



SLOVENSKÝ
VETERINÁRSKY
ČASOPIS



**SLOVAK VETERINARY
JOURNAL**

ISSN 1335-0099

2012, XXXVII: 5



Predseda – Chairman
prof. MVDr. Jozef BÍREŠ, DrSc.
Štátna veterinárna a potravinová správa SR Bratislava

Redakčná rada:
prof. MVDr. Emil Piliščinec, PhD
Univerzita veterinárskeho lekárstva a farmácie Košice
MVDr. Ján Greguš
Pharmacopola Ziar nad Hronom
MVDr. Jozef Pokorný
Inštitút vzdelávania veterinárnych lekárov Košice
MVDr. Ladislav Stodola
Komora veterinárnych lekárov SR Bratislava
Mgr. Ľudmila Kundráková
Univerzita veterinárskeho lekárstva a farmácie Košice

Šéfredaktor:
prof. MVDr. Peter Juris, CSc.

Technickí redaktori – Technical editors
Dagmar Matejová
MVDr. Milan Greguš

Jazyková úprava – Language correction
Dagmar Matejová

Grafická úprava, foto – Graphic design & photo
prof. MVDr. Peter Juris, CSc., Harlequin s.r.o.

Grafika, sadzba a tlač – Pre-press and print
Harlequin, s.r.o., reprografické štúdio
Bernoláková 8, 040 01 Košice

Evidenčné číslo: EV 3763/09

Distribúcia – Distribution
Versus, s.r.o., Bratislava, KVPS v SR

Vydavateľ – Publisher
Inštitút vzdelávania veterinárnych lekárov
Cesta pod Hradovou 13/A, 040 01 Košice
IČO 00 493 546
Vychádza 6 x ročne
www.ivv.sk

Adresa redakcie – Editorial office address
Redakcia SVC, Masarykova 18, 040 01 Košice
tel.: +421-55-7999 218, 62 33 836, fax: +421-55-62 520 46
e-mail: svc@svsrr.sk

Objednávky predplatného a inzercie – Subscription and
advert orders
Redakcia SVC
Masarykova 18, 040 01 Košice
tel.: +421-55-62 33 836, fax: +421-55-62 520 46

Slovenský veterinársky časopis vychádza 6x ročne,
ročné predplatné: 33,50 EUR
Bankové spojenie: Štátna pokladnica Bratislava,
BU č.: 7000151337/8180
Jednotlivé čísla SVC budú v predaji v Inštitúte
vzdelávania veterinárnych lekárov v Košiciach.

Slovak Veterinary Journal (6 issues a year)
is published by the Institute for Postgraduate
Education of Veterinary Surgeons,
Cesta pod Hradovou 13/A, 040 01 Košice.
Orders are accepted by the editorial office and
subscription should be sent to: Štátna pokladnica
Bratislava, Slovak Republic, account
No.: 7000151337/8180

Autori sú zodpovední za obsahovú a jazykovú stránku
príspevkov.

Nevyžadané rukopisy, fotografie, diapozitívy a kresby sa
nevracajú.

© Akékoľvek reprodukovanie textových a obrazových častí
je povolené len s písomným súhlasom šéfredaktora alebo
vydavateľa.

Podávanie novinových zásielok povolené
Východoslovenským riaditeľstvom pošt Košice
pod č. VsRP – 2896/96 zo dňa 26.9.1996

EDITORIÁL

Vážení čitatelia,

v tomto predvianočnom období si Vás dovoľujeme osloviť piatym číslom SVČ, po ktorom určite siahnete v čase sviatočného pokoja. Obsahom je veľmi rôznorodé a tým otvorené pre všetkých priaznivcov tohto jedinečného veterinárskeho časopisu. Vašej pozornosti by nemali z odborného a vedeckého pohľadu uniknúť príspevky zaoberajúce sa novými pestivírusmi u hovädzieho dobytká, využitím imunomodulátorov pri parazitárnych infekciách a aktuálnymi pohľadmi na klonovanie a transegénne zvieratá. Z oblasti invázných chorôb nasleduje vedecká práca zameraná na štúdium imunitného systému myši v priebehu infekcie *Ascaris suum* a toxoplazmózu u kormorána. Odborný priestor sme v čísle vytvorili problematike syrárstva. Tradične v časopise nájdete informácie o odborných a spoločenských aktivitách ŠVPS SR, UVLF, KVL SR a IVVL v Košiciach.

Verím, že toto číslo SVČ prispeje k prežitiu šťastných, veselých a pohodových vianočných sviatkov, k čomu Vám redakčná rada praje všetko najlepšie. Zároveň sa tešíme na ďalšiu spoluprácu a všestrannú podporu.

Prof. MVDr. Jozef Bireš, DrSc.,
predseda redakčnej rady

246 NOVÝ PESTIVÍRUS INFIKUJÚCI HOVÄDZÍ DOBYTOK

264 KRYPTOSPORIDIÓZA - MOŽNÝ PROBLÉM
V CHOVOCH HOSPODÁRSKÝCH ZVIERAT

268 ŠTÁTNA VETERINÁRNA A POTRAVINOVÁ SPRÁVA SR
INFORMUJE

277 BIOAKTÍVNE KMENE *ENTEROCOCCUS DURANS*
IZOLOVANÉ Z OVČIEHO HRUDKOVÉHO SYRA

293 PLÁN VZDELÁVACÍCH AKTIVÍT INŠTITÚTU VZDELÁVANIA
VETERINÁRNYCH LEKÁROV NA ROK 2013



CYTOTOXICKÉ A ANTIPROLIFERATÍVNE ÚČINKY ORGANOKOVOVÝCH KOMPLEXOV ŽELEZA

Mojžišová, G.

Ústav experimentálnej medicíny, Lekárska Fakulta Univerzity P. J. Šafárika, Tr. SNP 1, 040 11 Košice,
Slovenská republika

Chemoterapia je v súčasnosti dôležitým pilierom liečby zhubných nádorov. Väčšina používaných chemoterapeutík uplatňuje svoj cytotoxický a protinádorový účinok inhibíciou syntézy DNA v určitej fáze bunkového cyklu. Výsledkom je úhyn buniek formou nekrózy alebo dochádza k iniciácii tých krokov, ktoré vedú k programovanej bunkovej smrti (apoptóze) (Krysko *a kol.*, 2008). Protinádorová chemoterapia sa spája aj s množstvom problémov. Okrem toho, že pôsobí cytotoxicky na rýchlo sa reprodukuje nádorové bunky, tak isto poškodzuje zdravé tkanivá. Vážnou komplikáciou je aj neadekvátna terapeutická odpoveď, ktorá je z veľkej miery zapríčinená rezistenciou nádorových buniek na súčasne používané chemoterapeutiká. Rezistencia na liečivá sa stáva vážnym problémom, pretože znižuje šancu na úspešnú farmakoterapiu pri celom rade ochorení (Lippert *a kol.*, 2008). Z toho dôvodu sa hľadajú stále nové efektívne látky, ktoré môžu prispieť k zlepšeniu liečebných úspechov v tejto zložitej oblasti. Je preto logické, že sa zvýšil záujem o zavedenie látok s netradičným mechanizmom účinku, u ktorých by pri protinádorovom účinku bolo menšie riziko vzniku rezistencie.

Perspektívny zdroj nových protinádorových zlúčenín predstavujú látky obsahujúce vo svojej štruktúre kov. Terapeutické úspechy s cisplatinou upriamili pozornosť aj na mnohé iné zlúčeniny s kovmi, ktoré sú v súčasnosti podrobené výskumu. (Rafique *a kol.*, 2010). Jednou z oblastí, ktorej sa výskum venuje je aj potenciálne antiproliferatívny účinok zlúčenín železa, kde bolo zistené, že organokovové zlúčeniny môžu mať lepšie chemické a farmakologické vlastnosti v porovnaní s čisto organickými liečivami (Quirante *a kol.*, 2011).

V našej práci sme sa zamerali na štúdium cytotoxických a antiproliferatívnych účinkov novosyntetizovaných zlúčenín železa Q-603, Q-815 a Q-813-12. Výber látok do nášho experimentu ovplyvnila skutočnosť, že protinádorový účinok prírodných látok s obsahom železa bol študovaný zatiaľ iba okrajovo.

MATERIÁL A METODIKY

V experimentoch boli použité nasledovné nádorové bunkové línie: Jurkat (leukemické bunky), HeLa (nádor krčka materni-

ce), MCF-7 (adenokarcinóm mliečnej žľazy, A549 (pľúcne nádorové bunky) a MDA (bunková línia z nádorov prsníka). Tieto bunkové línie boli obdržané darom od doc. Hajducha (Olomouc, Česká republika). Bunky Jurkat a HeLa sme kultivovali v médiu RPMI 1640. Ostatné bunkové línie (MCF-7, A549 a MDA) sme inkubovali v médiu DMEM obohatenom o glukózu. RPMI aj DMEM obsahovali 10 % fetálneho séra a prídavok antibiotík (penicilín - 100 IU/ml a streptomycín - 100 µg/ml) (Invitrogen, USA). Bunky boli kultivované pri teplote 37 °C, v atmosfére obsahujúcej 5 % CO₂. Pred každým experimentom boli bunky testované na viabilitu použitím trypanovej modrej (viabilita pred každým experimentom bola väčšia ako 95 %).

Testované látky Q-603, Q-815 a Q-813-12 boli získané darom od prof. Perjesiho (Pécs, Maďarsko).

MTT TEST

Na sledovanie viability a proliferácie nádorových buniek (Jurkat, HeLa MCF-7, A549 a MDA) po aplikácii študovaných látok sme využili MTT kolorimetrický test (Mosmann, 1983). Bunky sme inkubovali v 96-jamkových platničkách s testovanými látkami po dobu 72 hodín pri 37 °C v 95 % atmosfére s 5 % CO₂. Po inkubácii sme pridal k bunkám rozpustnú tetrazoliovú soľ - MTT a následne po 4 hodinách 10 % SDS. Princíp metódy spočíva v premene nitrotetrazolovej modrej na tmavomodrý formazán žijúcimi bunkami. Intenzita modrého zafarbenia sa meria na spektrofotometri (uQuant™; Biotek) pri vlnovej dĺžke 540 nm a vyjadruje množstvo prežívajúcich buniek v kontrole (neovplyvnené bunky), ako aj buniek exponovaných študovanými látkami. Výsledky sú vyjadrené ako % inhibície, pričom absorbancia kontroly je 100 %.

COLONY FORMATION ASSAY (CFA)

Schopnosť študovaných látok ovplyvniť tvorbu kolónií HeLa bunkami sme stanovili pomocou senzitivity metódy CFA. HeLa bunky (500 buniek/jamka) sme kultivovali na 6 jamkových platničkách po dobu 12 dní s Q-603, Q-815 a Q-813-12 v koncentráciách 10⁻⁴-10⁻¹⁰ mol.l⁻¹. Po ukončení inkubácie sme bunky fixovali 4 % formaldehydom a po opláchnutí (PBS) sme navrstvili 0,1 %

kryštáľvioleť (1ml/jamka). Po opätovnom opláchnutí (PBS) sme platničky vysušili a sfotili. Keďže v našich výsledkoch uvádzame % prežívania HeLa buniek, do každej jamky sme pridal 1 ml 10 % kyseliny octovej. Platničky sme nechali trepať na trepačke 15-40 min., až do odfarbenia buniek. Po odfarbení sme obsah preniesli do 96 jamkovej platne a zmerali na spektrofotometri (uQuant™; Biotek) pri vlnovej dĺžke 540 nm. Vypočítali sme percentuálne prežívanie buniek HeLa. Ako kontrola (100 %) nám slúžili bunky, ktoré boli inkubované bez prítomnosti študovaných látok.

VÝSLEDKY

Cieľom predkladanej práce bolo porovnať antiproliferatívny účinok troch organokovových zlúčenín s obsahom železa v rôznych nádorových bunkových líniach. Naše výsledky ukazujú, že najaktívnejšou látkou bola zlúčenina s kódovým označením Q-603. V MTT testoch vykazovala najvýraznejší účinok u leukemických buniek Jurkat, kde významne potlačila proliferáciu aj v koncentrácii 10⁻⁷ mol.l⁻¹ (p < 0,05; Tab. 1). Látka Q-813-12 mala u tejto bunkovej línie porovnateľný účinok ako látka Q-603, avšak jej účinok na bunkové línie MCF-7 a MDA bol rádovo slabší (Tab. 2). U oboch látok sme zistili porovnateľný účinok na ostatné bunkové línie. Látka Q-815 mala zo študovaných zlúčenín najslabší antiproliferatívny účinok, ktorý bol najvýraznejší u bunkovej línie Jurkat v koncentrácii 10⁻⁶ mol.l⁻¹ (Tab.3).

Schopnosť tvorby kolónií jednotlivými nádorovými bunkami poukazuje na ich schopnosť nekontrolovateľného delenia a rastu. V našich experimentoch sme zistili, že v súlade s výsledkami MTT testu, spomedzi študovaných látok mala najvýraznejší inhibičný účinok látka Q-603. U buniek HeLa významne znižovala schopnosť buniek tvoriť kolónie aj v koncentrácii 10⁻⁹ mol.l⁻¹. U látok Q-813-12 a Q-815 sme zistili schopnosť významne blokovat tvorbu kolónií v rádovo nižšej koncentrácii (10⁻⁸ mol.l⁻¹; Tab. 4).

DISKUSIA A ZÁVER

V predloženej práci sme zistili, že študované zlúčeniny u vybraných bunkových línií významne znižujú ich proliferáciu aj vo veľmi nízkych koncentráciách (10⁻⁹

Tab. 1 Vplyv Q 603 na prežívanie nádorových buniek (v %). Koncentrácia látok je udávaná v mol.l⁻¹ - The effect of Q 603 on survival of tumoral cells (in %). Concentration of substances is given in mol.l⁻¹

Q 603	Jurkat	HeLa	A549	MCF-7	MDA
10 ⁻⁴	16,98***	33,48***	37,05***	31,21***	35,63***
10 ⁻⁵	18,8***	38,00***	71,37*	55,89**	82,37
10 ⁻⁶	59,89**	77,66*	92,20	67,30*	91,50
10 ⁻⁷	71,28*	87,80	95,80	84,20	95,09
10 ⁻⁸	86,33	91,70	99,90	99,68	100
10 ⁻⁹	99,81	92,40	100	100	100

*p < 0,05; ** p < 0,01; *** p < 0,001 vs. kontrola

Tab. 2. Vplyv Q-813-12 na prežívanie nádorových buniek (v %). Koncentrácia látok je udávaná v mol.l⁻¹- The effect of Q-813-12 on survival of tumoral cells (in %). Concentration of substances is given in mol.l⁻¹

Q 813-12	Jurkat	HeLa	A549	MCF-7	MDA
10 ⁻⁴	21,50***	66,58**	62,78**	56,00**	93,33
10 ⁻⁵	39,20***	72,45*	71,90*	73,67*	96,50
10 ⁻⁶	72,21*	72,50*	80,10	92,30	97,62
10 ⁻⁷	72,54*	81,20	91,20	96,50	98,60
10 ⁻⁸	83,80	100	94,32	100	100
10 ⁻⁹	100	100	100	100	100

*p < 0,05; ** p < 0,01; *** p < 0,001 vs. kontrola

Tab. 3 Vplyv Q-815 na prežívanie nádorových buniek (v %). Koncentrácia látok je udávaná v mol.l⁻¹- The effect of Q-815 on survival of tumoral cells (in %). Concentration of substances is given in mol.l⁻¹

Q 815	Jurkat	HeLa	A549	MCF-7	MDA
10 ⁻⁴	22,71***	55,78**	58,76**	54,93**	93,00
10 ⁻⁵	35,53***	57,43**	74,17*	73,80*	97,70
10 ⁻⁶	72,33*	89,30	84,33	89,63	98,73
10 ⁻⁷	86,20	99,87	91,60	98,33	100
10 ⁻⁸	97,50	100	100	100	100
10 ⁻⁹	100	100	100	100	100

*p < 0,05; ** p < 0,01; *** p < 0,001 vs. kontrola

Tab. 4 Vplyv Q 603, Q-815 a Q-813-12 na proliferáciu HeLa buniek. Koncentrácia látok je udávaná v mol.l⁻¹ - The effect of Q 603, Q-815 and Q-813-12 on survival of tumoral cells (in %). Concentration of substances is given in mol.l⁻¹

Koncentrácia	Q 603	Q-815	Q-813-12
	% prežívania buniek		
10 ⁻⁴	4,1***	7,8***	7,9***
10 ⁻⁵	6,0***	12,6***	13,7***
10 ⁻⁶	19,9***	26,8***	25,9***
10 ⁻⁷	45,5***	66,7**	69,2**
10 ⁻⁸	60,8**	73,1*	75,0*
10 ⁻⁹	71,3*	90,8	97,4
10 ⁻¹⁰	81,5	100	100

*p < 0,05; ** p < 0,01; *** p < 0,001 vs. kontrola

mol.l⁻¹) a taktiež blokujú kolónogennú aktivitu nádorových buniek. Podobné účinky komplexov železa zistili aj ďalší autori. Woldemariam a Mandal (2008) skúmali vodorozpustný komplex železa a salénu a študovali jeho vplyv na DNA u ľudských bunkových línii. Došli k záveru, že tento komplex indukoval tvorbu VR a poškodzoval DNA. Komplex železa a salénu v koncentrácii 10 μM inicioval u buniek morfológické zmeny, fragmentáciu DNA, kondenzáciu chromatinu, čo sú typické znaky apoptózy. Uvoľnenie cytochrómu c

z mitochondrií bolo spojené so zvýšenou permeabilitou mitochondriálnej membrány. Tieto výsledky preukázali, že uvedený komplex nielen poškodzuje DNA ale aj indukuje apoptózu pravdepodobne prostredníctvom mitochondriálnej cesty.

Nádejné výsledky publikovali Jaouen a kol. (2004) a Michard a kol. (2008) s ferocifénom (ferocénom modifikovaný tamoxifén), ktorý vykazoval výrazný antiproliferatívny účinok u hormón dependentných, ale aj u hormón independentných nádorových buniek mliečnej žľazy.

Wenzel a kol. (2010) zistili, že nové antimalarikum ferochín má pomerne vysokú protinádorovú aktivitu zapríčinenú interferenciou s DNA, čo poukazuje na možnú spojitosť medzi účinkom proti malárii a proti nádorovým bunkám.

Antiproliferatívny účinok ferocénových analógov F168 a F169 na ľudských malígnych Hep2 bunkách a na myšacej F10 melanómovej bunkovej línii študoval Ferle-Vidović a kol. (2000). Ako kontrolu použili ľudské HEF a myšacie L929 fibroblasty. Testované látky a to najmä F169 vykázali vysokú aktivitu voči malígnym bunkovým líniam, so súčasne nízkou antiproliferatívnou aktivitou voči nenádorovým fibroblastom.

Zaujímavé antiproliferatívne účinky zlúčenín s obsahom železa dokumentovali Poljak-Blaži a kol. (2000). Zistili, že netoxický komplex železa, sorbitolu a citrátu (FSCC) inhiboval proliferáciu malígnych buniek, avšak výrazne neovplyvnil nenádorové bunky. Zvýšený počet buniek v G1 a S fáze poukazuje na skutočnosť, že nadbytok železa blokuje bunkový cyklus pred syntézou DNA a pravdepodobne indukuje tvorbu voľných radikálov (VR). Autori sa domnievajú, že VR poškadzujú lipidy bunkovej membrány, proteíny a DNA a môžu indukovať apoptózu alebo aj iné formy bunkovej smrti.

Na základe doteraz získaných poznatkov je možné poukázať na skutočnosť, že význam výskumu a vývoja nových liekov je nespochybniteľný. Vďaka inovatívnym liečivám sa v posledných rokoch znížila miera úmrtnosti na ochorenia, akými sú napríklad aj nádorové ochorenia. Dôsledkom narastajúceho výskytu spomínaných ochorení, ale aj počtu multirezistentných mikroorganizmov je nevyhnutnou potrebou humánnej, ale aj veterinárnej medicíny disponovať novými a účinnejšími terapeutikami. Z toho dôvodu sme v našich experimentoch upriali pozornosť na novosyntetizované látky Q 603, Q-815 a Q-813-12.

Na základe našich výsledkov môžeme konštatovať, že Q 603, Q-815 a Q-813-12 disponujú potenciálne antiproliferatívnou aktivitou, čo poukazuje na opodstatnenosť výskumu zaoberajúceho sa štúdiom nových organokovových látok v protinádorovej terapii. Avšak tieto výsledky bude potrebné potvrdiť v ďalších *in vitro* ale aj v *in vivo* experimentoch.

SUMMARY

MOJŽIŠOVÁ, G.: Cytotoxic and antiproliferative effects of organo-metallic complexes of iron.

Based upon the present knowledge it can be pointed out that there is no question

about the significance of research and development of new drugs. Thanks to innovative drugs recently the mortality rate of the diseases such as e.g. tumorous ones has decreased. Due to the increasing incidence of the above-mentioned diseases as well as the number of multi-resistant microorganisms, it is inevitable for as human as veterinary medicine to dispose of new and more effective therapeutic agents. For this reason in our experiments we directed attention to

newly synthesized substances Q 603, Q-815 a Q-813-12.

Based upon our results we can state that Q 603, Q-815 a Q-813-12 dispose of potentially antiproliferative activity, which shows justification of the research dealing with the study of new organo-metallic substances in anti-tumoral therapy. However, these results will be needed to confirm in further in *in vitro* as well as *in vivo* experiments.

POĎAKOVANIE

Táto práca bola podporená grantom VEGA 1/0751/12 a čiastočne Agentúrou Ministerstva školstva pre štrukturálne fondy EÚ, projektom ITMS: 26220220104 (10 %), ITMS: 26220120058 (10 %) a ITMS: 26220220152 (10 %).

Literatúra u autora.

Lektor: Legát, UVLF Košice

TOXOPLASMA GONDII U KORMORÁNA VEĽKÉHO (PHALACROCORAX CARBO)

Turčeková, L.¹, Hurníková, Z.^{1,2}, Hlôška, L.³

¹Parazitologický ústav SAV, Hlinkova 3, 040 01 Košice,

²UVLF v Košiciach, Komenského 73, 041 81 Košice,

³Považské múzeum Žilina, Topolová 1, 010 02 Žilina, Slovenská republika

Toxoplazmóza je jedno z najrozšírenejších parazitárnych ochorení, ktoré sa vyskytuje na celom svete. Väčšina infekcií prebieha u ľudí (80-90 %) asymptomaticky, alebo je sprevádzaná nešpecifickými klinickými príznakmi. Ochorenie u zvierat prebieha taktiež asymptomaticky, pričom postihuje viaceré orgány, primárne však pľúca, centrálny nervový systém a oči. Latentná forma toxoplazmózy sa najčastejšie vyskytuje u mačiek, králikov, oviec a kôz. Zriedka je zaznamenaná u koní a hovädzieho dobytku. S výnimkou hovädzieho dobytku u všetkých druhov zvierat sa možnosť infekcie s vekom zvyšuje (Pleva a kol., 1997). Výskyt infekcie v ľudskej populácii je v jednotlivých geografických oblastiach rozdielny. Predpokladá sa, že tieto rozdiely závisia od podnebia, stravovacích návykov a kontaktu so zvieratami, najmä mačkami a taktiež od sociálnych a kultúrnych zvyklostiach krajiny. Toxoplazmóza je najrozšírenejšia v teplých a vlhkých oblastiach, s veľkou populáciou mačiek, ktoré sú chované vonku a v oblastiach, v ktorých sa mäso konzumuje surové alebo len mierne tepelne upravené (Lynfield, Guerina, 1997; Čatár a kol., 1998). Prevalencia toxoplazmózy je vyššia v južnejších krajinách a nižšia v škandinávskych krajinách (Jenun a kol., 1998).

Pôvodca nákazy *T. gondii* sa vyskytuje aj u mnohých druhov teplokrvných stavovcov a okrem cicavcov aj u vtákov. Táto parazitóza bola opísaná u domácich aj voľne žijúcich vtákov, ale klinické prípady nie sú časté, pretože infekcia často prebieha subklinicky alebo bez špecifických príznakov (Dubey, 2002). Prehľad výskytu *T. gondii* u jednotlivých druhov voľne žijúcich vtákov, u ktorých bol potvrdený výskyt, spracoval Dubey (2002), avšak

v tejto jeho štúdií chýbali údaje o kormoránoch.

Koncom 90-tych rokov minulého storočia začali na Slovensku vznikáť migrujúce populácie kormoránov (Svetlík, 2011), ktoré sa v posledných rokoch veľmi rozšírili, vďaka kormoránom, ktoré k nám prichádzajú prezimovať zo Škandinávie a Pobaltia (Miga, 2008). Kormorány (kormorán veľký - *Phalacrocorax carbo*) zahniezdili aj na priehrade Liptovská Mara. Tieto vtáky sú veslonožce a patria do čelade kormoránovitých (Phalacrocoracidae). Dĺžka tela dosahuje 80-90 cm. Hniezdia v kolóniách a aj po mnohých rokoch sa vracajú hniezdiť na rovnaké miesto. Vo vnútrozemí sa zdržiavajú na všetkých sladkovodných, brakických aj slanovodných prírodných jazerách alebo umelo vytvorených nádržiach. Keďže priehrada Liptovská Mara patrí medzi turistami hojne navštevované oblasti, bolo cieľom práce zistiť, či sú kormorány infikované *T. gondii* a v prípade pozitívneho výsledku tohto parazita geneticky charakterizovať.

MATERIÁL A METÓDY

V rokoch 2011-2012 bolo na prítomnosť *T. gondii* vyšetrených 30 kusov kormoránov - *Phalacrocorax carbo*. Z ulovených zvierat bolo odobratých 50-100 g kostrových svalov, z ktorých boli izolované bradyzoity *T. gondii* a následne DNA pôvodcu metódou fenol-chloroform-izoamylalkohol podľa Jauregui a kol. (2001).

T. gondii bola diagnostikovaná PCR metódou génom TGR1E, ktorý sa v genóme parazita opakuje 30 až 35-krát (Lamoril a kol., 1996) a geneticky charakterizovaná nested PCR metódou na lokuse SAG2 (Howe a kol., 1997). Pre genotypizáciu bola použitá RFLP analýza s reštrikčnou

endonukleázou *Sau3A I*, štiepiacej produkt amplifikácie na 5 - konci a reštrikčnou endonukleázou *Hha I* na 3 - konci (Fuentes a kol., 2001). Porovnaním pozície reštrikčných fragmentov 5' a 3' konca súčasne po elektroforéze na 1,2 % agarózovom géle bol určený genotyp *T. gondii* (Howe a kol., 1997).

VÝSLEDKY A DISKUSIA

Toxoplazmóza je závažné ochorenie, pretože infikované mäso hospodárskych i voľne žijúcich živočíchov, resp. výrobky z neho, sú potenciálnym zdrojom infekcie predovšetkým u tehotných žien, kde hrozí vysoké riziko prenosu *T. gondii* na plod a jeho následné poškodenie. *T. gondii* má mimoriadne široký okruh medzihostiteľov, zahŕňajúci vtáky, voľne žijúce cicavce, domové a hospodárske zvieratá, ako aj človeka. Tento parazit je teoreticky schopný infikovať každú jadrovú bunku (Boothroyd a kol., 1998). Je kozmopolitne rozšírený s vysokou mierou prevalencie u všetkých teplokrvných živočíchov a tiež u ľudí (Tenter a kol., 2000).

V roku 2011-2012 sme vykonali epizootologický prieskum výskytu *T. gondii* u kormorána veľkého z lokality Liptovská Mara. Získali sme 30 kusov vzoriek svaloviny, z ktorých bola izolovaná DNA a následne molekulárnymi metódami TGR1E génom diagnostikovaná prítomnosť *T. gondii*.

Aj napriek tomu, že kormorány sa živia prevažne rybami a táto potravná zložka spôsobuje rybnému a vodnému hospodárstvu vážne škody (Miga, 2008; Kočíšar, 2011; Svetlík, 2011), môžu byť vtáky dobrými indikátormi kontaminácie prostredia *T. gondii*, pretože konzumujú potravu priamo zo zeme (Waapova a kol., 2008). Z tridsiatich vyšetrených kormoránov bolo na