Animal Clinic at the University of Veterinary and Pharmaceutical Sciences in Brno and were not suspected to suffer from neosporosis. They were of different breeds, and their age varied between 3 months to 11 years. The sera were analysed for presence of antibodies to *N. caninum* with an ELISA utilising *N. caninum* proteins incorporated into iscoms as antigen, and monoclonal antibody to canine IgG as conjugate. Of 80 dog sera tested, one (1.25 %) was positive in the ELISA, having an absorbance value 2.0 (the cut-off value for the ELISA is > 0.2). The positive serum originated from a six-year-old male German wirehaired pointer used for hunting. Ten months after the first sample was taken for serological examination, a second serum samples was collected from the same dog. The two sera were analysed with an indirect fluorescent antibody test (IFAT) to detect antibodies to *N. caninum*. Both sera had a titer of 1 : 160 in the IFAT; a titer > 1 : 40 is indicative of *N. caninum* infection. Retrospective studies of the dog's records revealed that it had hypotrichosis and reduced ability to move when it was three year old. Haematological and biochemical examination findings then gave results within reference intervals. One year later the dog developed cutaneous lesions which have been diagnosed as a dermatophytosis, and in the following year hypothyroidism and ulcerative and fistulous cutaneous lesions due to secondary pyoderma were found. When the dog was recently the subject of a detailed clinical examination, it had a distinct weakness of the right foreleg but was otherwise in good condition. The clinical findings in this dog are similar to those previously reported in *N. caninum*-infected dogs from other parts of the world. This report extends the geographic range of *N. caninum* for the dog.

Neospora caninum; neosporosis; clinical signs; IFAT; ELISA

ABSTRAKT: Vyšetřením souboru 80 sér psů metodami IFAT a ELISA byla prokázána neosporóza u jednoho šestiletého loveckého psa plemene německý drátostrstý ohař (séroprevalence 1,25 %). Klinickým vyšetřením tohoto séropozitivního psa byly zjištěny dermatologické a nervové příznaky, které korespondují s popisem neosporózy psů v jiných zemích světa.

Neospora caninum; neosporóza; klinické příznaky; IFAT; ELISA

ÚVOD

Neospora caninum je nový druh kokcidie, který byl poprvé pozorován norskými autory (Bjerkås aj., 1984)

v nervové tkáni psa. Morfologie této kokcidie byla podobná cystám *Toxoplasma gondii*. Vyšetření séra tohoto psa však neprokázalo protilátky proti *T. gondii* a naznačovalo možnost existence jiného druhu kokcidie.

* Supported by the Commission of the European Union, COST 820 (Vaccination against animal coccidiosis) and by the Grant Agency of the Czech Republic (Grant No. 508/95/1417).

Po revizi rozsáhlého histopatologického materiálu ze psů, kteří uhynuli nebo byli utraceni za příznaků paralýzy a ze psů, u nichž byla diagnostikována toxoplazmóza na základě nálezů cyst v histologických řezech popsalí D u b e y aj. (1988a) morfologické rozdíly této kokcidie od *T. gondii* a nazvali ji *Neospora caninum*. Stejným autorům se podařilo izolovat *N. caninum* z tkání psa a úspěšně ji kultivovat v tkáňové kultuře (izolát NC-1) – D u b e y aj. (1988b). Kultivace pak umožnila jednoznačně prokázat antigenní a ultrastrukturální rozdíly mezi *N. caninum* a *T. gondii*. Současně byla vyvinuta metoda nepřímé imunofluorescence (IFAT) pro intravitální diagnostiku neosporózy (D u b e y aj., 1988b) a následně také imunohistochemický test, který umožňuje postmortální průkaz cyst *N. caninum* v histologických řezech tkání (L i n d s a y a D u b e y, 1989). Tímto testem bylo retrospektivně prokázáno, že kokcidie popsaná norskými autory v nervové tkáni psa (B j e r k å s aj., 1984) byla *N. caninum* (B j e r k å s a D u b e y, 1991).

Neosporóza se klinicky manifestuje u ščňat a mladých psů ataxií nebo parézou pánevních končetin, které se mohou rozšířit i na hrudní končetiny a na svaly krku a hlavy (C u d d o n aj., 1992; B a r b e r a T r e e s., 1996; D u b e y a L i n d s a y, 1996). U starších psů jsou klinické příznaky rozmanitější a neosporóza se projevuje jako nervové onemocnění spojené s paralýzou končetin (B a r b e r a T r e e s., 1996; D u b e y a L i n d s a y, 1996; P u m a r o l a aj., 1996), myokarditida a pneumonie (G r e i g aj., 1995; R u e h l m a n n aj., 1995) nebo jako dermatitida doprovázející nevýrazně nervové příznaky (D u b e y aj., 1988a; 1995).

Obsahem tohoto sdělení jsou výsledky sérologického vyšetření psů a výsledky klinického vyšetření prvního sérologicky potvrzeného případu neosporózy psa v podmínkách České republiky.

MATERIÁL A METODY

Testovaná séra

Na přítomnost protilátek proti *N. caninum* jsme testovali séra 80 psů; jednalo se o ambulantní, popř. hospitalizované pacienty I. interní kliniky Veterinární a farmaceutické univerzity v Brně. Vzorky krve byly shromážděny v období od srpna 1995 do konce ledna 1997. V souboru vyšetřovaných psů obou pohlaví (49 psů, 31 fen) bylo zastoupeno celkem 15 plemen a kříženců. Věk vyšetřovaných zvířat se pohyboval od tří měsíců do 11 let. Většina psů (65 %) pocházela z brněnské aglomerace, zbytek tvořili pacienti z různých částí České republiky (z ČR pocházelo celkem 77 zvířat) a Slovenské republiky (tři pacienti). Po zjištění podrobné anamnézy byli psi klinicky vyšetřeni a poté prošli individuálně rozdílným systémem paraklinických a klinických vyšetření zaměřených na stanovení diagnózy a kontrolu terapie.

Více než polovina (52,4 %) psů zahrnutých do sledování byli pacienti s dermatologickým problémem, násled-

ovalo postižení gastrointestinálního traktu, endokrinní poruchy, nemoci srdce, nefropatie a nemoci dolních cest močových. V řadě případů byla prokázána různě výrazná imunodeficiency. Příznaky postižení nervového a pohybového aparátu byly zaznamenány pouze u osmi vyšetřovaných psů.

Příprava antigenu

Tachyzoity *N. caninum* (izolát NC-1) jsme kultivovali v tkáňové kultuře buněk opičích ledvin (E6 Vero) v RPMI 1640 médiu (Sigma) s 2 % fetálního séra (Sigma) a antibiotiky (50 µg/ml streptomycinu a 50 IU/ml penicilinu G) – T r e e s aj. (1993). Tachyzoity jsme purifikovali centrifugací (2 000 g po dobu 10 minut) v 30% izotonickém roztoku Percollu (Pharmacia, Švédsko) a následným promytím ve sterilním fosfátovém pufru (pH 7,2; PBS) – B j ö r k m a n aj. (1994a).

ELISA

Pro detekci protilátek metodou ELISA jsme použili antigen extrahovaný z tachyzoitů *N. caninum* navázaný na iscoms (*immunostimulating complexes*) částice (B j ö r k m a n aj., 1994a). Iscom antigen naředěný ve vazném pufru (Sigma; 3 µg proteinu na 1 ml) byl navázan na destičku (Nunc, Švédsko) v množství 100 µl na jamku. Séra naředěná 1 : 100 v PBS-T (PBS a 0,05% Tween-20) v množství 100 ml na jamku jsme inkubovali 60 min při teplotě 37 °C. Jako sekundární protilátku jsme použili myší monoklonální protilátku proti psím IgG (National Veterinary Institute, Uppsala, Švédsko) ředěnou 1 : 100 v PBS-T s 1 % králičího séra. K vlastní detekci jsme použili křenovou peroxidázou značenou králičí protilátku proti myším Ig (Dakopatts, Dánsko) v ředění 1 : 5 000. Po hodinové inkubaci při teplotě 37 °C a následném promytí PBS-T jsme do každé jamky přidali substrát (0,1 mg/ml tetrametylbendidinu a 0,006% H₂O₂ v 0,01M acetátovém pufru, pH 5,0 – National Veterinary Institute, Uppsala, Švédsko) a po 10 min inkubace při teplotě laboratorně jsme reakce přerušili přidáním 50 µl 10% kyseliny sírové. Destičky jsem následně vyhodnocovali při 450 nm na zařízení Multiscan PLUS Microplate Reader (Labsystem AB, Švédsko). Jako *N. caninum* pozitivní (cut off value) byla posuzována séra s absorbcí vyšší než 0,2 při 450 nm (B j ö r k m a n aj., 1994a).

IFAT

Jako antigen pro IFAT jsme použili purifikované tachyzoity *N. caninum*. Podložní sklíčka s 20 jamkami určená pro IFAT jsme odmastili etanolem a do každé jamky jsme nanесли 10⁵ tachyzoitů *N. caninum*. Po zaschnutí jsme tachyzoity fixovali v acetonu a uložili je při teplotě -20 °C. Testovaná séra jsme ředili dvojkovou řadou od ředění 1 : 20 a séra psů infikovaných a neinfikovaných *N. caninum* jsme použili jako pozitivní a negativní kontroly. Jako konjugát jsme použili

FITC značenou králičí protilátkou proti psím IgG (Sigma) v ředění 1 : 100 v PBS. Jako pozitivní byla posuzována séra s výraznou periferní fluorescencí tachyzoitů v ředění 1 : 80 a vyšším (Björkman aj., 1994b).

VÝSLEDKY

Výsledky sérologického vyšetření

Metodou ELISA jsme zjistili protilátky proti *N. caninum* (absorbance vyšší než 0,2) u jednoho psa z 80 vyšetřovaných (1,25 %). V tomto séru jsme metodou IFAT prokázali *N. caninum* protilátky v ředění 1 : 160. V ostatních sérech jsme *N. caninum* protilátky nezjistili ani jednou z použitých metod.

Pes, u kterého jsme prokázali přítomnost protilátek proti *N. caninum*, byl opakovaně sérologicky vyšetřen po deseti měsících od prvního vyšetření. Oběma metodami (ELISA a IFAT) jsme v séru tohoto psa opět prokázali protilátky proti *N. caninum* ve stejných hodnotách jako při prvním vyšetření.

Chovatelská anamnéza

Pes, u kterého jsme opakovaně zjistili přítomnost protilátek proti *N. caninum*, je německý drátosrstý ohař samčího pohlaví, ve věku šesti let a o hmotnosti 29 kg. Je to pes vyvíčený k loveckým potřebám a od věku dvou let se pohyboval v polní honitbě na Břeclavsku. Běžně přicházel do styku s volně žijícími savci a ptáky. Byl krmen nemraženými jatečnými odpady s převahou vepřového mletého masa.

Anamnéza zdravotní

Pes byl pravidelně vakcinován proti běžným virózám a leptospiróze. Ve věku tří let bylo u ohaře pozorováno zvýšené vypadávání srsti s následnou hypotrichózou v oblasti beder, ušních boltečů a dorsu nosním. V tomto období byl pacient méně pohyblivý a majitel pozoroval kulhání na pravou hrudní končetinu. V následujících dvou letech (1994 až 1996) byly diagnostikovány dermatofytní plísňe (*Microsporium canis*) a po opakovaném ošetření antimykotickými koupelemi (IMAVEROLTM, Janssen Pharmaceutica) se stav upravil vždy na dobu asi 10 měsíců.

Na jaře 1996, kdy byl odebrán první vzorek krve k sérologickému vyšetření, došlo k opětovné hypotrichóze postihující trup i proximální části končetin. Pes dále trpěl chronickými otlaky (tylomy), které byly sekundárně infikovány bakteriemi. Hodnoty triasu ani celkový stav pacienta nebyly výrazně alterovány, s výjimkou anamnestického kulhání na pravou hrudní končetinu. Byla diagnostikována hypotyreóza a pes byl léčen udržovací dávkou L-thyroxinu (10 µg/kg ž. hm. denně). Následně byl v bederní krajině zjištěn pomalu rostoucí alopetický výrůstek o průměru 15 mm, který byl odepřeván místním veterinárním lékařem v září 1996.

Laboratorní nálezy

Hematologické a biochemické vyšetření krve a moči (sledováno základních 32 parametrů) provedené v březnu 1996 neprokázalo odchylky od rozmezí referenčních hodnot.

Pouze hodnota celkového thyroxinu (T_4) se pohybovala v rozmezí 11,8 až 8,4 nmol/l. Dynamicky funkční vyšetření (TRH-stimulační test) nebylo provedeno a substituce hormonu štítné žlázy byla zahájena na základě snižující se hladiny celkového thyroxinu. Dlouhodobá léčba hypotyreózy omezila výskyt dermatologických příznaků, ale přetrvávaly epizody kulhání na pravou hrudní končetinu.

DISKUSE

Neosporóza psů byla diagnostikována v mnoha zemích všech světadílů (Dubey a Lindsay, 1996). V naší studii jsme zjistili protilátky proti *N. caninum* u jednoho psa z 80 vyšetřovaných (séroprevalence 1,25 %) a potvrdili jsme výskyt této kokcidie v České republice. Sérologická vyšetření souborů psů v jiných zemích prokázala výskyt protilátek proti *N. caninum* u 0,25 až 16,6 % psů (Lindsay aj., 1990; Trees aj., 1993; Björkman aj., 1994b; Rasmussen a Jensen, 1996). Ve všech těchto studiích byla séra psů vyšetřována metodou IFAT při použití tachyzoitů *N. caninum* z tkáňové kultury jako antigenu. V naší práci jsme pro vyšetření sér použili metodu ELISA s antigenem navázaným na iscoms (immunostimulating complexes) částice, která je vhodná pro vyšetřování většího počtu sér (Björkman aj., 1994a). Protilátky proti *N. caninum* v séru jsme následně potvrdili vyšetřením metodou IFAT.

Lindsay aj. (1990) zjistili při vyšetření sér 229 psů v Kansasu (USA) u jednoho titr 100, u dvou jiných psů titr 200 a dvou dalších psů titr protilátek 400. Ve Velké Británii popisují Trees aj. (1993) protilátky proti *N. caninum* v ředění 1 : 50 u 50 psů, 1 : 100 u osmi psů, 1 : 800 u devíti psů a 1 : 3 200 u čtyř psů z celkového počtu 163 vyšetřených a Lathe (1994) našel protilátky proti *N. caninum* v titru 50 u šesti psů ze 104 vyšetřovaných. Björkman aj. (1994b) považují za diagnostický titr při metodě IFAT hodnotu 80 a uvádějí tento titr pouze u jednoho psa z 398 vyšetřených sér psů ve Švédsku. V Dánsku zjistili Rasmussen a Jensen (1996) metodou IFAT protilátky proti *N. caninum* u 13 z 98 vyšetřovaných (séroprevalence 13,3 %). Ve dvou případech byl titr protilátek 320 a v dalších sérech pak zjistili specifické protilátky v ředění 1 : 160. V našem případě jsme zjistili metodou IFAT v séru pozitivního psa opakovaně (v rozmezí 10 měsíců) titr 160.

Dubey a Lindsay (1996) shrnuli svoje zkušenosti se sérologickou diagnostikou neosporózy psů a uvádějí, že ve všech případech klinické neosporózy psů byl titr protilátek při metodě IFAT vyšší než 200. Dubey a Lindsay (1996) rovněž zpracovali dostupné údaje

o klinických příznacích neosporózy psů. Z jejich přehledu je zřejmé, že u fatálních případů neosporózy štěňát a neosporózy mladých psů převažují nervové klinické příznaky. Kožní léze ve spojitosti s neosporózou jsou popisovány u psů starších (6, 12 a 15 roků). Přímou v zánětlivém exsudátu z těchto kožních lézí prokázali D u b e y a j. (1988a, 1995) tachyzoity *N. caninum*. V našem případě jsme exudát z kožních lézí na přítomnost tachyzoitů *N. caninum* nevyšetřovali a neměli jsme ani možnost extirpovaný novotvar histologicky vyšetřit.

Vývojový cyklus kokcidie *N. caninum* není doposud objasněn. Vzhledem k podobnosti s jinou heteroxenní kokcií *T. gondii* se všeobecně uvažuje o dvouhostitelském charakteru *N. caninum* a předpokládá se, že definitivním hostitelem *N. caninum* je volně žijící masožravec (D u b e y a L i n d s a y, 1996). Pes, u kterého jsme prokázali neosporózu je intenzivně využívan k loveckým účelům a je krměn syrovým masem.

Třebaže u našeho pacienta nebyla jednoznačně potvrzena souvislost mezi kožními, resp. nervovými příznaky a neosporózou, průkaz specifických protilátek proti *N. caninum* potvrzuje výskyt tohoto onemocnění v České republice. S neosporózou psů, ale i skotu, je proto nutno počítat také v klinické praxi českého veterinárního lékaře.

Poděkování

Autoři jsou zavázáni dr. J. P. D u b e y o v i (Agricuture Research Service, US Department of Agriculture, Beltsville, MD, USA) za poskytnutí kmene *N. caninum* NC-1.

LITERATURA

BARBER, J. S. – TREES, A. J. (1996): Clinical aspects of twenty-seven cases of neosporosis in dogs. *Vet. Rec.*, 139, 439–443.

BJERKÅS, I. – MOHN, S. F. – PRESTHUS, J. (1984): Unidentified cyst-forming sporozoon causing encephalomyelitis and myositis in dogs. *Z. Parasitenkd.*, 70, 271–274.

BJERKÅS, I. – DUBEY, J. P. (1991): Evidence that *Neospora caninum* is identical to the *Toxoplasma*-like parasite of Norwegian dog. *Acta Vet. Scand.*, 32, 407–410.

BJÖRKMAN, C. – LUNDÉN, A. – HOLMDAHL, O. J. M. – BARBER, J. S. – TREES, A. J. – UGGLA, A. (1994a): *Neospora caninum* in dogs: detection of antibodies by ELISA using an iscoms antigen. *Parasite Immunol.*, 16, 643–648.

BJÖRKMAN, C. – LUNDÉN, A. – UGGLA, A. (1994b): Prevalence of antibodies to *Neospora caninum* and *Toxoplasma gondii* in Swedish dogs. *Acta Vet. Scand.*, 35, 445–447.

CUDDON, P. – LIN, D. S. – BOWMAN, D. D. – LINDSAY, D. S. – MILLER, T. K. – DUNCAN, I. D. – DELAHUNTA, A. – CUMMINGS, J. – SUTER, M. – COOPER, B. – KING, J. M. – DUBEY, J. P. (1992): *Neospora caninum* infection in English Springer Spaniel littermates: Diagnostic evaluation and organism isolation. *J. Vet. Intern. Med.*, 6, 325–332.

DUBEY, J. P. – CARPENTER, J. L. – SPEER, C. A. – TOPPER, M. J. – UGGLA, A. (1988a): Newly recognized fatal protozoan disease of dogs. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, 192, 1269–1285.

DUBEY, J. P. – HATTEL, A. L. – LINDSAY, D. S. – TOPPER, M. J. (1988b): Neonatal *Neospora caninum* infection in dogs: isolation of causative agent and experimental transmission. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, 192, 1259–1263.

DUBEY, J. P. – LINDSAY, D. S. (1996): A review of *Neospora caninum* and neosporosis. *Vet. Parasitol.*, 67, 1–59.

DUBEY, J. P. – METZGER, F. L. J. – HATTEL, A. L. – LINDSAY, D. S. – FRITZ, D. L. (1995): Canine cutaneous neosporosis: clinical improvement with clindamycin. *Vet. Dermatol.*, 6, 37–43.

GREIG, B. – ROSSOW, K. D. – COLLINS, J. E. – DUBEY, J. P. (1995): *Neospora caninum* pneumonia in a adult dog. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, 206, 1000–1001.

LATHE, C. L. (1994): *Neospora caninum* in British dogs. *Vet. Rec.*, 134, 532.

LINDSAY, D. S. – DUBEY, J. P. (1989): Immunohistochemical diagnosis of *Neospora caninum* in tissue sections. *Am. J. Vet. Res.*, 50, 1981–1983.

LINDSAY, D. S. – DUBEY, J. P. – UPTON, S. J. – RIDLEY, R. K. (1990): Serological prevalence of *Neospora caninum* and *Toxoplasma gondii* in dogs from Kansas. *J. Helminthol. Soc. Wash.*, 57, 86–88.

PUMAROLA, M. – ANOR, S. – RAMIS, A. J. – BORRAS, D. – GORRAIZ, J. – DUBEY, J. P. (1996): *Neospora caninum* infection in a Napolitan mastiff dog from Spain. *Vet. Parasitol.*, 64, 315–317.

RASMUSSEN, K. – JENSEN, A. L. (1996): Some epidemiological features of canine neosporosis in Denmark. *Vet. Parasitol.*, 62, 345–349.

RUEHLMANN, D. – PODELL, M. – OGLESBEE, M. – DUBEY, J. P. (1995): Canine neosporosis: A case report and literature review. *J. Am. Anim. Hosp. Assoc.*, 31, 174–183.

TREES, A. J. – GUY, F. – TENNANT, B. J. – BALFOUR, A. H. – DUBEY, J. P. (1993): Prevalence of antibodies to *Neospora caninum* in a population of urban dogs in England. *Vet. Rec.*, 132, 125–126.

Received: 97–05–28

Accepted after corrections: 97–10–27

Kontaktní adresa:

MVDr. Břetislav K o u d e l a, CSc., Parazitologický ústav AV ČR, Branišovská 31, 370 05 České Budějovice, Česká republika
Tel. +420 38 411 58, fax +420 38 477 43, e-mail: koudela@paru.cas.cz

DIFFERENTIAL ANTIGENS OF LEUKOCYTES OF DOG, CAT, HORSE, PIG AND RUMINANTS*

DIFERENCIAČNÍ ANTIGENY LEUKOCYTŮ PSA, KOČKY, KONĚ, PRASETE A PŘEŽVÝKAVCŮ

M. Faldyna

Veterinary Research Institute, Brno, Czech Republic

ABSTRACT: Differential antigens or clusters of differentiation (CD antigens) are molecules on the surface of cells, which are bound with immunity system, having different functions. Two important diagnostic tools – cell fusion techniques and flow cytometry – helped to develop the knowledge about these antigens. Knowledge of CD antigens and subpopulations of animal leukocytes is employed for the study of diseases' pathogenesis. Results from literature about the distribution of CD antigens of leukocytes of dog, cat, horse, pig and ruminants are summarized in this paper.

dog; cat; horse; pig; ruminants; subpopulations

ABSTRAKT: Diferenciační, neboli CD antigeny jsou molekuly na povrchu buněk svázaných s imunitním systémem a mají různé funkce. Rozvoji poznání těchto antigenů pomohlo zavedení dvou významných diagnostických nástrojů – hybridomové technologie a průtokových cytometrů. Znalosti o CD antigenech hospodářských zvířat a fyziologických poměrech zastoupení jednotlivých subpopulací leukocytů v periferní krvi a lymfoidních orgánech se využívá ke studiu patogenese onemocnění buď přímo imunitního systému, nebo onemocnění, v jejichž rozvoji se účastí imunitního systému předpokládá, anebo konečně onemocnění, jejichž následkem je snížení aktivity nebo jiné poškození imunitního systému. V práci jsou shrnuty literární poznatky o distribuci CD antigenů leukocytů psů, koček, koní, prasat a přežvýkavců.

pes; kočka; kůň; prase; přežvýkavci; subpopulace

ÚVOD

Diferenciační neboli CD (cluster of differentiation) antigeny jsou molekuly na povrchu buněk úzce svázané s funkcí imunitního systému. Objevují se v různých fázích vývoje nebo aktivace buňky, některé mají funkci adhezivní, jiné jako receptory pro antigen, frakce komplementu, interleukiny nebo jiné biologicky aktivní látky. Strukturálně se může jednat o monomery, kovalentně vázané nebo nevázané homodimery nebo heterodimery. Podle jejich orientace v membráně se dají rozlišit čtyři typy.

Rozvoji poznání těchto antigenů napomohlo zavedení dvou významných diagnostických nástrojů. V roce 1975 popsali Köhler a Milstein hybridomovou technologii, metodu přípravy monoklonálních protilátek pomocí fúze buněk nádorové linie se splenocyty nebo lymfocyty z imunizované myši nebo krysy. Za tento objev získali v roce 1984 Nobelovu cenu. Dále to

byl vývoj a zavedení průtokových cytometrů, které jsou schopné analyzovat vlastnosti jednotlivých buněk při jejich průchodu laserovým paprskem, a to až rychlostí 5 000 buněk za sekundu. Kombinací analýzy objemu buňky a rozptylu paprsku vyvolaného stupněm granulace cytoplazmy se dají snadno odlišit jednotlivé typy leukocytů. Inkubační buněk s monoklonální protilátkou, která byla konjugována fluorochromem, se získají informace o procentu buněk ze sledované populace, které mají na svém povrchu daný antigen vyjádřen i v jakém množství je tento antigen přítomen, tj. exprimován. Současným použitím několika monoklonálních protilátek konjugovaných fluorochromy o různém emisním spektru se dají získat informace o různých antigenech exprimovaných na jednotlivých buňkách.

Rozvoj výzkumu povrchových antigenů leukocytů si vynutil zavedení určitého systému klasifikace. Za tímto účelem se uskutečnilo v roce 1982 v Paříži první pracovní setkání o lidských leukocytárních antigenech, kde byl za-

* Supported by the Grant Agency of the Czech Republic (Grants Nos. 524/96/0267 and 524/97/0948).

ložen CD systém. V současné době je popisováno na povrchu lidských leukocytů přes 160 CD antigenů.

Přehled exprese nejdůležitějších CD antigenů na povrchu lidských leukocytů:

všechny leukocyty	CD45
všechny T lymfocyty	CD2
maturované T lymfocyty	CD3
T lymfocyty – pomahačské	CD4
T lymfocyty – cytotoxické	CD8
všechny B lymfocyty	CD19, CD20
maturované B lymfocyty	CD21
NK buňky, přirození zabijáci	CD16, CD56
neutrofilní granulocyty	CD13, CD66, CD15
monocyty	CD14, CD13

Faktu, že povrchové antigeny jsou charakteristické pro určité subpopulace buněk, jejich stadium diferenciací nebo aktivace, se využívá při fenotypizaci leukocytů. Základní metody umožňující fenotypizaci jsou dvě: průtoková cytometrie a imunohistochemie. Průtoková cytometrie je vhodná pro buněčné suspenze, je schopná analyzovat velké množství buněk v krátkém čase, umožňuje uplatnit víceparametrovou analýzu jednotlivých buněk. Nevýhodou je nutnost pracovat s čerstvým materiálem a fakt, že pořízení přístrojové vybavení je nákladná záležitost. Imunohistochemie je vhodná pro buněčné nátery a histologické preparáty. Výhodou je možnost vizuálního posouzení morfologie a tkáňové lokalizace sledovaných buněk. Další výhodou je možnost skladovat vzorky před vyšetřením ve zmrazeném stavu.

Fenotypizace leukocytů je důležitý nástroj, který se dá využít k řadě diagnostických nebo studijních stanovení:

1. Stanovení subpopulací leukocytů jako jeden z parametrů imunokompetence organismu. Jedinec může být primárně (vrozeně) nebo sekundárně (získané) imunosuprimován.
2. Stanovení subpopulací leukocytů před onemocněním, v průběhu a po onemocnění ke studiu etiologie, patogeneze a následků tohoto onemocnění. Některá onemocnění se rozvíjejí jen v případě imunosuprimovaného pacienta, u jiných je imunosuprese následek tohoto onemocnění a konečně existují také onemocnění postihující přímo imunitní systém.
3. Stanovení fenotypu nádorových buněk. V případě nádorů hemopoetické tkáně může jedna subpopulace zcela vytláčet subpopulace ostatní. Dále může dojít k tzv. asynchronní expresi, tj. koexpresi časných (vyskytujících se v časné fázi vývoje buňky) a pozd-

ních znaků. Dalším jevem je vyjádření aberantních znaků, což je přítomnost znaků typických pro určitou buněčnou linii na buňkách linie jiné.

Funkcí jednotlivých antigenů, a tím i různých subpopulací lymfocytů, se zabývá řada vědeckých prací a review (Mosmann aj., 1986; Mosmann a Coffman, 1989; Bierer aj., 1989; Parnes, 1989; Haas aj., 1990; Rudd, 1990; Cox a Liew, 1992; Koubek, 1992).

Cílem této práce je podat přehled o úrovni znalostí v oblasti leukocytárních antigenů domácích a hospodářských zvířat s přihlédnutím k odlišnostem u jednotlivých druhů.

PES

V roce 1992 popsali Gebhard a Carter pět monoklonálních protilátek proti povrchovým lymfocytárním antigenům psa. Jedna z nich se vážala s antigenem společným všem T lymfocytům (pan-T lymfocytární antigen), dvě se vážaly s antigenem CD4 a dvě s antigenem CD8 (Gebhard a Carter, 1992). Jinými autory byly popsány další protilátky proti antigenům CD4 a CD8 (Moore aj., 1992; Voss aj., 1993).

Mezníkem ve studiu CD antigenů psa byl 1. mezinárodní workshop v Cambridgi v roce 1993 (Cobbold a Metcalfe, 1994). Zde bylo testováno 127 monoklonálních protilátek připravených v 29 laboratořích celého světa. Byly charakterizovány protilátky definující antigeny CD5, CD4, CD8 a Thy-1 na T lymfocytech, dále skupinu CD11/18, CD44 a CD45/45R. Blíže definovány byly také protilátky vážající se na krevní destičky (asi CD41), na B lymfocyty a na granulocyty (patrně CD15). Velká skupina protilátek se vážala na MHC-II antigen (Cobbold a Metcalfe, 1994).

Antigen Thy-1, považovaný za marker T lymfocytů, je exprimován u psů také na části monocytů a granulocytů periferní krve a epitelích ledvinových kanálků (Cobbold a Metcalfe, 1994). Metodou imunohistochemie byl nalezen také na některých tkáňových strukturách, jako je fibroblast, retikulární buňky a také obal periferních nervů (Rabanaal aj., 1995). Naopak antigen Thy-1 nebyl nalezen na tkáňových makrofázích ani granulocytech. Tento rozdíl od buněk v periferní krvi autoři vysvětlují buď ztrátou tohoto antigenu při

I. Zastoupení subpopulací lymfocytů v periferní krvi psa (%) – Distribution of lymphocyte subpopulations in the peripheral blood of dog (%)

Citace ¹	panT	CD5*	CD4*	CD8*	CD4/CD8
Gebhard a Carter (1992)	60,0 ± 9,0	–	39 ± 8	18,0 ± 7,0	–
Moore aj. (1992)	–	–	46,4 ± 8,1	16,4 ± 8,8	–
Dirscherl aj. (1995)	–	71,0 ± 10,4	40,0 ± 7,5	19,0 ± 3,6	2,2 ± 0,3
Chabanne aj. (1995)	63,5 ± 12,5	82,5 ± 4,8	47,5 ± 8,8	19,3 ± 4,0	2,6 ± 0,8
Rivas aj. (1995)	–	–	27,9–33,6	17,7–18,6	1,6–1,8

¹reference

opuštění periferní krve nebo tím, že exprese antigenu je tak nízká, že metodou imunohistochemie nemohl být detekován (Rabanaal aj., 1995). Jako lepší charakteristický znak pro T lymfocyty je patrně antigen CD5, který, na rozdíl od exprese u lidí a hadavců, není u psů exprimován na žádných B lymfocytech. T lymfocyty se podle míry exprese CD5 dále dají rozdělit na větší skupinu buněk s vysokou expresí (jsou také CD4⁺ nebo CD8⁺) a menší skupinu buněk s nižší expresí (reprezentují gama/delta buňky nebo NK-populaci) – Cobbold a Metcalfe (1994).

Monoklonálních protilátek definovaných na workshopu je různými autorskými kolektivy využíváno ke studiu zastoupení subpopulací lymfocytů v periferní krvi i v různých orgánech jak dokumentují tab. I až III. Závislost na věku sledovali na skupině 47 labrador-retrieverů Greeley aj. (1996) a dospěli k výsledkům prezentovaným v tab. IV.

Rabanaal aj. (1995) popisují výsledky imunohistochemické detekce leukocytů pomocí monoklonálních protilátek ve tkáních psa. Z jejich výsledků je patrné,

že všechny lymfocyty parakortikálních a interfolikulárních oblastí mízních uzlin, tonzil, Peyerových plaků a marginálních zón sleziny byly CD5⁺/Thy-1⁺, 70 až 80 % bylo CD4 a 20 až 30 % bylo CD8 pozitivních. V thymu byl poměr CD4/CD8 3 : 2, neboť protilátkou proti CD4 antigenu byl značen i povrch epiteliálních buněk thymu. Na druhou stranu nezjistili antigen CD4 na granulocytech, což kontrastuje s nálezy autorů Moore aj. (1992) na granulocytech periferní krve. Tito autoři totiž popisují vysokou frekvenci CD4 na nestimulovaných neutrofilech jako jev odlišný od exprese tohoto antigenu u ostatních savčích druhů.

U antigenu CD18 se předpokládá velký význam v tkáňovém tropismu psích epidermotropních lymfosarkomů. Bylo totiž sledováno zvýšení exprese tohoto antigenu na psích T buňkách, které infiltrovaly epidermis (Moore aj., 1990). Je popsána různá intenzita exprese komplexu CD11/18 na různých typech buněk. Nejvyšší exprese byla zaznamenána na granulocytech, nejslabší na lymfocytech, kde na T liniích buněk byla zaznamenána vyšší exprese (Danilenko aj., 1992). Byla též po-

II. Zastoupení subpopulací lymfocytů v tkáních psa (%) – Distribution of lymphocyte subpopulations in tissues of dog (%)

Citace ¹	Tkáň ²	CD4 ⁺	CD8 ⁺	CD4/CD8
Moore aj. (1992)	thymocyty ³			
	malé ⁴	4,4 ± 1,9	2,6 ± 3,5	87,6 ± 8,8
	velké ⁵	25,4 ± 6,2	9,5 ± 2,9	32,8 ± 7,5
	slezina ⁶	4,5 ± 3,8	12,1 ± 5,5	0,4 ± 0,3
Gebhard a Carter (1992)	thymus ⁷	74 ± 7	59 ± 13	–
	slezina	12 ± 4	6 ± 3	–
	kostní dřev ⁸	13	<2	–
	mízní uzlina ⁹	26 ± 8	9 ± 1	–
Voss aj. (1993)	thymus	–	81	–
	slezina	–	24	–
Rivas aj. (1995)	thymus	77,3	68,9	–

¹reference, ²tissue, ³thymocytes, ⁴small, ⁵large, ⁶spleen, ⁷thymus, ⁸bone marrow, ⁹lymphatic gland

III. Zastoupení subpopulací lymfocytů v bronchoalveolární laváži psa (%) – Distribution of lymphocyte subpopulations in the bronchoalveolar lavage of dog (%)

Citace ¹	panT	CD5 ⁺	CD4 ⁺	CD8 ⁺	CD4/CD8
Dirschler aj. (1995)	–	75,0 ± 10,5	36,0 ± 8,6	29,5 ± 12,0	1,3 ± 0,6
Vail aj. (1995)	52,0 ± 2,5	–	21,9 ± 6,4	17,8 ± 5,0	1,3 ± 0,5

¹reference

IV. Vliv věku na zastoupení subpopulací lymfocytů psa v % (Greeley aj., 1996) – Effect of age on the distribution of lymphocyte subpopulations in dog (%)

Věk (roky) ¹	2,4	5,8	9,1
B lymfocyty ²	16,3 ± 4,0	11,4 ± 4,2	12,4 ± 4,6
T lymfocyty ³	78,6 ± 4,8	86,1 ± 4,4	85,7 ± 3,6
CD4 ⁺	46,8 ± 4,8	44,6 ± 6,5	43,0 ± 4,7
CD8 ⁺	24,8 ± 7,0	33,4 ± 6,0	29,0 ± 6,8

¹age (years), ²B-lymphocytes, ³T-lymphocytes

psána deficiencie adhezivních molekul CD11/18 u plemene irský setr a jeho kříženců (Giger aj., 1987; Trowald-Wigh aj., 1992, 1993).

Jednou z prací, která využívá monoklonálních protilátek a znalosti o fyziologických poměrech v zastoupení subpopulací lymfocytů psa je práce, která referuje o změnách v průběhu hluboké pyodermie německých ovcáků (Chabanne aj., 1995).

KOČKA

Přestože znalosti o CD antigénech koček jsou hlavně díky studiu patogeneze infekce felinním imunodeficientním virem poměrně rozsáhlé, zatím nebyl uspořádán mezinárodní workshop, na kterém by byly testovány a porovnány dostupné monoklonální protilátky.

V roce 1986 byla popsána monoklonální protilátka FT2, která byla charakterizována jako anti-CD8 (Klotz a Cooper, 1986) a v práci Ackley aj. (1992a) byla charakterizována anti-CD4 protilátka. Procenta lymfocytů, na jejichž povrch se tyto dvě protilátky váží, jsou dokumentována v tab. V. Závislost procentuálního za-

V. Zastoupení subpopulací lymfocytů v periferní krvi kočky v % (Ackley aj., 1990a; Klotz a Cooper, 1986) – Distribution of lymphocyte subpopulations in the peripheral blood of cat (%)

Tkáň ¹	Thymus ²	Periferní krev ³	Mízní uzlina ⁴	Slezina ⁵	Kostní dřeň ⁶
CD4 ⁺	52 ± 3	25 ± 5	39 ± 2	14 ± 1	2
CD8 ⁺	76 ± 11	15 ± 9	–	14 ± 8	1 ± 2

¹tissue, ²thymus, ³peripheral blood, ⁴lymphatic gland, ⁵spleen, ⁶bone marrow

VI. Zastoupení subpopulací lymfocytů periferní krve kočky v závislosti na pohlaví v % (Hoffmann-Fezer aj., 1992) – Distribution of lymphocyte subpopulations in the peripheral blood of cat according to sex (%)

Pohlaví ¹	CD4 ⁺	CD8 ⁺	CD4/CD8
Samec ²	34,8 ± 8,8	13,7 ± 5,0	2,9 ± 1,2
Samice ³	42,9 ± 8,8	13,1 ± 3,2	3,6 ± 1,5

¹sex, ²male, ³female

VII. Srovnání exprese antigenů CD4, CD8 a CD5 u kočky v % (Ackley a Cooper, 1992) – Comparison of the expression of CD4, CD8 and CD5 antigens in cat (%)

Orgán ¹	CD4 ⁺	CD8 ⁺	CD5 ⁺
Thymus ²	54 ± 3	63 ± 4	90 ± 6
Mízní uzlina ³	39 ± 2	20 ± 2	63 ± 5
Slezina ⁴	14 ± 1	9 ± 1	22 ± 2
Kostní dřeň ⁵	2	3	5
Periferní krev ⁶	25 ± 4	18 ± 3	44 ± 5

¹organ, ²thymus, ³lymphatic gland, ⁴spleen, ⁵bone marrow, ⁶peripheral blood

stoupení CD4 a CD8 pozitivních lymfocytů na pohlaví zkoumali Hoffmann-Fezer aj. (1992), kteří ke své práci použili stejné protilátky. Zjistili signifikantní rozdíly v zastoupení lymfocytů CD4 pozitivních (tab. VI). Ackley a Cooper (1992) popsali monoklonální protilátku, která byla stanovena jako anti-CD5. Pomocí této protilátky byla popsána exprese antigenu CD5 na buňkách imunitního systému kočky. Byl nalezen na všech buňkách CD4⁺ a CD8⁺ a na malé subpopulaci CD4⁺/CD8⁺/IgM⁻. CD5 u kočky není exprimován ani na B lymfocytech ani na dalších buněčných typech. Dále autoři provedli srovnání exprese CD5 s expresí antigenů CD4 a CD8 (tab. VII).

Vlivem věku na zastoupení subpopulací lymfocytů periferní krve u koček se zabývá práce Sellon aj. (1996). Z této práce plyne, že stav jeden týden před narozením je charakterizován vysokým absolutním počtem lymfocytů, malým množstvím T lymfocytů a velkým počtem B lymfocytů a buněk, které jsou negativní na přítomnost pan-T markeru i na expresi povrchového imunoglobulinu (tzv. null buňky). V době porodu dojde k prudkému poklesu celkových lymfocytů, null-buněk a B lymfocytů, naopak k vzestupu procentuálního zastoupení T lymfocytů a z nich hlavně CD4 pozitivních buněk. Absolutní počet T lymfocytů z důvodu poklesu celkových lymfocytů stoupá pomaleji a u CD4 pozitivních buněk dokonce klesá. V období po porodu do věku čtyř týdnů dochází k vzestupu celkových lymfocytů a B lymfocytů, u ostatních subpopulací k žádným dalším zásadním změnám nedochází.

Protilátka proti antigenu CD45, který je exprimován na všech lymfocytech, granulocytech i monocycytech byla popsána v pracích Masouka aj. (1992) a Hunt aj. (1995). Problematikou exprese MHC antigenu druhé třídy (MHC-II) se zabývali Rideout aj. (1990) a jejich výsledky jsou shrnuty v tab. VIII. Dále v práci Hunt a McConnell (1995) je popisována míra exprese MHC-II antigenu na jednotlivých druzích lymfocytů. Autoři popisují, že lymfocyty periferní krve a mízních uzlin tvoří jednotnou populaci, zatímco thymocyty a splenocyty se podle míry vyjádření antigenu dají rozdělit na dvě subpopulace.

Walker aj. (1995) popsali dvě populace lymfocytů lišící se velikostí. Ve své práci srovnávali zastoupení jednotlivých CD antigenů na těchto dvou skupinách v závislosti na zdravotním stavu koček. Nezávisle na klinickém onemocnění mají FIV negativní kočky větší

VIII. Exprese antigenu MHC-II na jednotlivých populacích leukocytů kočky v % (Rideout aj., 1990) – Expression of MHC class II antigen on the populations of leucocytes of cat (%)

Buňky ¹	% MHC-II+
CD4 ⁺	88,92 ± 7,30
CD8 ⁺	85,99 ± 11,46
B lymfocyty ²	99,47 ± 0,45
Monocyty ³	95,06 ± 7,35

¹cells, ²B-lymphocytes, ³monocytes

absolutní počet malých lymfocytů. Tyto malé lymfocyty mají větší zastoupení CD4 pozitivních buněk než velké. U skupiny FIV negativních a klinicky zdravých koček je v populaci malých lymfocytů více CD8⁺ než v populaci velkých, ale u FIV pozitivních nebo klinicky nemocných tento rozdíl nebyl sledován. Počet malých B lymfocytů byl podobný u FIV negativních i pozitivních. U velkých lymfocytů nebyly shledány žádné rozdíly v zastoupení subpopulací ve vztahu k FIV infekci. Z toho plyne, že FIV infekce postihuje jen malé lymfocyty.

Monoklonálních protilátek proti známým CD antigenům je využíváno ke studiu patogeneze a možnosti ovlivnění některých chorob koček. Největší pozornost je věnována infekci virem felinní imunodeficiency, která slouží jako model pro studium infekce HIV u lidí (Ackley aj., 1990b; Quackenbush aj., 1990; Hoffmann-Fezer aj., 1992; Lehmann aj., 1992; Willett aj., 1993; Walker aj., 1994; Hoffmann-Lehmann aj., 1995).

KŮŇ

V roce 1991 proběhl v Cambridgi první mezinárodní workshop o koňských leukocytárních antigenech (Kydd aj., 1994). Bylo prezentováno 86 monoklonálních protilátek z pěti laboratoří USA a Velké Británie. Tyto protilátky byly podle specifity charakterizovány jako anti-CD4, CD5, CD8, CD11a/18, CD13 a CD44 a dále anti-MHC-I a MHC-II. Některé protilátky se vázaly na antigeny, které neměly v době workshopu stanovenou analogii v humánní oblasti, a proto byly označeny EqWC1 až 4 (Kydd aj., 1994). Výsledky tohoto workshopu

IX. Přehled výsledků prvního workshopu o koňských leukocytárních antigenech v % (Kydd aj., 1994) – Summary of results of the first workshop on leucocytic antigens of horse (%)

Antigen ¹	PBL	T lymfocyty ²	B lymfocyty ³	Granulocyty ⁴
CD4	54–70	79–92	3–5	0
CD5	51–85	44–97	3–12	0
CD8	1–10	13–17	0–3	0
CD11a/18	50–99	70–98	16–71	72–100
CD13	0	0	0	97
CD44	57–99	78–99	36–74	99
MHC-I	98–100	99	95	100
MHC-II	16–87	66–88	46–93	0
B-marker	4–31	0–7	48–99	0
EqWC1	9–71	22–74	18–52	24–90
EqWC2	24–95	50–100	2–40	7–100
EqWC3	52–86	73–94	4–7	1–31
EqWC4	2–12	3–15	0–4	0

¹antigen, ²T-lymphocytes, ³B-lymphocytes, ⁴granulocytes

dokumentuje tab. IX. V roce 1995 byly definovány další protilátky prezentované na druhém workshopu, který proběhl v Kalifornii. Jedná se o anti-CD2 (dříve EqWC3), CD28 (dříve EqWC4) a CD3 (Lunn aj., 1996).

Blanchard-Channell aj. (1994) popsali protilátky proti CD3 a CD5 a využili je spolu s protilátkou proti povrchovým imunoglobulinům (sIg) pro některá srovnání, jejichž výsledky dokumentují tab. X a XI. Srovnáním subpopulací lymfocytů v periferní krvi a bron-

X. Srovnání exprese CD3, CD5 a sIg u koní různého věku v % (Blanchard-Channell aj., 1994) – Comparison of the expression of CD3, CD5 and sIg in the peripheral blood of horses of different ages (%)

Věk ¹	CD3 ⁺	CD5 ⁺	sIg ⁺
Do 1 roku ²	45–73	45–72	28–53
3–5 let ³	60–72	72–75	11–30

¹age, ²less than one year, ³3–5 years

XI. Srovnání exprese CD3, CD5 a sIg v lymfoidních orgánech koně v % (Blanchard-Channell aj., 1994) – Comparison of the expression of CD3, CD5 and sIg in the lymphoid organs of horse (%)

Orgán ¹	CD3 ⁺	CD5 ⁺	sIg ⁺
Thymus ²	40–58	60–91	1–5
Axilární MU ³	60–71	47–72	23–33
Mesenteriální MU ⁴	51–71	53–71	11–44

¹organ, ²thymus, ³axillary MU, ⁴mesenteric MU

XII. Srovnání exprese CD5, CD8 a sIg v periferní krvi (PBL) a bronchoalveolární laváži (BAL) koně v % (McGorum aj., 1993) – Comparison of the expression of CD5, CD8 and sIg in the peripheral blood (PBL) and bronchoalveolar lavage (BAL) of horse (%)

Subpopulace ¹	PBL	BAL
CD5 ⁺	52,3–82,8	94,4–97,6
CD8 ⁺	20,5–37,7	48,0–63,0
B lymfocyty ²	17,2–37,7	2,4–5,6

¹subpopulation, ²B-lymphocytes

XIII. Srovnání exprese CD2, CD5, CD4, CD8 a sIgM na lymfocytech periferní krve (PBL) a bronchoalveolární laváži (BAL) koně v % (Hines aj., 1996) – Comparison of the expression of CD2, CD5, CD4, CD8 and sIgM in the lymphocytes of the peripheral blood (PBL) and bronchoalveolar lavage (BAL) of horse (%)

Antigen ¹	PBL	BAL
CD2 ⁺	70 ± 8	83 ± 11
CD5 ⁺	74 ± 7	78 ± 11
CD4 ⁺	62 ± 8	58 ± 13
CD8 ⁺	18 ± 5	39 ± 7
sIgM ⁺	23 ± 9	4 ± 7

¹antigen

choalveolární laváži se zabývaly práce McGorum aj. (1993) – tab. XII a Hines aj. (1996) – tab. XIII.

Srovnáním lidských a koňských leukocytárních diferenciacních antigenů se zabývá přehledná práce Lunnon (1993).

PRASE

Studium CD antigenů prasat doznalo značného rozvoje díky využití prasat ke studiu transplantačních postupů. V roce 1992 vyvrcholil první mezinárodní workshop zabývající se charakterizováním monoklonálních protilátek proti jednotlivým CD antigenům prasat (Lunnenej aj., 1994). Bylo zde prezentováno 136 monoklonálních protilátek, které byly charakterizovány jako anti-CD1, CD2, CD4, CD5, CD6, CD8, CD21, CD25, CD18, CD44, CD45 a CD45R. Dále zde byly prezentovány protilátky proti antigenům, které zatím nemají definovanou homologii v humánní oblasti a jsou proto označovány jako „SWC“. Jedná se o SWC1 a SWC2 na T lymfocytech, SWC3 na buňkách myeloidní řady, SWC4 až SWC6 na null-buňkách (viz níže) a SWC7 na B lymfocytech (Lunnenej aj. 1994). V roce 1995 byl ukončen druhý workshop, který k protilátkám z pr-

vého přiřadil ještě anti-CD3, CD16 a CD29 a SWC8 a SWC9 (Saalmüller aj., 1996).

Výrazným znakem prasečích T lymfocytů je distribuce antigenů CD4 a CD8, která je odlišná od distribuce těchto antigenů u ostatních, v této práci popisovaných, druhů. Pomocí těchto antigenů se T lymfocyty dají rozdělit na čtyři populace. Jejich procentuální zastoupení v periferní krvi dokumentuje tab. XIV. V práci Zuckermanna a Gaskins (1996) je popsána také distribuce těchto buněk v lymfoidních orgánech prasat šest až sedm měsíců starých (tab. XV). Zuckermanna a Husmann (1996) popsali závislost zastoupení CD4/CD8 dvojitě pozitivních lymfocytů na věku prasete. Z výsledků plyne, že jejich procentuální zastoupení stoupá s věkem, a to ze 2 % ve věku jeden týden, přes 15 % ve věku 12 až 20 měsíců až po 35 % ve věku 45 až 54 měsíce. Totéž platí také o zastoupení v lymfoidních orgánech. S tímto nálezem koreluje také výsledky autorů Summerfield aj. (1996) a Pescovitz aj. (1994). Zdá se proto, že tyto buňky mohou hrát úlohu jako paměťové T lymfocyty (Zuckermanna a Husmann, 1996). Zastoupením subpopulací lymfocytů v závislosti na věku se zabývá i práce Joling aj. (1994) – tab. XVI.

XIV. Zastoupení subpopulací T-lymfocytů prasat podle exprese antigenů CD4 a CD8 v periferní krvi (%) – Distribution of T-lymphocyte subpopulations in the peripheral blood of pigs according to the expression of CD4 and CD8 antigens

Citace ¹	CD4 ⁺ /CD8 ⁻	CD4 ⁻ /CD8 ⁺	CD4 ⁺ /CD8 ⁺	CD4 ⁻ /CD8 ⁻
Saalmüller aj. (1994b)	27	34	16	23
Saalmüller a Bryant (1994)	25	40	15	20
Pescovitz aj. (1994)	30	21	6	43
Summerfield aj. (1996)	18	44	23	15
Zuckermann a Gaskins (1996)	17 ± 2	30 ± 4	12 ± 1	40 ± 2

¹reference

XV. Zastoupení subpopulací T-lymfocytů prasat podle exprese antigenů CD4 a CD8 v lymfoidních orgánech v % (Zuckermanna a Gaskins, 1996) – Distribution of T-lymphocyte subpopulations in the lymphoid organs of pig according to the expression of CD4 and CD8 antigens

Tkáň ¹	CD4 ⁺ /CD8 ⁻	CD4 ⁻ /CD8 ⁺	CD4 ⁺ /CD8 ⁺	CD4 ⁻ /CD8 ⁻
Periferní krev ²	17 ± 2	30 ± 4	12 ± 1	40 ± 2
Tonsily ³	13 ± 4	15 ± 3	18 ± 4	55 ± 6
Retrofaryngeální MU ⁴	24 ± 4	27 ± 8	13 ± 4	36 ± 3
Mandibulární MU ⁵	28 ± 6	30 ± 6	10 ± 2	28 ± 4
Bronchiální MU ⁶	28 ± 2	32 ± 5	12 ± 2	28 ± 5
Mesenteriální MU ⁷	23 ± 6	30 ± 10	12 ± 4	33 ± 9
Jejunální Peyerovy plaky ⁸	12 ± 3	28 ± 4	10 ± 2	51 ± 4
PP proximálního ilea ⁹	8 ± 2	14 ± 4	11 ± 3	68 ± 7
PP mediálního ilea ¹⁰	8 ± 4	8 ± 3	4 ± 2	79 ± 3
PP distálního ilea ¹¹	11 ± 2	18 ± 4	12 ± 5	59 ± 7

MU = mízní uzlina – lymphatic gland; PP = Peyerovy plaky – Peyer's plaques

¹tissue, ²peripheral blood, ³tonsils, ⁴retropharyngeal MU, ⁵mandibular MU, ⁶bronchial MU, ⁷mesenteric MU, ⁸jejunal Peyer's plaques, ⁹proximal ileum PP, ¹⁰medial ileum PP, ¹¹distal ileum PP

Marker	1. týden ¹	4. týden ²	10. týden ³	40. týden ⁴
CD2 ⁺	37 ± 9	49 ± 9	62 ± 8	65 ± 7
CD4 ⁺	29 ± 19	36 ± 6	37 ± 6	33 ± 10
CD8 ⁺	15 ± 5	22 ± 5	29 ± 6	28 ± 11
Ig ⁺	15 ± 13	21 ± 8	20 ± 6	17 ± 4
CD2 ⁻ /Ig ⁻	48 ± 19	29 ± 16	17 ± 6	17 ± 10

¹1st week, ²4th week, ³10th week, ⁴40th week

Pomocí antigenu CD8 se dají T lymfocyty dále rozdělit podle intenzity exprese tohoto antigenu na buňky s vysokou a nízkou expresí (Salamüller aj., 1994a) a pomocí exprese antigenu CD5 se dají dělit na:

- CD5 s vysokou expresí antigenu (55 až 57 %), které jsou zároveň CD4⁺/CD8⁻ (funkčně helper-buňky), nebo CD4⁺/CD8⁺ (viz výše), anebo CD4⁺/CD8⁺ s vysokou expresí (na MHC-I závislé cytotoxické buňky);
- CD5 s nízkou expresí antigenu (9 až 11 %), které zahrnují většinu CD4⁺/CD8⁻ T lymfocytů, které byly charakterizovány jako CD2⁻ null-buňky. Tyto buňky dále exprimují gama/delta formu TCR;
- CD5 negativní (34 %), které jsou zároveň CD4⁺/CD8⁻ nebo CD4⁺/CD8⁺ s nízkou intenzitou exprese, které jsou funkčně charakterizovány vysokou spontánní cytolytickou aktivitou a prezentují NK buňky (Salamüller aj., 1994b).

Autoři Yang a Parkhouse (1996) rozdělili T lymfocyty pomocí monoklonálních protilátek proti epison řetězci CD3 (Kirkham aj., 1996) a proti CD3 antigenu specifickému pro lymfocyty exprimující gama/delta formu TCR. Výsledky jejich práce by se daly shrnout do následujícího schématu:

- buňky alfa/beta TCR se dají rozdělit do čtyř skupin: CD4⁺/CD8⁻
CD4⁺/CD8⁺ s nízkou expresí
CD4⁺/CD8⁺ s nízkou expresí
CD4⁺/CD8⁺ s vysokou expresí
- buňky gama/delta TCR se dají rozdělit do tří skupin: CD2⁻/CD4⁺/CD8⁻
CD2⁺/CD4⁺/CD8⁺ s nízkou expresí
CD2⁺/CD4⁺/CD8⁻
- NK-buňky (null-buňky) jsou fenotypově sIg⁻/CD2⁺/CD3⁻/CD4⁺/CD8⁺ s nízkou expresí

Expresí a biologickou funkcí antigenu CD44 se zabývají práce Yanga a Binnsa (1993a, b). Pomocí protilátky proti CD44 inhibovali NK aktivitu v závislosti na dávce (Yang a Binns, 1993b).

Onemocněním prasat, které je intenzivněji studováno z hlediska postižení imunitního systému, je infekce virem porcinního reprodukčního a respiračního syndromu. Změnami v zastoupení subpopulací lymfocytů při této nemoci se zabývá práce autorů Shimizu aj. (1996), ve které je popsán pokles CD4⁺ lymfocytů, který je doprovázen poklesem celkových lymfocytů.

PŘEŽVÝKAVCI

V roce 1989 proběhl v Hannoveru první mezinárodní workshop o leukocytárních antigenech skotu, ovčí a koz. Zde byly testovány, srovnávány a zařazovány monoklonální protilátky produkované v 16 laboratořích. Protilátky byly určeny jako anti-CD1, CD2, CD4, CD5, CD6, CD8, CD11b, CD11c, CD44 a CD45. Dále zde byly charakterizovány protilátky proti antigenům, které v té době nebyly určeny, a proto byly označeny jako BoWC (bovine workshop cluster). Jedná se o BoWC1 exprimovaný na subpopulaci T lymfocytů, která je charakteristická nepřítomností antigenů CD4 a CD8 a která exprimuje gama/delta formu TCR. Dále BoWC2 na části buněk BoWC1⁺ a některých dalších buňkách, BoWC3, BoWC4 a BoWC5 na B lymfocytech (Howard aj., 1991). Na druhém workshopu, který se konal v Budapešti v roce 1992, byly definovány protilátky proti antigenům CD3, CD25, BoWC6 (na T lymfocytech CD2⁺, ale ne na BoWC1⁺), BoWC7 (CD2⁺, WC1⁺ i B lymfocyty), BoWC8 (na aloantigenem nebo lektinem aktivovaných lymfocytech), BoWC9 (na monocyttech, trombocytech, granulocytech, gama/delta a B lymfocytech a na některých thymocytech), BoWC10 (subpopulace CD2⁺ a většina B lymfocytů a thymocytů) a BoWC11 (na všech lymfocytech, monocyttech, granulocytech a většině trombocytů, v nízké denzitě též na erytrocytech) – Howard a Naessens (1993). Na třetím workshopu byl antigen BoWC3 definován jako CD21 (Sopp, 1996). K seznamu definovaných protilátek přibýly anti-CD14 (antigen je exprimován na monocyttech) – Berthon a Hopkins (1996), anti-CD41/61 (antigen je exprimován na trombocytech) – Mateo aj. (1996a), anti-CD62L (L-selektin, „homing“ receptor) – Howard (1996a) a anti-CD71 (receptor pro transferin, na vývojových stadiích erytrocytů a na aktivovaných lymfocytech) – Naessens a Davis (1996). Do skupiny antigenů označených jako BoWC přibýly další tři antigeny. BoWC13, exprimovaný na monocyttech, granulocytech, trombocytech a málo na lymfocytech, je možná analogií antigenu CD31 (Mateo aj., 1996b). BoWC14 se nachází na monocyttech, granulocytech a subpopulaci B, CD4⁺, CD8⁺ a BoWC1⁺ lymfocytů (Howard, 1996b), BoWC15 je specifický pro erytrocyty (Howard, 1996c). CD antigeny koz

XVII. Závislost procentuálního zastoupení subpopulací lymfocytů v periferní krvi skotu na věku (Wilson aj., 1996) – Percentual distribution of lymphocyte subpopulations in the peripheral blood of cattle according to age

Věk ¹	CD2 ⁺	CD4 ⁺	CD8 ⁺	gama/delta lymfocyty
Fetus (8. měsíc) ²	57 ± 6	32 ± 5	14 ± 2	29 ± 8
Den porodu ³	32 ± 3	16 ± 1	8 ± 1	39 ± 4
2 dny po porodu ⁴	28 ± 5	18 ± 4	6 ± 1	40 ± 4
4 dny po porodu ⁵	34 ± 7	20 ± 4	9 ± 3	35 ± 4
1 měsíc ⁶	30 ± 4	16 ± 3	8 ± 1	25 ± 6
2 měsíce ⁷	30 ± 3	14 ± 2	9 ± 2	34 ± 14
3 měsíce ⁸	26 ± 2	10 ± 1	7 ± 1	30 ± 6
4 měsíce ⁹	35 ± 4	13 ± 2	7 ± 1	13 ± 4
5 měsíců ¹⁰	40 ± 6	19 ± 4	9 ± 2	12 ± 2
Dospělí (2–4 roky) ¹¹	51 ± 2	29 ± 4	10 ± 1	17 ± 3

¹age, ²fetus (8th month), ³day of parturition, ⁴2 days after parturition, ⁵4 days after parturition, ⁶1 month, ⁷2 months, ⁸3 months, ⁹4 months, ¹⁰5 months, ¹¹adult (2–4 years), ¹²gamma/delta lymphocytes

XVIII. Závislost procentuálního zastoupení subpopulací lymfocytů v periferní krvi skotu na pohlaví (Wilson aj., 1996) – Percentual distribution of lymphocyte subpopulations in the peripheral blood of cattle according to sex

Pohlaví ¹	CD2 ⁺	CD4 ⁺	CD8 ⁺	gama/delta lymfocyty
Byk ²	52 ± 6	30 ± 4	15 ± 5	6 ± 3
Kráva ³	66 ± 2	32 ± 4	29 ± 6	3 ± 1

¹sex, ²bull, ³cow

a ovcí jsou popisovány v samostatných kapitolách souhrnně z workshopů (Hein a Mackay, 1991; Davis a Ellis, 1991; Hopkins aj., 1993).

Všechny periferní lymfocyty přezývkavců se dají rozdělit podle exprese povrchových antigenů na populaci (Davis aj., 1990; Howard a Leibold, 1991; Sopp aj., 1991; Davis aj., 1993):

- CD5⁺ s vysokou expresí
CD3⁺/CD2⁺/CD4⁺/TCR2⁺
CD3⁺/CD2⁺/CD8⁺/TCR2⁺
CD3⁺/CD2⁺/CD8⁺/TCR1⁺/WC1⁻
- CD5⁺ s nízkou expresí
CD3⁺/CD2⁺/CD4⁺/CD8⁺/TCR1⁺/WC1⁺
subpopulace sIgM⁺
- sIgM⁺ B lymfocyty

Charakterizované monoklonální protilátky proti CD antigenům jsou využívány ke studiu zastoupení subpopulací lymfocytů skotu za fyziologických podmínek v závislosti na věku a pohlaví, jak je dokumentováno v tab. XVII a XVIII (Wilson aj., 1996), a na fázi laktace (Park aj., 1992). Srovnáním subpopulací lymfocytů v periferní krvi a v mléku koz se zabývá práce Guiguen aj. (1996). Dále jsou využívány při studiu některých chorob, jako jsou bovinní virová leukóza (Meirom aj., 1993), bovinní virová diarhoe – slizniční choroba (Ellis aj., 1988; Howard aj., 1992; Liebler aj., 1995, 1996), maedi-visna (Luján aj., 1995), paratuberkulóza přezývkavců (Chiodini a Davis, 1992, 1993; Little aj., 1996). Nozologickou jednotkou je deficeience adhezivních antigenů rodiny CD11/CD18, označovaná jako BLAD (bovine leukocyte adhesion

deficiency), jež byla prokázána u skotu holštýnského plemene (Bernadina aj., 1993; Nagahata aj., 1994; Ackermann aj., 1996).

ZÁVĚR

V práci byl podán přehled o současných vědomostech o CD antigenech psa, kočky, koně, praseta a přezývkavců. Z uvedených údajů je patrné, že jednotlivé popisované živočišné druhy se v některých rysech liší. Výrazným znakem leukocytů psa je exprese antigenu CD4 na nestimulovaných neutrofilech a, stejně jako u koček, nepřítomnost antigenu CD5 na B lymfocytech. Zvláštností prasat je vysoké procento periferních lymfocytů exprimujících současně antigeny CD4 a CD8. Konečně přezývkavci jsou charakterističtí velkým zastoupením lymfocytů s gama/delta formou TCR. Přestože v této oblasti veterinární imunologie byl učiněn značný pokrok, význam těchto rozdílů ještě není zcela objasněn.

Poděkování

Čtěl bych poděkovat všem, kteří přispěli ke vzniku této práce, a zejména MVDr. Miroslavu Tománovi, CSc. za kritické připomínky.

LITERATURA

ACKERMANN, M. R. – KEHRLI, M. E. – LAUFER, J. A. – NUSZ, L. T. (1996): Alimentary and respiratory tract lesions

- in eight medically fragile Holstein cattle with bovine leukocyte adhesion deficiency (BLAD). *Vet. Pathol.*, *33*, 273-281.
- ACKLEY, C. D. – COOPER, M. D. (1992): Characterization of a feline T-cell-specific monoclonal antibody reactive with a CD5-like molecule. *Am. J. Vet. Res.*, *53*, 466-471.
- ACKLEY, C. D. – HOOVER, E. A. – COOPER, M. D. (1990a): Identification of a CD4 homologue in the cat. *Tissue Antigens*, *35*, 92-98.
- ACKLEY, C. D. – YAMAMOTO, J. K. – LEVY, N. – PEDERSEN, N. C. – COOPER, M. D. (1990b): Immunologic abnormalities in pathogen-free cats experimentally infected with feline immunodeficiency virus. *J. Virol.*, *64*, 5652-5655.
- BERNADINA, W. E. – DUIJS, A. J. – KALSBECK, H. C. – WENSING, T. – LEIBOLD, W. – ELVING, L. – WENTINK, G. H. (1993): Leukocyte adhesion deficiency in a Dutch Holstein calf: a case with a clear-cut family history. *Vet. Immunol. Immunopathol.*, *37*, 295-308.
- BERTHON, P. – HOPKINS, J. (1996): Ruminant cluster CD14. *Vet. Immunol. Immunopathol.*, *52*, 245-248.
- BIERER, B. E. – SLECKMAN, B. P. – RATNOFSKY, S. E. – BURAKOFF, S. J. (1989): The biologic roles of CD2, CD4, and CD8 in T-cell activation. *Ann. Rev. Immunol.*, *7*, 579-599.
- BLANCHARD-CHANNELL, M. – MOORE, P. F. – STOTT, J. L. (1994): Characterization of monoclonal antibodies specific for equine homologues of CD3 and CD5. *Immunology*, *82*, 548-554.
- CHABANNE, L. – MARCHAL, T. – DENEROLLE, P. – MAGNOL, J. P. – FOURNEL, C. – MONIER, J. C. – RIGAL, D. (1995): Lymphocyte subset abnormalities in German shepherd dog pyoderma (GSP). *Vet. Immunol. Immunopathol.*, *49*, 189-198.
- CHIODINI, R. J. – DAVIS, W. C. (1992): The cellular immunology of bovine paratuberculosis: the predominant response is mediated by cytotoxic gamma/delta T-lymphocytes which prevent CD4⁺ activity. *Microb. Pathogen.*, *13*, 447-463.
- CHIODINI, R. J. – DAVIS, W. C. (1993): The cellular immunology of bovine paratuberculosis: immunity may be regulated by CD4⁺ helper and CD8⁺ immunoregulatory T-lymphocytes which down-regulate gamma/delta⁺ T-cell cytotoxicity. *Microb. Pathogen.*, *14*, 355-367.
- COBBOLD, S. – METCALFE, S. (1994): Monoclonal antibodies that define canine homologues of human CD antigens: Summary of the First International Canine Leukocyte Antigen Workshop (CLAW). *Tissue Antigens*, *43*, 137-154.
- COX, F. E. G. – LIEW, F. Y. (1992): T-cell subsets and cytokines in parasitic infections. *Immunol. Today*, *11*, 445-448.
- DANILENKO, D. M. – MOORE, P. F. – ROSSITTO, P. V. (1992): Canine leukocyte cell adhesion molecules (Leu-CAMs): Characterization of the CD11/CD18 family. *Tissue Antigens*, *40*, 13-21.
- DAVIS, W. C. – HAMILTON, M. J. – PARK, Y. O. – LARSEN, R. A. – WYATT, C. R. (1990): Ruminant leukocyte differentiation molecules. In: BARTA, O. (ed.): *MHC, Differentiation Antigens and Cytokines in Animals and Birds. Monographs in Animal Immunology*. Blacksburg, Virginia, USA. BAR-LAB, pp. 47-70.
- DAVIS, W. C. – ELLIS, J. A. (1991): Individual antigens of goats. *Vet. Immunol. Immunopathol.*, *27*, 121-131.
- DAVIS, W. C. – MACHUGH, N. D. – PARK, Y. H. – HAMILTON, M. J. – WYATT, C. R. (1993): Identification of a monoclonal antibody reactive with the bovine orthologue of CD3 (BoCD3). *Vet. Immunol. Immunopathol.*, *39*, 85-91.
- DIRSCHERL, P. – BEISKER, W. – KREMMER, E. – MIHALKOV, A. – VOSS, C. – ZIESENIS, A. (1995): Immunophenotyping of canine bronchoalveolar and peripheral blood lymphocytes. *Vet. Immunol. Immunopathol.*, *48*, 1-10.
- ELLIS, J. A. – DAVIS, W. C. – BELDEN, E. L. – PRATT, D. L. (1988): Flow cytometric analysis of lymphocyte subset alterations in cattle infected with bovine viral diarrhoea virus. *Vet. Pathol.*, *25*, 231-236.
- GEBHARD, D. H. – CARTER, P. B. (1992): Identification of canine T-lymphocyte subsets with monoclonal antibodies. *Vet. Immunol. Immunopathol.*, *33*, 187-199.
- GIGER, U. – BOXER, L. A. – SIMPSON, P. J. – LUCCHESI, B. R. – TODD, R. F. (1987): Deficiency of leukocyte surface glycoproteins Mo1, LFA-1, and Leu M5 in a dog with recurrent bacterial infections: an animal model. *Blood*, *69*, 1622-1630.
- GREELEY, E. H. – KEALY, R. D. – BALLAM, J. M. – LAWLER, D. F. – SEGRE, M. (1996): The influence of age on the canine immune system. *Vet. Immunol. Immunopathol.*, *55*, 1-10.
- GUIGUEN, F. – GREENLAND, T. – PARDO, E. – PANAYE, G. – MORNEX, J. F. (1996): Flow cytometric analysis of goat milk lymphocytes: subpopulations and adhesion molecule expression. *Vet. Immunol. Immunopathol.*, *53*, 173-178.
- HAAS, W. – KAUFMAN, S. – MARTINEZ, C. (1990): The development and function of gamma/delta T-cells. *Immunol. Today*, *10*, 340-343.
- HEIN, W. R. – MACKAY, C. R. (1991): Individual antigens of sheep. *Vet. Immunol. Immunopathol.*, *27*, 97-118.
- HINES, M. T. – PALMER, G. H. – BYRNE, K. M. – BRASFIELD, A. L. – MCGUIRE, T. C. (1996): Quantitative characterization of lymphocyte populations in bronchoalveolar lavage fluid and peripheral blood of normal adult Arabian horses. *Vet. Immunol. Immunopathol.*, *51*, 29-37.
- HOFFMANN-FEZER, G. – THUM, J. – ACKLEY, C. – HERBOLD, M. – MYSLIWIEZ, J. – THEFELD, S. – HARTMANN, K. – KRAFT, W. (1992): Decline in CD4⁺ cell numbers in cats with naturally acquired feline immunodeficiency virus infection. *J. Virol.*, *66*, 1484-1488.
- HOFFMANN-LEHMANN, R. – HOLZNAGEL, E. – AUBERT, A. – BAUER-PHAM, K. – LUTZ, H. (1995): FIV vaccine studies. II. Clinical findings, hematological changes and kinetics of blood lymphocyte subsets. *Vet. Immunol. Immunopathol.*, *46*, 115-125.
- HOPKINS, J. – ROSS, A. – DUTIA, B. M. (1993): Summary of workshop findings of leukocyte antigens in sheep. *Vet. Immunol. Immunopathol.*, *39*, 49-59.
- HOWARD, C. J. (1996a): Ruminant cluster CD62L. *Vet. Immunol. Immunopathol.*, *52*, 255-256.
- HOWARD, C. J. (1996b): Ruminant cluster WC14. *Vet. Immunol. Immunopathol.*, *52*, 261-262.
- HOWARD, C. J. (1996c): Ruminant cluster WC15. *Vet. Immunol. Immunopathol.*, *52*, 263.
- HOWARD, C. J. – LEIBOLD, W. (1991): Bovine CD5 (BoCD5). *Vet. Immunol. Immunopathol.*, *27*, 55-60.

- HOWARD, C. J. – NAESSENS, J. (1993): Summary of workshop findings for cattle. *Vet. Immunol. Immunopathol.*, **39**, 25–48.
- HOWARD, C. J. – MORRISON, W. I. – BENSALD, A. – DAVIS, W. – ESKRA, L. – GERDES, J. – HADAM, M. – HURLEY, D. – LEIBOLD, W. – LETESSON, J. J. – MACHUGH, N. – NAESSENS, J. – O'REILLY, K. – PARSONS, K. R. – SCHLOTE, D. – SOPP, P. – SPLITTER, G. – WILSON, R. (1991): Summary of workshop findings for leukocyte antigens of cattle. *Vet. Immunol. Immunopathol.*, **27**, 21–27.
- HOWARD, C. J. – CLARKE, M. C. – SOPP, P. – BROWNLIIE, J. (1992): Immunity to bovine virus diarrhoea virus in calves: the role of different T-cell subpopulations analysed by specific depletion *in vivo* with monoclonal antibodies. *Vet. Immunol. Immunopathol.*, **32**, 303–314.
- HUNT, P. – McCONNELL, I. (1995): Variable expression of major histocompatibility complex class II in the domestic cat. *Res. Vet. Sci.*, **59**, 195–200.
- HUNT, P. – ELSE, R. W. – McCONNELL, I. – HOPKINS, J. (1995): Identification of CD45 (leucocyte common antigen) in the domestic cat. *Res. Vet. Sci.*, **59**, 201–204.
- JOLING, P. – BIANCHI, A. T. J. – KAPPE, A. L. – ZWART, R. J. (1994): Distribution of lymphocyte subpopulations in thymus, spleen, and peripheral blood of specific pathogen free pigs from 1 to 40 weeks of age. *Vet. Immunol. Immunopathol.*, **40**, 105–117.
- KIRKHAM, P. A. – TAKAMATSU, H. – YANG, H. – PARKHOUSE, M. E. (1996): Porcine CD3-epsilon: its characterization, expression and involvement in activation of porcine T-lymphocytes. *Immunology*, **87**, 616–623.
- KLOTZ, F. W. – COOPER, M. D. (1986): A feline thymocyte antigen defined by a monoclonal antibody (FT2) identifies a subpopulation of non-helper cells capable of specific cytotoxicity. *J. Immunol.*, **136**, 2510–2514.
- KOUBEK, K. (1992): Atlas lidských leukocytárních antigenů. Praha, Nakladatelství J+J. 193 s.
- KÖHLER, G. – MILSTEIN, C. (1975): Continuous cultures of fused cells secreting antibody of predefined specificity. *Nature*, **256**, 495–497.
- KYDD, J. – ANTCZAK, D. F. – ALLEN, W. R. – BARBIS, D. – BUTCHER, G. – DAVIS, W. – DUFFUS, W. P. H. – EDINGTON, N. – GRÜNIG, G. – HOLMES, M. A. – LUNN, D. P. – McCULLOCH, J. – O'BRIEN, A. – PERRYMAN, L. E. – TAVERNOR, A. – WILLIAMSON, S. – ZHANG, C. (1994): Report of the First International Workshop on Equine Leucocyte Antigens, Cambridge, UK, July 1991. *Vet. Immunol. Immunopathol.*, **42**, 3–60.
- LEHMANN, R. – VON BEUST, B. – NIEDERER, E. – CONDRAU, M. A. – FIERZ, W. – AUBERT, A. – ACKLEY, C. D. – COOPER, M. D. – TOMPKINS, M. B. – LUTZ, H. (1992): Immunization-induced decrease of the CD4⁺: CD8⁺ ratio in cats experimentally infected with feline immunodeficiency virus. *Vet. Immunol. Immunopathol.*, **35**, 199–214.
- LIEBLER, E. M. – KÜSTERS, C. – POHLENZ, J. F. (1995): Experimental mucosal disease in cattle: changes of lymphocyte subpopulations in Peyer's patches and in lymphoid nodules of large intestine. *Vet. Immunol. Immunopathol.*, **48**, 233–248.
- LIEBLER, E. M. – KÜSTERS, C. – POHLENZ, J. F. (1996): Experimental mucosal disease in cattle: changes in the number of lymphocytes and plasma cells in the mucosa of the small and large intestine. *Vet. Immunol. Immunopathol.*, **55**, 93–105.
- LITTLE, D. – ALZUHERRI, H. M. – CLARKE, C. J. (1996): Phenotypic characterisation of intestinal lymphocytes in ovine paratuberculosis by immunohistochemistry. *Vet. Immunol. Immunopathol.*, **55**, 175–187.
- LUJÁN, L. – BEGARA, I. – COLLIE, D. D. S. – WATT, N. J. (1995): CD8⁺ lymphocytes in bronchoalveolar lavage and blood: *in vivo* indicators of lung pathology caused by mae-di-visna virus. *Vet. Immunol. Immunopathol.*, **49**, 89–100.
- LUNN, D. P. (1993): A comparative review of human and equine leucocyte differentiation antigens. *Brit. Vet. J.*, **149**, 31–49.
- LUNN, D. P. – HOLMES, M. A. – ANTCZAK, D. F. (1996): Summary Report of the Second Equine Leucocyte Antigen Workshop. *Vet. Immunol. Immunopathol.*, **54**, 159–161.
- LUNNEY, J. K. – WALKER, K. – GOLDMAN, T. – AASTED, B. – BIANCHI, A. et al. (1994): Overview of the First International Workshop to Define Swine Leucocyte Cluster of Differentiation (CD) Antigens. *Vet. Immunol. Immunopathol.*, **43**, 193–205.
- MASUOKA, K. – TOYOSAKI, T. – TOHYA, Y. – NORIMINE, J. – KAI, C. – MIKAMI, T. (1992): Monoclonal antibodies to feline lymphocyte membranes recognize the leucocyte common antigen (CD45R). *J. Vet. Med. Sci.* **54**, 865–870.
- MATEO, A. – PINTADO, C. O. – PEREZ de la LASTRA, J. – DUSINSKY, R. – SIMON, M. – NAESSENS, J. – LLANES, D. (1996a): Ruminant cluster CD41/CD61. *Vet. Immunol. Immunopathol.*, **52**, 251–253.
- MATEO, A. – PINTADO, C. O. – PEREZ de la LASTRA, J. – DUSINSKY, R. – SIMON, M. – NAESSENS, J. – LLANES, D. (1996b): Ruminant cluster WC13. *Vet. Immunol. Immunopathol.*, **52**, 259–260.
- McGORUM, B. C. – DIXON, P. M. – HALLIWELL, R. E. W. (1993): Phenotypic analysis of peripheral blood and bronchoalveolar lavage fluid lymphocytes in control and chronic obstructive pulmonary disease affected horses, before and after 'natural (hay and straw) challenges'. *Vet. Immunol. Immunopathol.*, **36**, 207–222.
- MEIROM, R. – BRENNER, J. – TRAININ, Z. (1993): BLV-infected lymphocytes exhibit two patterns of expression as determined by Ig and CD5 markers. *Vet. Immunol. Immunopathol.*, **36**, 179–186.
- MOORE, P. F. – ROSSITTO, P. V. – DANILENKO, D. M. (1990): Canine leucocyte integrins: Characterization of a CD18 homologue. *Tissue Antigens*, **36**, 211–220.
- MOORE, P. F. – ROSSITTO, P. V. – DANILENKO, D. M. – WIELENGA, J. J. – RAFF, R. F. – SEVERNS, E. (1992): Monoclonal antibodies specific for canine CD4 and CD8 define functional T-lymphocyte subsets and high-density expression of CD4 by canine neutrophils. *Tissue Antigens*, **40**, 75–85.
- MOSMANN, T. R. – COFFMAN, R. L. (1989): Th1 and Th2 cells: different patterns of lymphokine secretion lead to different functional properties. *Ann. Rev. Immunol.*, **7**, 145–173.

- MOSMANN, T. R. – CHERWINSKI, H. – BOND, M. W. – GIEDLING, M. A. – COFFMAN, R. L. (1986): Two types of murine helper T-cell clone. *J. Immunol.*, *136*, 2348–2357.
- NAESSENS, J. – DAVIS, W. C. (1996): Ruminant cluster CD71. *Vet. Immunol. Immunopathol.*, *52*, 257–258.
- NAGAHATA, H. – KEHRLI, M. E. – MURATA, H. – OKODA, H. – NODA, H. – KOCIBA, G. J. (1994): Neutrophil function and pathologic findings in Holstein calves with leukocyte adhesion deficiency. *Am. J. Vet. Res.*, *55*, 40–48.
- PARK, Y. H. – FOX, L. K. – HAMILTON, M. J. – DAVIS, W. C. (1992): Bovine mononuclear leukocyte subpopulations in peripheral blood and mammary gland secretions during lactation. *J. Dairy Sci.*, *75*, 998–1006.
- PARNES, J. R. (1989): Molecular biology and function of CD4 and CD8. *Adv. Immunol.*, *44*, 265–311.
- PESCOVITZ, M. D. – SAKOPOULOS, A. G. – GADDY, J. A. – HUSMANN, R. J. – ZUCKERMANN, F. A. (1994): Porcine peripheral blood CD4⁺/CD8⁺ dual expressing T-cells. *Vet. Immunol. Immunopathol.*, *43*, 53–62.
- QUACKENBUSH, S. L. – DONAHUE, P. R. – DEAN, G. A. – MYLES, M. H. – ACKLEY, C. D. – COOPER, M. D. – MULLINS, J. I. – HOOVER, E. A. (1990): Lymphocyte subset alterations and viral determinants of immunodeficiency disease induction by the feline leukemia virus FeLV-FAIDS. *J. Virol.*, *64*, 5465–5474.
- RABANAL, R. M. – FERRER, L. – ELSE, R. W. (1995): Immunohistochemical detection of canine leukocyte antigens by specific monoclonal antibodies in canine normal tissues. *Vet. Immunol. Immunopathol.*, *47*, 13–23.
- RIDEOUT, B. A. – MOORE, P. F. – PEDERSEN, N. C. (1990): Distribution of MHC class II antigens in feline tissues and peripheral blood. *Tissue Antigens*, *36*, 221–227.
- RIVAS, A. L. – KIMBALL, E. S. – QUIMBY, F. W. – GEBHARD, D. (1995): Functional and phenotypic analysis of *in vitro* stimulated canine peripheral blood mononuclear cells. *Vet. Immunol. Immunopathol.*, *45*, 55–71.
- RUDD, C. E. (1990): CD4, CD8 and the TCR-CD3 complex: a novel class of protein-tyrosine kinase receptor. *Immunol. Today*, *11*, 400–406.
- SAALMÜLLER, A. – BRYANT, J. (1994): Characteristics of porcine T-lymphocytes and T-cell lines. *Vet. Immunol. Immunopathol.*, *43*, 45–52.
- SAALMÜLLER, A. – AASTED, B. – CANALS, A. – DOMINGUEZ, J. – GOLDMAN, T. – LUNNEY, J. K. – MAURER, S. – PESCOVITZ, M. D. – POSPIŠIL, R. – SALMON, H. – TREBICHAUSKY, I. – VALPOTIC, I. – VIZCAINO, J. S. – ZUCKERMANN, F. (1994a): Analyses of mAb reactive with porcine CD8. *Vet. Immunol. Immunopathol.*, *43*, 249–254.
- SAALMÜLLER, A. – HIRT, W. – MAURER, S. – WEILAND, E. (1994b): Discrimination between two subsets of porcine CD8⁺ cytolytic T-lymphocytes by the expression of CD5 antigen. *Immunology*, *81*, 578–583.
- SAALMÜLLER, A. – DENHAM, S. – HAVERSON, K. – DAVIS, B. – DOMINGUEZ, J. – PESCOVITZ, M. D. – STOKES, C. C. – ZUCKERMANN, F. – LUNNEY, J. K. (1996): The Second International Swine CD Workshop. *Vet. Immunol. Immunopathol.*, *54*, 155–158.
- SELLON, R. K. – LEVY, J. K. – JORDAN, H. L. – GEBHARD, D. H. – TOMPKINS, M. B. – TOMPKINS, W. A. (1996): Changes in lymphocyte subsets with age in perinatal cats: late gestation through eight weeks. *Vet. Immunol. Immunopathol.*, *53*, 105–113.
- SHIMIZU, M. – YAMADA, S. – KAWASHIMA, K. – OHASHI, S. – SHIMIZU, S. – OGAWA, T. (1996): Changes of lymphocyte subpopulations in pigs infected with porcine reproductive and respiratory syndrome (PRRS) virus. *Vet. Immunol. Immunopathol.*, *50*, 19–27.
- SOPP, P. – HOWARD, C. J. – PARSONS, K. R. (1991): Investigating monoclonal antibodies to bovine "null" cell antigens using two-colour immunofluorescence. *Vet. Immunol. Immunopathol.*, *27*, 163–168.
- SOPP, P. (1996): Ruminant Cluster CD21. *Vet. Immunol. Immunopathol.*, *52*, 249.
- SUMMERFIELD, A. – RZIHA, H. J. – SAALMÜLLER, A. (1996): Functional characterization of porcine CD4⁺CD8⁺ extrathymic T-lymphocytes. *Cell. Immunol.*, *168*, 291–296.
- TROWALD-WIGH, G. – HAKANSSON, L. – JOHANNIS-SON, A. – NORRGEN, L. – HARD af SEGERSTAD, C. (1992): Leucocyte adhesion protein deficiency in Irish setter dogs. *Vet. Immunol. Immunopathol.*, *32*, 261–280.
- TROWALD-WIGH, G. – JOHANNISSO, A. – HAKANSSON, L. (1993): Canine neutrophil adhesion proteins and Fc-receptors in healthy dogs and dogs with adhesion protein deficiency, as studied by flow cytometry. *Vet. Immunol. Immunopathol.*, *38*, 297–310.
- VAIL, D. M. – MAHLER, P. A. – SOERGEL, S. A. (1995): Differential cell analysis and phenotypic subtyping of lymphocytes in bronchoalveolar lavage fluid from clinically normal dogs. *Am. J. Vet. Res.*, *56*, 282–285.
- VOSS, C. – KREMMER, E. – HOFFMANN-FEZER, G. – SCHUMM, M. – GÜNTHER, W. – KOLB, H. J. – THIERFELDER, S. (1993): Identification and characterization of a mouse monoclonal antibody (M10) directed against canine (dog) CD8⁺ lymphocytes. *Vet. Immunol. Immunopathol.*, *38*, 311–325.
- WALKER, C. – CANFIELD, P. J. – LOVE, D. N. (1994): Analysis of leucocytes and lymphocyte subsets for different clinical stages of naturally acquired feline immunodeficiency virus infection. *Vet. Immunol. Immunopathol.*, *44*, 1–12.
- WALKER, C. – BAO, S. – CANFIELD, P. J. (1995): Analysis of feline dual lymphocyte populations observed by flow cytometry. *Vet. Immunol. Immunopathol.*, *48*, 11–25.
- WILLET, B. J. – HOSIE, M. J. – CALLANAN, J. J. – NEIL, J. C. – JARRETT, O. (1993): Infection with feline immunodeficiency virus is followed by the rapid expansion of a CD8⁺ lymphocyte subset. *Immunology*, *78*, 1–6.
- WILSON, R. A. – ZOLNAI, A. – RUDAS, P. – FRENYO, L. V. (1996): T-cell subsets in blood and lymphoid tissues obtained from fetal calves, maturing calves, and adult bovine. *Vet. Immunol. Immunopathol.*, *53*, 49–60.
- YANG, H. – BINNS, R. M. (1993a): Expression and regulation of the porcine CD44 molecule. *Cell. Immunol.*, *149*, 117–129.
- YANG, H. – BINNS, R. M. (1993b): CD44 is involved in porcine natural cytotoxicity. *Cell. Immunol.*, *149*, 227–236.

YANG, H. – PARKHOUSE, R. M. E. (1996): Phenotypic classification of porcine lymphocyte subpopulations in blood and lymphoid tissues. *Immunology*, 89, 76–83.
ZUCKERMANN, F. A. – GASKINS, H. R. (1996): Distribution of porcine CD4/CD8 double-positive T-lymphocytes in mucosa-associated lymphoid tissues. *Immunology*, 87, 493–499.

ZUCKERMANN, F. A. – HUSMANN, R. J. (1996): Functional and phenotypic analysis of porcine peripheral blood CD4/CD8 double-positive T-cells. *Immunology*, 87, 500–512.

Received: 97–10–17

Accepted after correction: 97–11–21

Kontaktní adresa:

MVDr. Martin Faldyna, Výzkumný ústav veterinárního lékařství, Hudecova 70, 621 32, Brno, Česká republika
Tel. +420 5 41 32 12 41, fax +420 5 41 21 12 29, e-mail: „Faldyna“<kahr@vuvet.anet.cz>VUVEL/UMAF

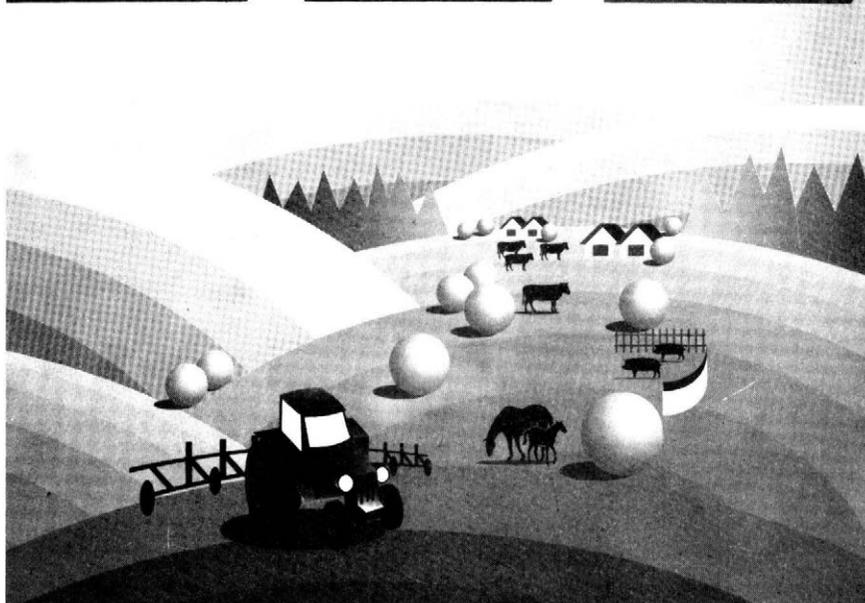
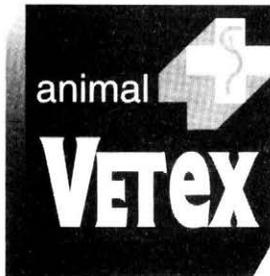
GLOSSARY BIOTECHNOLOGY

VÝKLADOVÝ SLOVNÍK BIOTECHNOLOGIE

Bacillus thuringiensis	v přírodě se volně vyskytující mikrob, který vytváří bílkovinu výběrově toxickou pro určité druhy hmyzu	Bt-kukuřice	kukuřice s genem <i>Bacillus thuringiensis</i> určujícím tvorbu bílkoviny toxické pro určité druhy hmyzu
bakterie	organismus, který nemá odlišené buněčné jádro, patří k prokaryotním, DNA je zpravidla kružnicová, obsahuje 2–8 tisíc genů. V přírodě rozkládají spolu s houbami všechny organické látky a zajišťují koloběh prvků. Malá část žije paraziticky a způsobuje choroby	DNA	deoxyribonukleová kyselina, polymerní řetězce tvořené opakujícími se jednotkami kyseliny fosforečné a cukru deoxyribózy, na kterou jsou navázány báze
biologická diverzita	bohatost biologických druhů	donor	dárce (genů, úseku DNA)
biotechnologie	se nejčastěji definuje jako jakákoliv metoda, která využívá organismů nebo jejich částí ve prospěch člověka a zároveň umožňuje vlastnosti těchto organismů pozměňovat tak, aby byly pro člověka co nejlépe využitelné	enzym	bílkovina uskutečňující chemické reakce v organismu
		fenotyp	soubor vlastností organismu
		gen	úsek DNA plnící určitou funkci, nejčastěji určující složení jedné bílkoviny, ale také plnící regulační funkci
		geneticky modifikovaný	organismus vznikne tak, že do genomu určitého organismu zavede-

	me cizorodou DNA nebo RNA, někdy přímo, někdy ve formě uměle konstruované molekuly s genem, jehož přítomnost specificky vyvolá u příjemce určitou (požadovanou) vlastnost	pesticid	prostředek k hubení škůdců
		plazmid	molekula DNA (nejčastěji uzavřená kružnice), která se množí v bakteriální buňce
genom	soubor všech genů určitého organismu, tedy jak těch, které určují genotyp, tak i regulačních	polygenní	znak, vlastnost určovaná několika geny
genotyp	soubor genů podmiňujících vlastnosti organismu	polyploidizace	umělé zmožení sad chromozomů
glyfozát	N-fosfonomethylglycin, obchodní název Roundup, vyrábí firma Monsanto chemický přípravek potlačující růst rostlin, zpravidla zaměřený proti plevelům	rekombinantní DNA	úsek DNA, který vznikl umělým spojením dvou nebo více úseků DNA různého původu
hybridizace	obecně křížení, v molekulární genetice se tím rozumí vzájemné přikládání řetězců nukleových kyselin podle pravidel komplementarity	rezistence	odolnost
in vitro	znamená mimo živý organismus („ve zkumavce“)	RNA	ribonukleová kyselina, analog DNA s ribózou namísto deoxyribózy
indukce mutací	umělé vyvolání mutací lidským zásahem (např. zářením, chemikáliemi apod.)	RR sója	sója Roundup Ready, odrůda odolná vůči herbicidu Roundup
isekticidy	prostředky k hubení určitého hmyzu	signální gen	gen, který svým projevem informuje, že přenos cizorodé DNA (nejčastěji vektoru s vnášeným žádaným genem) se podařil
klonování	obecně nepohlavní množení jedince, v molekulární genetice pomnožení úseku DNA při množení bakterie, do které byl vnesen	somatické buňky	buňky těla (na rozdíl od pohlavních buněk)
komplementarita	specifické párování řetězců nukleových kyselin tak, že proti bázi T je báze A, proti bázi G báze C	taxonomická vzdálenost	nepříbuznost z hlediska přírodního systému organismů
křížitelnost	schopnost dvou organismů dát pohlavní potomstvo	toxická	jedovatost
kultivar	typ odrůdy rostlin připravený šlechtěním	transformace	obecně přeměna, v molekulární genetice změna dědičnosti
mutace	změna genetického základu (kyseliny deoxyribonukleové), které se může, ale nemusí projevit dědičnou změnou vlastností	transgen	cizorodý gen (případně upravený metodami genového inženýrství) vnesený do organismu
patogen	organismus způsobující chorobu	transgenní organismus	organismus obsahující vnesený cizorodý gen (transgen)
peptid	řetězce aminokyselin, zpravidla kratší než bílkovina a nezformovaný do tvaru bílkoviny	vektor	zprostředkovatel (většinou zvláštní nukleová kyselina nebo virus), který vnáší cizorodou nukleovou kyselinu do příjemce
		virus	útvary obsahující genetický materiál (DNA nebo RNA) v bílkovinném obalu. Samostatně se nemůže množit, proto není považován za organismus. Množí se pouze činností jiné buňky, do které vnikl. Některé viry buňkám škodí a způsobují nemoci

Převzato z Bílé knihy sružení BIOTREND, 1. vyd. 1997



5. mezinárodní
veletrh
zemědělské
techniky

4. mezinárodní veletrh
veterinární
techniky
a hospodářských
zvířat

5. mezinárodní
lesnický
veletrh

EXPOZICE ŽIVÝCH ZVÍŘAT 7.-9.4.

BRNO 5.-9.4.1998



Brněnské veletrhy
a výstavy a.s.

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 kurzív, 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 měřových jednotek SI.

Rukopis má být napsán na papíře formátu A4 (30 řádek na stránku, 60 úhozů na řádku, mezi řádky dvojitě mezery). K rukopisu je vhodné přiložit disketu s textem práce, popř. s grafickou dokumentací pořízenou na PC s uvedením použitého programu. 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 komentovány výsledky 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 informace, 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 citovaná v textu práce se uvádí jménem autora a rokem vydání. Do seznamu se zařadí jen publikace citované v textu. Citace se řadí abecedně podle jména prvních autorů.

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.

Podrobné pokyny pro autory lze vyžádat v redakci.

Applications for detailed instructions for authors should be sent to the editorial office.

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 should be typed on standard paper (quarto, 30 lines per page, 60 strokes per line, double-spaced typescript). A PC diskette with the paper text or graphical documentation should be provided with the paper manuscript, indicating the used editor program. 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 keywords 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.

References in the manuscript are given in form of citations of the author's name and year of publication. A list of references should contain publications cited in the manuscript only. References are listed alphabetically by the first author's name.

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 43, No. 2, February 1998

CONTENTS

Mihelić D., Gjurević-Kantura Vesna, Brkić A., Babić K., Bedrica Ljiljana, Matičić D.: Access to and blockade of nerves at the <i>incisura ischiadica major</i> in bovines and goat (in English).....	33
Beníšek, J., Süliová J., Švrček Š., Závadová J., Ondrejka R., Ďurove A.: The effectiveness of inactivated, purified and concentrated experimental rabies vaccine for veterinary use: antigenic activity. Experiments on domestic dogs (in English)	45
Koudela B., Svoboda M., Björkman C., Uggla A.: Neosporosis in dogs: the first case report in the Czech Republic	51
REVIEW ARTICLE	
Faldyna M.: Differential antigens of leukocytes of dog, cat, horse, pig and ruminant	55
GLOSSARY – BIOTECHNOLOGY	66
BOOK REVIEW	
Doležel R.: Grygar I., Kudláč E.: Ultrasonography in Veterinary Obstetrics and Gynecology (in Czech) ..	50

VETERINÁRNÍ MEDICÍNA

Ročník 43, č. 2, Únor 1998

OBSAH

Mihelić D., Gjurević-Kantura Vesna, Brkić A., Babić K., Bedrica Ljiljana, Matičić D.: Přístup a blokáda nervů v <i>incisura ischiadica major</i> u skotu a kozy	33
Beníšek, J., Süliová J., Švrček Š., Závadová J., Ondrejka R., Ďurove A.: Účinnost inaktivované, purifikované a koncentrované experimentální antirabické vakcíny pre veterinárne použitie: antigénna aktivita. Pokusy na psoch domácich	45
Koudela B., Svoboda M., Björkman C., Uggla A.: První případ neosporózy psů v České republice	51
PŘEHLED	
Faldyna M.: Diferenční antigeny leukocytů psa, kočky, koně, prasete a přežvýkavců	55
VÝKLADOVÝ SLOVNÍK – BIOTECHNOLOGIE	66
RECENZE	
Doležel R.: Grygar I., Kudláč E.: Ultrasonografie ve veterinárním porodnictví a gynekologii.....	50

Vědecký časopis VETERINÁRNÍ MEDICÍNA ● Vydává Ústav zemědělských a potravinářských informací ● Redakce: Slezská 7, 120 56 Praha 2, tel.: 02/24 25 79 39, fax: 02/24 25 39 38 ● Sazba: Studio DOMINO – ing. Jakub Černý, Bří. Nejedlých 245, 266 01 Beroun, tel.: 0311/229 59 ● Tisk: ÚZPI Praha ● © Ústav zemědělských a potravinářských informací, Praha 1998

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