

VĚDECKÝ ČASOPIS



VETERINÁRNÍ MEDICÍNA

2

ROČNÍK 33 (LXI)
PRAHA
ÚNOR 1988
CENA 10 Kčs
CS ISSN 0375-8427

ČESKOSLOVENSKÁ AKADEMIE ZEMĚĚLSKÁ
ÚSTAV VĚDECKOTECHNICKÝCH INFORMACÍ
PRO ZEMĚĚLSTVÍ

Řídí redakční rada: akademik Jaroslav Otto Vrtiak (předseda), akademik Koloman Boďa, prof. MVDr. Ján Elečko, CSc., ing. MVDr. Radomír Hromádko, prof. MVDr. Jozef Hrušovský, DrSc., prof. MVDr. Dagmar Ježková, DrSc., doc. MVDr. Evžen Jurák, DrSc., MVDr. Jaroslav Palásek, CSc., prof. MVDr. Mikuláš Pješčák, CSc., MVDr. Jozef Sokol, CSc., prof. MVDr. Bohumil Ševčík, DrSc.

Za vedení časopisu odpovídá akademik Otto Jaroslav Vrtiak

Redaktorka ing. Jovanka Václavíčková

OBSAH

Hrušovský J.: Revoluční odkaz Ůnora	65
Čada F.: Patomorfologické sledování štítné žlázy v raném postnatálním období v nasávací oblasti SVŮ Plzeň	69
Uhrín V., Kulišková L., Uhrín P.: Vztahy mezi obsahem myoglobínu a aktivitou sukcinát dehydrogenázy ve svalových vláknech	81
Molnářová M., Arendarčík J., Tokoš M.: Vplyv PMSG na trypsin inhibičné aktivity (TIA) krvnej plazmy, cervikálneho hlienu a niektoré reprodukčné orgány oviec v anestri	91
Ruprich J., Vereš K., Schmiedová D.: Radioimunologické stanovení mykotoxinu ochratoxin A — nová diagnostická metoda v ČSSR	101
Šmirják M., Hrušovský J., Garčár J.: Dynamika obsahu amoniaku v procese dlhodobého skladovania mäsových konzerv	109
Svoboda M., Svobodová V., Konrád J.: Vztahy mezi výskytem protilátek proti <i>Toxoplasma gondii</i> a klinickými nálezy vyšetřených koček	119
Z vědeckého života	
Baran M.: IV. medzinárodné sympóziu o fyziológii výživy prežúvavcov	127

СОДЕРЖАНИЕ

Чада Ф.: Патоморфологические исследования щитовидной железы телят в раннем послеродовом периоде в области молокоприемки ГВИ Пельзень	69
Угрин В., Кулишкова Л., Угрин П.: Соотношения между содержанием миоглобина и активностью сукцинат дегидрогеназы в мышечных волокнах	81
Молнарова М., Арендарчик Й., Токош М.: Влияние PMSG на трипсин ингибирующую активность (TIA) кровяной плазмы, слизи шейки матки и некоторые воспроизводственные органы овец в анестре	91
Руприх Й., Вереш К., Шмидова Д.: Радиоиммунологическое определение микотоксина охратоксин А — новый диагностический метод используемый в ЧССР	101
Шмиряк М., Грушовски Й., Гарчар Я.: Динамика аммиака в процессе долговременного складирования мясных консерв	109
Свобода М., Свободова В., Конрад Я.: Отношения между появлением антител против <i>Toxoplasma gondii</i> и клиническими диагнозами обследованных кошек	119

Revoluční odkaz Února

Při výročních významných událostí z dějin revolučního dělnického hnutí výrazněji vystupuje vztah socialistické přítomnosti k revoluční minulosti. Generace pamětníků i jejich nástupců se zamýšlejí nad výsledky dosaženými v minulosti i nad možnostmi dalšího rozvoje. Revoluční minulost a dílo velikanů revolučního Února jsou především zdrojem poučení, ale i výzvou měnit svět k lepšímu.

Od zrození dnů Vítězného února uplynulo již 40 roků. Tehdy dělnická třída dovršila v Československu deset let trvající zápas proti buržoazii. Politická moc plně přešla do jejich rukou. Československo se definitivně zařadilo mezi státy formujícího se socialistického společenství. Pevně stanulo po boku Sovětského svazu, který se v nejtěžších chvílích našich národů projevil jako přítel nejuvěrnější. Naše vlast vstoupila do nového období své historie, do období socialistické výstavby.

Při své návštěvě v ČSSR v roce 1986 prohlásil s. Gorbačov: „Koncem roku 1987 oslavíme 70. výročí Velké říjnové revoluce a v roce 1988 40. výročí Vítězného února v ČSSR. Tyto události spolu těsně souvisí. Ukazují historickou zákonitost přechodu k socialismu, bohatství a rozmanitost jeho forem. Ušli jsme velký kus cesty a mnohého jsme společně dosáhli. Ať jsou úkoly, které socialistickým zemím ukládají dějiny, sebetěžší, jsme přesvědčeni, že je dokážeme vyřešit. Zárukou toho je vůle našich stran, nevyčerpatelná možnost socialistického společenského zřízení, přátelství a soudružství našich národů“.

Každé výročí Února je pro nás příležitostí ocenit stranickou moudrost československého lidu. S hlubokou vděčností vzpomínáme na obětavost a odhodlání generací, které byly strůjci dějinného vítězství, na nositele komunistických idejí v těžkých dobách buržoazní republiky a v bojích za národní osvobození, na statisíce aktivních komunistů i bezpartijních, kteří v Únoru tak přesvědčivě podpořili politiku KSČ.

Vždy si budeme s obdivem připomínat rozhodné vystoupení Lidových milicí a příslušníků mladého Sboru národní bezpečnosti. Nikdy nebude zapomenuto jméno Klementa Gottwalda, věrného vlastence a uvědomělého internacionalisty, který mistrovsky ovládal revoluční strategii a taktiku. Pokud se komunisté řídili Gottwaldovou moudrostí a rozvážností, dosahovali úspěchů. Tam, kde na něj zapomínali, nesla společnost břímě chyb po dlouhá léta.

Mnoho velikanů revolucí projevuje největší sílu, odvahu a talent v okamžicích, kdy revoluční bouře ničí a rozmetá starý společenský řád. Ale ne všichni jsou schopni potom toto rozmetané kormidlo držet a dát mu správný směr.

Klement Gottwald prokázal v dobách zvednuté revoluční vlny veliké politické mistrovství zkušeného стратега. Tehdy, kdy strana hledala nové cesty a směr do budoucna, projevil nadání tvůrčí a budovatelské osobnosti.

Schopnost vést společnost k výstavbě socialismu závisela na přísném dodržování leninských principů a norem života strany. Proto Klement Gottwald velmi důrazně upozorňoval: „Musíme jako oko v hlavě střežit a pěstovat jednotu, velikost a akceschopnost naší Komunistické strany“. Když hovořil o nezbytnosti pečovat o čistotu stranických řad, uvedl: „... budeme do důsledku uplatňovat bolševické principy demokratického centralismu, vnitrostranické demokracie a stranické kritiky a sebekritiky. Potlačovat kritiku a nebýt schopný k sebekritice, demokratické přesvědčování zaměňovat mechanickým komandem, to znamená poškozovat stranu...“. Konečně má být vlastností každého člena strany bolševická skromnost. Skromnost, která pramení z vědomí, že jsme pro stranu nikdy neudělali dost, a co jsme udělali, nebylo by možné bez účasti celého stranického kolektivu. Pro stranu a pro každého jednotlivce platí: „Z úspěchů a vítězství nezbujnět, z neúspěchů a porážek neztrácet hlavu“.

Vítězný Únor bude v paměti našeho lidu, v paměti našich přátel i protivníků vždy zapsán jako dějinný milník ve vývoji Československé socialistické republiky.

Jestliže se zamyslíme nad příčinami vítězství pracujících v Únoru 1948, znovu si připomeňme základní principy, o které se i dnes opíráme.

V čele pracujících stála zkušená, v třídních bojích a národně osvobozenecích zápasech zocelená a revoluční teorií marxismu vyzbrojená Komunistická strana. V konkrétních podmínkách naší země dokázala tvůrčím způsobem využít obecných zákonitostí socialistické revoluce, prokázala schopnost uplatnit leninskou teorii přerůstání národní a demokratické revoluce v revoluci socialistickou v našich podmín-

kách. Program strany přitom vycházel z vlastní zkušenosti z dlouholetých třídních bojů, z bojů za obranu republiky před fašismem, opíral se o zkušenosti z ruských revolucí a z výstavby socialismu v SSSR. Důvěra lidí ve stranu, její vysoká autorita vyrůstala v bojích za národní a socialistické osvobození.

Strana se každoročně s lidem radila, měla těsné spojení s masami. Vítězství dělnické třídy v čele s KSC v únorových dnech bylo možné pouze proto, že bylo výsledkem revoluční aktivity širokých lidových mas.

Komunisté informovali, přesvědčovali, získávali. Nic nezakrývali, nezamlouvali. Nazývali věci pravými jmény, prostě a jasně, aby jim všichni rozuměli. Vysvětlovali svoji politiku všem srozumitelnou řečí, byli mezi dělníky jako doma mezi svými. Dokazovali, že program strany je uskutečnitelný, přitažlivý pro každého poctivého pracujícího člověka.

Viděli, že socialistická spravedlnost může existovat jen tehdy, když půda a tovarny a všechny hmotné statky budou patřit těm, kdo na nich pracují. A to byla přece pravda dělníků. Komunistická strana zformovala požadavky pracujících, nedala se ničím a nikým odradit a vědoma si svého poslání cílevědomě vedla lid k vítězství.

Komunistická strana Československa mohla v Únoru 1948 splnit své poslání proto, že byla organizačně stmelena, měla jasný program, byla dobře organizovaná, silná aktivitou svých členů a akceschopností svých orgánů a organizací. Charakteristickým rysem byla její ofenzivnost, schopnost neustále si udržovat politickou iniciativu. Její vedení soustavně hodnotilo poměr třídních sil v revoluci, včas reagovalo na nové tendence a na tomto základě konkretizovalo politickou linii strany, určovalo tempo a formy revolučního procesu. Politika strany byla konstruktivní politikou výstavby země. Komunisté tak neustále prokazovali oprávněnost vedoucí úlohy strany ve společnosti.

Únorové vítězství československého pracujícího lidu bylo součástí revolučního procesu ve světě, procesu epochy socialistických revolucí, epochy zahájené Velkou říjnovou socialistickou revolucí. Je nezbytné zdůraznit, vyzdvihnout hlubokou ideovou spjatost Velké říjnové socialistické revoluce a našeho Února. Pro KSC mělo zásadní význam, že se na závěru zápasu o moc ve prospěch dělnické třídy a pracujícího lidu mohla opírat o dobré zkušenosti Sovětského svazu. Tvůrčí uplatnění těchto zkušeností v našich podmínkách nám umožnilo úspěšně vyřešit úkoly této etapy našeho revolučního zápasu. Když bychom chtěli stručně bilancovat cestu, kterou jsme při budování nové společnosti prošli, vidíme, že to nebyla cesta bez překážek. Dělnická třída a její spojenci se teprve učili vládnout, a to za neustávajících útoků nepřátel. Nevybarovali jsme se ani omylů a chyb. Když se však rozhlédneme po své vlasti, můžeme hrdě prohlásit, že jsme vykonali záslužné dílo. V historicky krátké době jsme zvládli tak obrovské úkoly, jakými byla socialistická industrializace, přechod na družstevní velkovýrobu, kulturní revoluce, leninské řešení národnostní otázky. Stručně řečeno, dosažené výsledky upevňují naše přesvědčení, že jsme před 40 lety vykročili správným směrem. Socialismus je živoucí skutečností, je dneškem i budoucností Československa. Generace, které se o to zasloužily, lidé, kteří svůj um, svoje mozky i ruce přidali k tomuto dílu, žili plný život, jim patří prověrky dík současníků i našich potomků.

Mnoho jsme od Února dosáhli doma i v mezinárodních vztazích. Československo zaujímá pevné místo mezi ostatními socialistickými zeměmi i mezi ostatními vyspělými státy světa. Jsme hospodářsky, politicky, sociálně a kulturně vyspělý stát dávající jistoty a perspektivy všem občanům.

Nechceme a ani nemůžeme na únorové události jenom vzpomínat. Současná doba je rovněž převratná a revoluční. Jsou nutné stejně rychlé a převratné změny, jako tomu bylo před 40 lety. Proto i dnes stojí KSC v čele pokroku, podporuje boj nového se starým, zasazuje se o žádoucí změny v ekonomické a sociální sféře a v myšlení lidí. Analogicky s dobou před 40 lety svádí i dnes naše strana boj o člověka, o jeho přesvědčení, myšlení, morálku a pracovní kázeň. XVII. sjezd KSC přesvědčivě zdůraznil význam tohoto procesu stanovením strategie urychlení sociálně-ekonomického rozvoje. Ukázal jedinou možnou cestu dalšího vývoje.

V listopadu 1921 Vladimír Iljič Lenin napsal: „Nejllepším způsobem, jak slavit výročí Velké revoluce, je soustředit pozornost na její nevyřešené úkoly. Zvláště vhodné a nutné je oslavit podobným způsobem revoluci tehdy, když jsou to stěžejní úkoly, které revoluce ještě nevyřešila, je-li zapotřebí osvojit si k jejich vyřešení něco nového z hlediska toho, co revoluce dosud vykonala“.

Tato Leninova slova jsou aktuální právě dnes, v období ostrého obratu československých a světových dějin.

Tím novým úkolem je:

Zabezpečit vyšší dynamiku procesu zahájeného před 70 lety, plně a všestranně rozvinout činnost spjatou s urychlením sociálně-ekonomického rozvoje naší společnosti. Přestavba ve všech sférách života bude skutečnou revolucí dneška. Důležité je, aby přestavba v základně i nadstavbě, zejména přelom v chápání složitých úkolů současnosti, dostaly správný směr, aby uvedly do pohybu obrovské síly spočívající v socialistickém zřízení.

Před 40 lety v únorových dnech 1948 byly položeny základy naší dnešní socialistické výstavby i naší budoucnosti. Rozvíjejme je plněním strategických závěrů XVII. sjezdu KSČ. Tím naplníme revoluční odkaz slavného Únorového vítězství pracujícího lidu naší socialistické republiky.

Generálmajor prof. MVDr. Jozef Hrušovský, DrSc.

PATOMORFOLOGICKÉ SLEDOVÁNÍ ŠTÍTNÉ ŽLÁZY TELAT V RANÉM POSTNATÁLNÍM OBDOBÍ V NASÁVACÍ OBLASTI SVÚ PLZEŇ

F. Čada

ČADA, F. (Státní veterinární ústav, Plzeň): *Patomorfologické sledování štítné žlázy telat v raném postnatálním období v nasávací oblasti SVÚ Plzeň*. Veter. Med. (Praha), 33, 1988 (2) : 69-80.

Během čtyř roků (1982—1985) bylo patologicko-anatomicky vyšetřeno 1062 štítných žláz telat (z toho 754 telat ve věku do čtyř týdnů) z nasávací oblasti SVÚ Plzeň. U 140 žláz byla stanovena i hmotnost a posouzen histologický nálezn. Byla stanovena hmotnostní norma štítných žláz. U telat do jednoho týdne věku byla zjištěna průměrná hmotnost 10,7 g a s = 3,04 g s rozpětím od 5,7 do 17,6 g, u telat dva až čtyři týdny starých to bylo 10,9 g a s = 4,29 g s rozpětím 6,1 až 21,6 g. Průměrná hmotnost štítné žlázy dospělých krav činila 39,5 g a s = 7,72 g s rozpětím od 27,1 do 49,9 g. Kongenitální *struma parenchymatosa hyperplastica diffusa* byla zjištěna u 13 telat, což je 1,22 % z vyšetřených a 1,72 % z vyšetřených telat do čtyř týdnů věku. Průměrná hmotnost strumózních štítných žláz byla 36,6 g, což je více než trojnásobek průměrné hmotnosti štítných žláz normálních. V práci se diskutuje o možné etiopatogenezi kongenitální strumy v našich podmínkách a o souvislosti dalších symptomů karence jódu v chovech skotu i možnosti její diagnostiky. Kongenitální struma telat se v nasávací oblasti SVÚ Plzeň vyskytuje sporadicky, ale vzácně není.

hmotnostní normy; struma; patologická morfologie

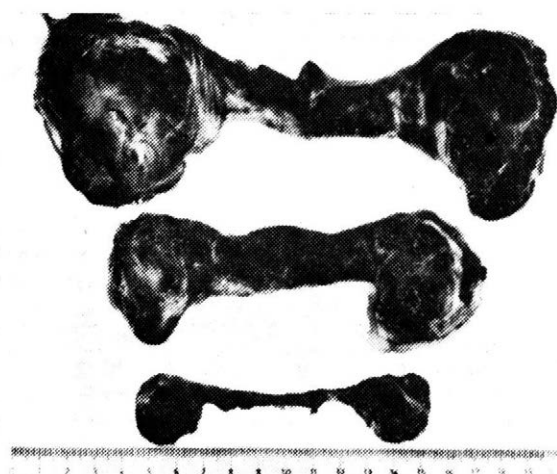
Nemoci štítné žlázy jsou známy už několik tisíc let. U skotu ani ostatních druhů zvířat v ČSR však dlouhodobě nepředstavují závažný problém, a proto jim není v běžné diagnostické praxi věnována pozornost.

Zdálo by se, že u skotu v moderních velkochovech Západočeského kraje jsou problémy s výskytem onemocnění štítné žlázy vyřešeny. Jednak se nejedná o významnou strumigenní oblast, jednak je jód v krmných dávkách běžně saturován v minerálním doplňku, který je obsažen v minerálních krmných přísadách pro skot. Jiné faktory ovlivňující funkci štítné žlázy u přežvýkavců jsou vzácné.

V roce 1982 jsme však opakovaně našli strumu u novorozených telat v jednom chovu v okrese Plzeň jih. To nás vedlo k trvalejšímu sledování patomorfologie štítných žláz telat vyšetřených ve Státním veterinárním ústavu Plzeň v letech 1982 až 1985.

MATERIÁL A METODY

Štítné žlázy byly pečlivě vypreparovány a jejich hmotnost určena s přesností na jednu desetinu gramu. Ke stanovení referenčních hodnot hmotností byly odebrány štítné žlázy telat do jednoho týdne věku a dva až čtyři týdny starých, dále



1. Dvě strumózní štítné žlázy (hmotnost 111,7 g; 42,1 g); dole kontrola (hmotnost 12,5 g) — Two goitrous thyroids (weight 111.7 g; 42.1 g); below: control (weight 12.5 g)

pěti krav poražených na jatkách a telat pitvaných v SVÚ Plzeň v roce 1982. Všechny byly kontrolovány histologicky.

Z každé štítné žlázy histologicky vyšetřované byly odebrány dvě excize (z každého laloku jedna), které byly fixovány v Bodianiho fixační tekutině a pak zpracovány běžnou parafinovou technikou. Některé řezy byly zhotoveny až po změkčení řezné plochy bločku glycerinem a anilinem (v poměru 9:1). Řezy jsme obarvili hematoxylin-eozinem a histologicky jsme je vyhodnotili (obr. 1).

Přehled počtu provedených vyšetření u telat dvou věkových kategorií telat a nálezy strumy je uveden v tab. I.

Po určení hmotnostních norem a získání zkušeností byly štítné žlázy posuzovány pouze makroskopicky (barva, transparence na řezu, velikost, tvar) a k histologickému vyšetření byly odebrány jen v případě makroskopických odchylek, především ve velikosti.

VÝSLEDKY

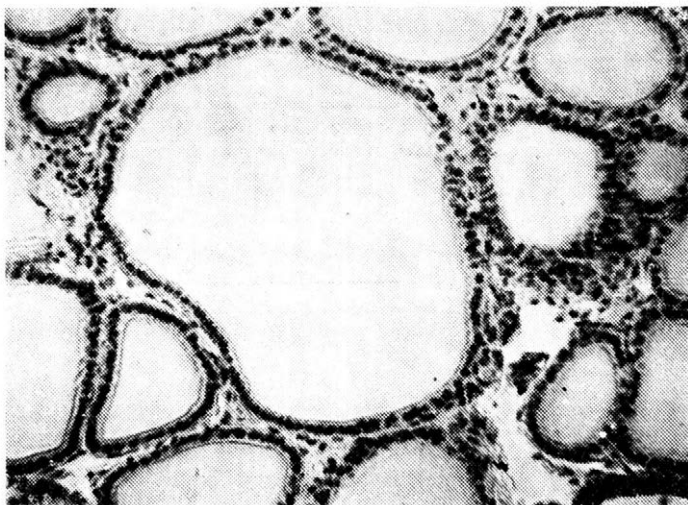
STANOVENÍ HMOTNOSTNÍCH NOREM ŠTÍTNÉ ŽLÁZY

Vzhledem ke značné variabilitě údajů o hmotnosti štítné žlázy v literatuře jsme byli nuceni vypracovat hmotnostní normu pro naše pod-

I. Počet vyšetřených telat a nálezů strumy — The numbers of calves subjected to examination and of goitre findings

Rok	Počet vyšetřených telat celkem	Počet vyšetřených telat do čtyř týdnů (z celku) věku	Počet histologicky vyšetřených a zvážených štítných žláz	Struma		
				celkem	procento z celku	procento telat do čtyř týdnů věku
1982	280	184	58	6	2,14	3,26
1983	256	168	26	0	0,00	0,00
1984	297	215	32	4	1,35	1,86
1985	229	187	24	3	1,31	1,60
Celkem	1062	754	140	13	1,22	1,72

2. Normální štítná žláza krávy (barveno HE $\times 160$) — Normal thyroid of a cow (HE stained, enlarged 160 times)

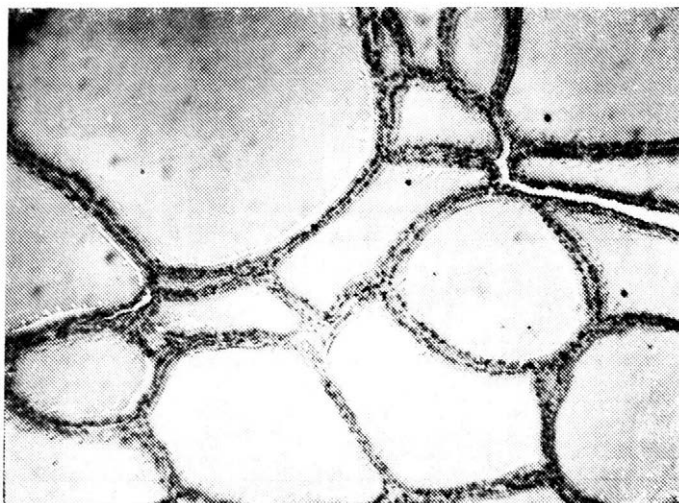


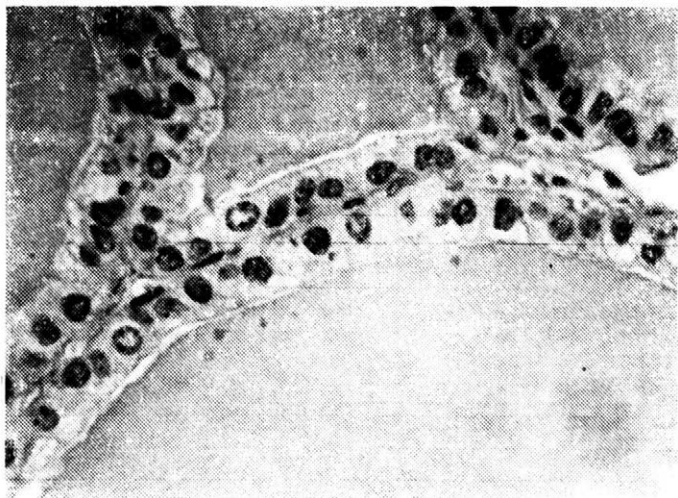
mínky. Do souboru byly zařazeny štítné žlázy s vyvinutými folikuly, vyplněnými denzním koloidem, vystlané kubickým epitelem, převážně bez výrazných známek resorpce koloidu na jeho periferii (obr. 2 a 4). Vzhledem k tomu, že štítné žlázy odpovídaly takovému histologickému obrazu spíše výjimečně, byly do souboru zařazeny i štítné žlázy s resorpční aktivitou na periferii koloidu folikulů (obr. 3 a 5), pokud vakuolární lem netvořil souvislou zónu (obr. 12). V každém případě však byl epitel folikulů kubický a folikuly byly dobře vyvinuté.

U dospělých krav byly histologické nálezy uniformní (obr. 2).

Makroskopicky byly normální štítné žlázy u všech kategorií zvířat tvarově jednotné (dva symetrické laloky spojené istmem), růžově červené a na řezu měly transparentní (sklovitý) vzhled. Přehled hmotnostních nálezů štítných žláz histologicky normálních a výpočet průměrné hmotnosti a směrodatné odchylky je zpracován v tab. II.

3. Normální štítná žláza telete pět dní starého. Mírná vakuolizace koloidu na jeho periferii (barveno HE $\times 160$) — Normal thyroid of a calf five days old. Slight vacuolization of the colloid in periphery (HE stained, enlarged 160 times)



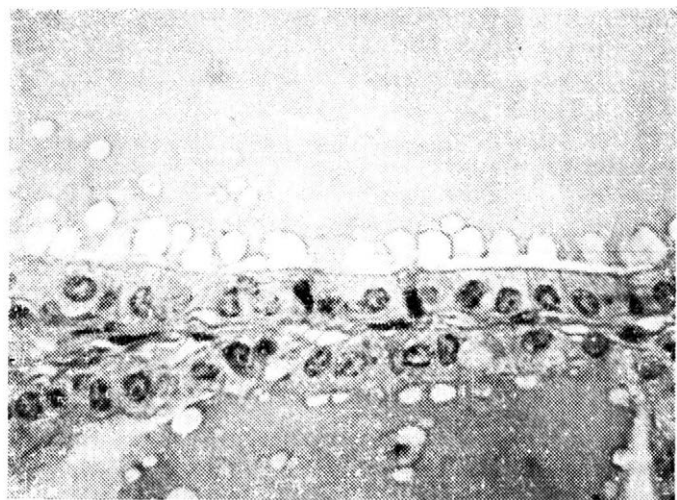


4. Detail z obr. 2. Epitel kubický, koloid bez resorpčních vakuol (barveno HE X 400) — Detail of Fig. 2. Cubical epithelium, the colloid without resorption vacuoles (HE stained, enlarged 400 times)

STRUMÓZNÍ ŠTÍTNÉ ŽLÁZY

V roce 1982 bylo histologicky vyšetřeno (i zváženo) více štítných žláz proto, že jsme v této době získávali zkušenosti v makroskopickém posuzování a odhadu hmotnosti. Kritériem strumy byl ve všech případech histopatologický nález. V dalších letech jsme histologicky vyšetřovali pouze v případě makroskopických odchylek (resp. pochybností), a to na základě odhadu velikosti, barvy a struktury na řezu.

Kromě zvětšení (tab. III) vykazovaly strumózní štítné žlázy červeno-hnědé (tmavě masové) zbarvení a na řezu ztrátu transparency (matný, masový vzhled). Jak ukazuje tab. III, byla průměrná hmotnost strumózních štítných žláz ve srovnání se štítnými žlázami normálními (tab. II) více než trojnásobná a průměrná odchylka 25,98 g více než osminásobně převyšuje směrodatnou odchylku 3,04 g. Rovněž odchylka u nejmeně zvětšené tyreoidy trojnásobně převyšuje směrodatnou odchylku,



5. Detail z obr. 3. Epitel kubický, mírná vakuolizace koloidu (barveno HE X 400) — Detail of Fig. 3. Cubical epithelium, the colloid slightly vacuolized (HE stained, enlarged 400 times)

II. Hmotnost histologicky normálních štítných žláz — The weight of histologically normal thyroids

Věk	Počet vyšetřených kusů	Průměrná hmotnost	Maximální hmotnost	Minimální hmotnost	Směrodatná odchylka (s)
		g			
Do jednoho týdne	31	10,7	17,6	5,7	3,04
Dva až čtyři týdny	18	10,9	21,6	6,1	4,29
Souhrn do čtyř týdnů	49	10,8	21,6	5,7	3,50
Dospělé krávy	5	39,5	49,9	27,1	7,72

ale hmotnost této štítné žlázy se blíží maximální hmotnosti normálních štítných žláz.

HISTOPATOLOGICKÉ NÁLEZY U MAKROSKOPICKY STRUMÓZNÍCH ŽLÁZ

Nálezy lze rozdělit do tří základních skupin:

S k u p i n a I — Změny byly charakterizovány výrazným postupným zánikem folikulární struktury (obr. 6) s postupným mizením koloidu ve zbylých folikulech (obr. 7), kolapsem folikulů a postupnou celulizací

III. Struma zjištěná u 13 telat do jednoho týdne věku — hmotnost a histopatologické změny — Goitre found in 13 calves up to the age of one week — the weight and histopathological changes

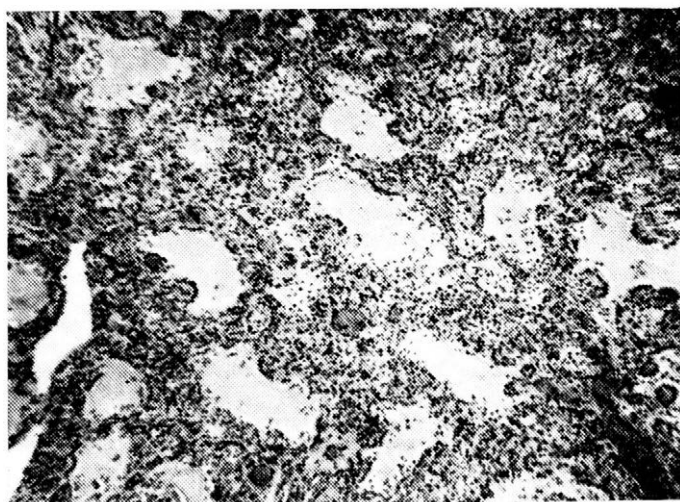
Hmotnost štítné žlázy g	Odchylka od normálního průměru g	Hlavní histopatologický nálezy (popis skupiny uveden v textu práce), ev. číslo obrázku	
111,7	101,0	skupina 3	obr. 1
42,1	31,4	skupina 3	obr. 1
20,3	9,6	skupina 1	obr. 6
26,8	16,1	skupina 1	obr. 7
24,2	13,5	skupina 1	—
27,1	16,4	skupina 1	—
26,2	15,5	skupina 2	obr. 9
27,2	16,5	skupina 2	obr. 9
47,7	37,0	skupina 3	obr. 9
56,5	45,8	skupina 1	obr. 7
21,6	10,9	skupina 1	—
22,0	11,3	skupina 3	obr. 11
23,5	12,8	skupina 2	—

Skupina 1 = typ podle obr. 6 a 7; skupina 2 = typ podle obr. 9; skupina 3 = typ podle obr. 10 a 11
Průměrná hmotnost = 36,6 g

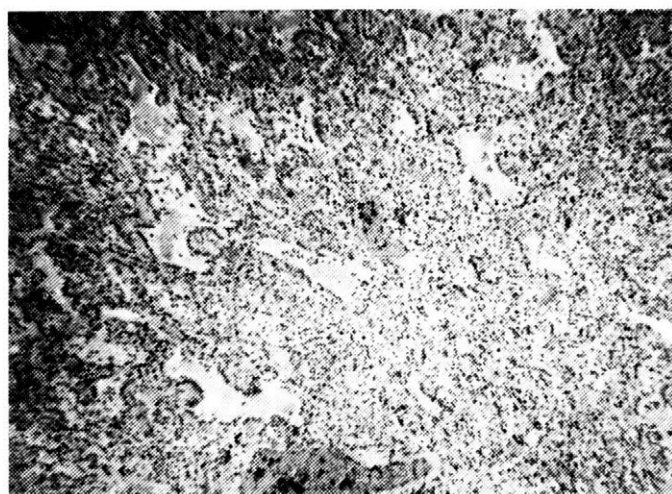
Průměrná odchylka od fyziologického průměru = 25,9 g

Maximální odchylka od fyziologického průměru = 101,0 g

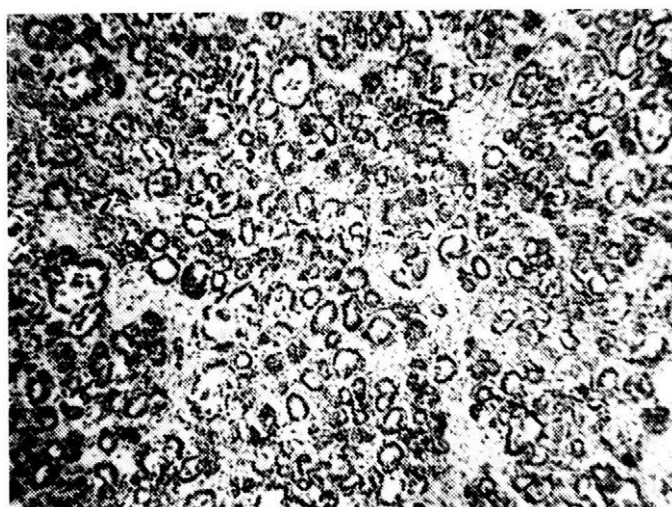
Minimální odchylka od fyziologického průměru = 9,6 g



6. Struma (hmotnost štítné žlázy 20,3 g). Nález jako na obr. 7 — méně vyvinutý (barveno HE $\times$ 63) — Goitre (thyroid weighing 20.3 g). The finding like in Fig. 7 — less advanced (HE stained, enlarged 63 times)

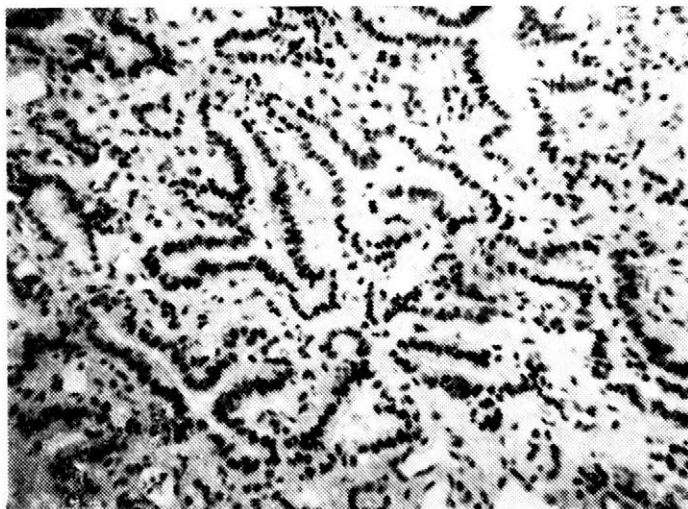


7. Struma (hmotnost štítné žlázy 56,5 g). Pokročilý zánik folikulární struktury, rezidua koloidu, kolaps folikulů a jejich epitelizace. Nastříknuté cévy (barveno HE $\times$ 63) — Goitre (thyroid weighing 56.5 g). Advanced disintegration of follicular structure, colloid residues, follicle collapse and epithelization. Blood vessels injected (HE stained, enlarged 63 times)



8. Štítná žláza fétu skotu, věk pět měsíců. Vyvinuté folikuly, počínající tvorba koloidu (barveno HE $\times$ 63) — The thyroid of a bovine foetus, age five months. Well-developed follicles, colloid starting to develop (HE stained, enlarged 63 times)

9. Struma (hmotnost štítné žlázy 27,2 g). Adenoidní vzhled, kolaps folikulů. Epitel folikulů cylindrický, místy s náznakem vrstvení (barveno HE X 160) — Goitre (thyroid weighing 27.2 g). Adenoid appearance, follicle collapse. Follicle epithelium is cylindrical, with certain topical stratification (HE stained, enlarged 160 times)



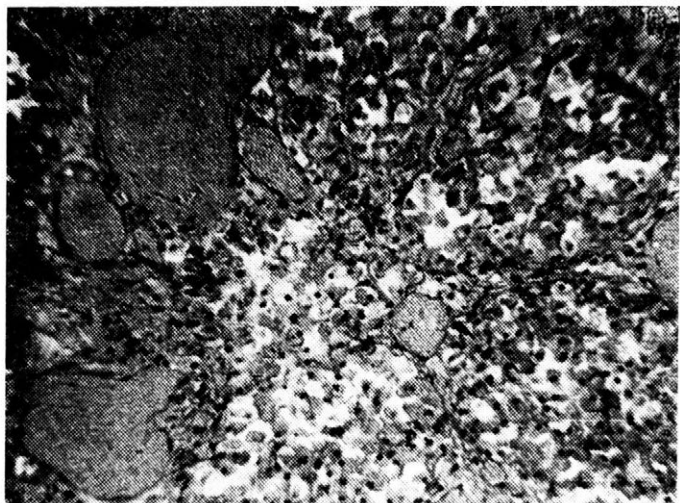
(epitelizací) zbylých struktur folikulů. Na řezech byly výrazné nastříklé cévy. Celkový vzhled do jisté míry připomínal fetální štítnou žlázu (obr. 8).

Skupina II — Tato skupina je charakterizována vymizením folikulární struktury s kolapsem folikulů a zvětšením folikulárního epitelu, který se stával cylindrickým a místy měl tendenci k vrstvení (obr. 9) i k počínající papilární proliferaci. Celkový vzhled činil adenomatózní dojem. V kolabovaných folikulech byly zjišťovány místy nepatrné zbytky světlého vakuolizovaného koloidu (obr. 9).

Skupina III — Tuto skupinu tvořily změny charakterizované parenchymatózním vzhledem štítné žlázy, která byla tvořena plně epitelizovanými folikuly (obr. 10) s výrazným překrvením (obr. 11). Epiteliální buňky měly polygonální nebo zaoblený tvar s hojnou cytoplazmou a tmavé pyknotické bazofilní jádro. Místy mizely interfolikulární hranice.

10. Struma (hmotnost štítné žlázy 111,7 g). Parenchymatózní vzhled štítné žlázy. Epitelizace folikulů. Mizení interfolikulárních hranic (barveno HE X 160) — Goitre (thyroid weighing 111.7 g). Parenchymatous appearance of the thyroid. Follicle epithelization. Interfollicular boundaries disappearing (HE stained, enlarged 160 times)

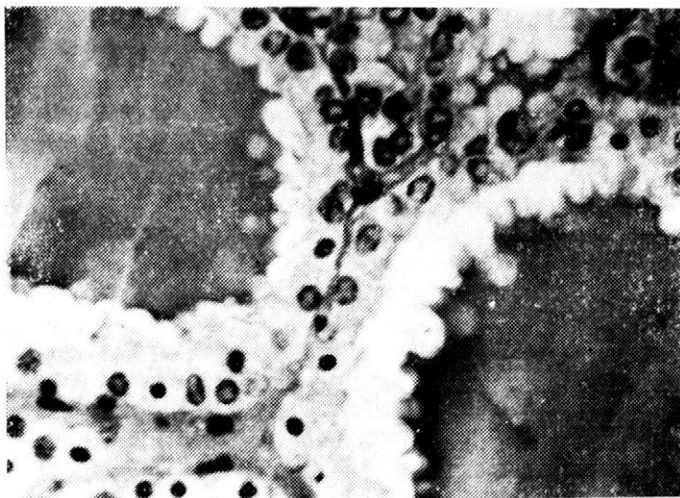




11. Struma (hmotnost štítné žlázy 22,0 g). Nález jako na obr. 10, navíc výrazné překrvení (barveno HE $\times 160$) — Goitre (thyroid weighing 22.0 g). The finding like in Fig. 10, combined with marked congestion (HE stained, enlarged 160 times)

Celkově je nález strumózních štítných žláz a nález histopatologických změn uveden v tab. III.

Při histologickém vyšetřování štítných žláz jsme jak při stanovování hmotnostních norem, tak u makroskopicky suspektních strum nacházeli poměrně často kvantitativně různý stupeň resorpce koloidu na periferii, a to od ojedinělých vakuol přes jejich víceméně souvislé řady (obr. 5) až po souvislý resorpční pás na periferii (obr. 12). V ostatních histologických znacích se u těchto štítných žláz neprojevily odchylky epitelu, změny kvality koloidu, ani výraznější krvení. I když takovýto nález odpovídá aktivaci štítné žlázy TSH, nebylo možné rozhodnout, zda se jedná o aktivaci v hranicích fyziologické normy, stanovitelnou objektivními metodami (stanovení jódu, hormonů štítné žlázy ap.). Takto změněné thyreoidey (hmotností vždy odpovídající normě) proto nebyly zařazeny jako strumózní.



12. Štítná žláza novorozeného telete s výraznou zónou vakuolárního lemu na periferii koloidu. Některá jádra epitelálních buněk pyknotická (barveno HE $\times 400$) — The thyroid of a newborn calf with a marked zone of vacuolar fringe on the colloid periphery. Some nuclei of the epithelial cells are pycnotic (HE stained, enlarged 400 times)

Zjištěné hmotnosti štítné žlázy, uvedené v tab. II, odpovídají literárním údajům, které jsou však zřejmě závislé na lokalitě a plemenu skotu, u něhož byly zjišťovány.

Wilson (1975) uvádí normální hmotnost neonatální štítné žlázy skotu od šesti do sedmi gramů v závislosti na plemenu (platí pro oblasti bez výskytu endemické strumy). Hernandez aj. (1972) udávají normální rozpětí od pěti do jedenácti gramů. Loosmore aj. (1962) zjistili (v oblasti s výskytem endemické strumy) u štítných žláz s normálním histologickým nálezem hmotnost 12,5 g a u štítných žláz s histopatologickými změnami 13,8 g. Bol (1957) udává pro telata ve věku dva a půl měsíce rozpětí 3 až 16 g a u dospělého skotu 20 až 30 g. Průměrnou hmotnost štítné žlázy u nížinného skotu 4,033 g a u horského 14,32 g uvedl Duerst [cit. Nieberle — Cohrs, 1970].

Variabilita hmotnosti, udávaná jednotlivými autory, zřejmě vyplývá z různého materiálu, u kterého byla stanovena. Jak uvedl Wilson (1975), budou např. v podmínkách suboptimálního zásobení jódem štítné žlázy fyziologicky hyperplastické, ale nemusí být ještě důkazem následných patologických procesů (předčasné porody, aborty ap.). Je proto nutné je považovat za kompenzační hyperplazii. Z toho (v souhlase s Wilsonem, 1975) lze vyvodit, že samotný nález hyperplazie štítné žlázy bez dalšího šetření v chovu nelze vždy uzavřít jako nozologickou jednotku. Hmotnost štítné žlázy je nutné považovat (zvláště v hraničních oblastech) za orientační ukazatel a při jejím hodnocení se musí brát v úvahu adaptační, fyziologická hyperplazie.

V našem souboru jsme se setkali s poměrně početnými nálezy různého stupně resorpce koloidu na periferii. Vzhledem k vysoké aktivitě neonatální štítné žlázy u skotu, jak ji uvádějí např. Nathanielsz aj. a Slobodzinski [cit. Wilson, 1975], považujeme tyto změny za známky právě této fyziologické aktivity. Přesto by bylo potřebné kvantifikovat změny alespoň stanovením jódu ve štítné žláze, aby mohla být blíže specifikována jistá hranice normy těchto morfologických změn.

Přes všechny tyto problémy jsou stanovená hmotnostní kritéria při makroskopické i histologické kontrole postačující ke zjištění strumy telat v našich chovech.

Strumy zjištěné ve sledovaných případech odpovídaly podle morfologického členění, které uvedli Bednář aj. (1984), *struma parenchymatosa hyperplastica diffusa*. Tento nález se shoduje s nálezy jiných autorů u telat (Wilson, 1975; Loosmore aj., 1962 a další).

V humánní patologii je tento typ strumy často spojen s hyperfunkcí štítné žlázy (Basedowou chorobou), hypertyreózou. Na rozdíl od člověka je hypertyreóza u domácích zvířat vzácným fenoménem. Rijnberk (1971) a Jubb — Kennedy (1970) — [cit. Mason a Wilkinson, 1973] uvádějí, že u zvířat je nejčastější formou hypotyreóza, a proto také byla nejčastěji studována. Wilson (1975) uvedl, že hypotyreóza je nejčastější formou poruch štítné žlázy skotu.

Rozdílný funkční projev parenchymatózní hyperplastické strumy u lidí a skotu vyplývá z podstatně odchylné etiopatogeneze, přičemž společným znakem je zvýšená stimulace žlázy TSH a výsledné morfologické projevy ve štítné žláze.

Hmotnost zjištěných strumózních štítných žláz byla ve všech případech nad hranicí normy i jejího maxima pro telata do jednoho týdne věku. Průměrná hmotnost 36,6 g je více než trojnásobkem průměrné hmotnosti normálních štítných žláz. Vzhledem k tomu, že struma byla zjišťována u telat tohoto věku, jedná se o strumu kongenitální.

Protože struma byla za sledované období (vždy v rozmezí jednoho měsíce) zjištěna jednou u tří telat a jednou u dvou telat v jednom chovu (v ostatních případech jednotlivě) a vyskytla se ve třech okresech Západočeského kraje, lze konstatovat, že se jednalo o strumu sporadickou. Přesto její nález v procentech z vyšetřených telat za období čtyř let (tab. I) ukazuje, že výskyt v chovech není vzácný. O to závažnější je, že se jednalo o strumu kongenitální, takže je nutno v její etiopatogenezi brát v úvahu matku telete jako hlavní faktor.

Podíváme-li se na etiologické schéma hypotyreózy přežvýkavců (Wilson, 1975), nabízí se několik možných etiologických faktorů běžně v našich podmínkách objektivně působících, i když se nejedná o strumigenní oblast. Jsou to intenzivní hnojení dusíkem a draslíkem, možné je i vysoké pH půdy, které snižuje obsah jódu v pícninách. U krmných dávek není vzácné překrmování dusíkatými látkami a krmení rostlinami s obsahem strumigenů (především z čeledi *Brassicaceae*).

Kongenitální struma telat je jen jedním z příznaků poruch z nedostatku jódu v chovech. Existuje celá škála dalších onemocnění nebo etiopatogenetických momentů, které při běžné diagnostice v chovech nejsou brány v úvahu (aborty, předčasné porody, snížený obsah tuku v mléce, infertilita atd.) (Wilson, 1975).

Proto by bylo vhodné při řešení těchto případů vždy vyloučit karenci jódu ať už anamnesticky, nebo v případech hynutí telat vyšetřit štítnou žlázu patomorfologicky.

K objektivizaci kritérií funkce štítné žlázy bude nutné zavést metody průkazu jejich hormonů nebo i jódu v biologickém materiálu do běžné diagnostické praxe.

Poděkování

Autor děkuje za účinnou spolupráci MVDr. J. Hrdličkovi a za technickou spolupráci J. Kočandrové.

Literatura

- BEDNÁŘ, B. et al.: Patologie (III). 2. vyd. Praha, Avicenum 1984. 651 s.
BOL, B. K.: Patologicko-anatomická pitva hospodářských zvířat. 1. vyd. Praha, CSAZV 1957. 273 s.
HERNANDEZ, M. V. — ETTA, K. M. — REINEKE, E. P. — OXENDER, W. D. — HAFS, H. D.: Thyroid function in the prenatal and neonatal bovine. *J. anim. Sci.*, 34, 1972, s. 780-785.
LOOSMORE, R. M. — ALLCROFT, R. — SALT, F. J. — HUGHES, D. E. — CHOU, J. T. Y. — WILSON, D. C.: Thyroid dysfunction in aborted and new-born calves. *Nature*, 193, 1962, s. 595-596.
MASON, R. — WILKINSON, J. S.: The thyroid gland — a review. *Aust. veter. J.*, 49, 1973, s. 44-49.
MILLER, J. K. — SWANSON, E. W. — SPALDING, G. E.: Iodine absorption, excretion, recycling, and tissue distribution in the dairy cows. *J. Dairy Sci.*, 58, 1975, s. 1578-1593.

NIEBERLE-COHRN, P.: Lehrbuch der speziellen pathologischen Anatomie der Haustiere. Teil II. Jena, Gustav Fischer Verlag 1970. 582 s.
WILSON, J. G.: Hypothyroidism in ruminants with special reference to foetal goitre. Veter. Rec., 97, 1975, s. 161-164.

Došlo dne 20. 3. 1987

ЧАДА, Ф. (Государственный ветеринарный институт, Пельзень): Патоморфологические исследования щитовидной железы телят в раннем послеродовом периоде в области молокоприемки ГВИ Пельзень. Veter. Med. (Praha), 33, 1988 (2) : 69-80.

В течение четырех лет (1982—1985) было патолого-анатомически обследовано 1062 щитовидных желез телят (из них 754 телат в возрасте до 4 недель) из области молокоприемки ГВИ Пельзень. У 140 желез был установлен вес и описано гистологическое обследование. Была установлена весовая норма щитовидных желез. У телат до 1-ой недели возраста был установлен средний вес 10,7 г и $s = 3,04$ г с интервалом от 5,7 до 17,6 г у телат 2—4-ех недельного возраста он составлял 10,9 г и $s = 4,29$ г с интервалом 6,1—21,6 г. Средний вес щитовидной железы взрослых коров составлял 39,5 г и $s = 7,72$ г с интервалом 27,1—49,9 г. Врожденный зоб *struma parenchymatosa hyperplastica diffusa*, был установлен у 13 телат, что составляет 1,22% из обследованных и 1,72% из обследованных телат до 4 недельного возраста. Средний вес зобных щитовидных желез составлял 36,6 г, что представляет свыше 3-ех разовый средний вес щитовидных желез нормальных телат. В работе обсуждается возможный этиопатогенез врожденного зоба в наших условиях и взаимосвязь дальнейших симптомов недостатка йода в разведениях крупного рогатого скота и возможности его диагностики. Врожденный зоб телат в области молокоприемки ГВИ Пельзень появляется спорадически, но не является редкостью.

весовые нормы; зоб; патологическая морфология

ČADA, F. (State Veterinary Institute, Plzeň): *Pathomorphological Investigation of the Thyroid Glands of Calves in the Early Postnatal Period within the Supply Area of the State Veterinary Institute at Plzeň*. Veter. Med. (Praha), 33, 1988 (2) : 69-80.

Thyroid glands of 1062 calves (754 of these calves were up to four week of age) within the supply area of the State Veterinary Institute at Plzeň were subjected to patho-anatomic investigation within a period of four years (1982—1985). The weight was recorded and the histological findings were evaluated in 140 thyroids. The weight standard of the thyroids was determined. The average weight of the thyroids of calves up to one week of age was 10.7 g and $s = 3.04$ g, the range being from 5.7 to 17.6 g. The average weight of thyroids of calves old two to four weeks was 10.9 g and $s = 4.29$ g, the range being from 6.1 to 21.6 g. The respective values for adult cows were 39.5 g, $s = 7.72$ g, range from 27.1 to 49.9 g. Congenital *struma parenchymatosa hyperplastica diffusa* was recorded in 13 calves; this is 1.22% of all calves examined and 1.72% of all examined calves up to the age of four weeks. The average weight of goitrous thyroids was 36.6 g, which is more than three times the average weight of the normal thyroids. Etiopathogenesis of congenital goitre under Czechoslovak conditions is discussed, along with the circumstances of the occurrence of other symptoms of iodine deficiency in cattle herds, and the possibilities of diagnosis. In the supply area of the State Veterinary Institute at Plzeň, congenital goitre occurs just sporadically, though it is not a rare disease.

weight standards; goitre; pathological morphology

ČADA, F. (Staatliches Veterinärinstitut, Plzeň): *Pathomorphologische Untersuchung der Schilddrüse bei Kälbern in der frühesten postnatalen Periode im Einzugsgebiet des SVI Plzeň*. Veter. Med. (Praha), 33, 1988 (2) : 69-80.

Im Verlauf von vier Jahren (1982—1985) wurden pathologisch-anatomisch 1062 Schilddrüsen der Kälber (davon 754 Kälber im Alter von höchstens vier Wochen)

aus dem Einzugsgebiet des SVI Plzeň untersucht. Bei 140 Drüsen wurde auch das Gewicht ermittelt und der histologische Befund beurteilt. Es wurde die Gewichtsnorm der Schilddrüsen festgelegt. Bei Kälbern, die jünger als 1 Woche waren, konnten wir ein Durchschnittsgewicht von 10,7 g mit $s = 3,04$ g und mit einer Schwankung von 5,7—17,6 g ermitteln, bei den zwei bis vier Wochen alten Kälbern betrug es 10,9 g mit $s = 4,29$ g mit einer Schwankung von 6,1 bis 21,6 g. Das Durchschnittsgewicht der Schilddrüse von alten Kühen betrug 39,5 g mit $s = 7,72$ g und mit einer Schwankung von 27,1 bis 49,9 g. Die kongenitale *Struma parenchymatosa hyperplastica diffusa* konnte bei 13 Kälbern ermittelt werden, was 1,22 % aller untersuchten und 1,72 % aller bis zum Alter von vier Lebenswochen untersuchten Kälber darstellt. Das Durchschnittsgewicht der strumösen Schilddrüsen betrug 36,6 g, was mehr als das Dreifache des Durchschnittsgewichtes von normalen Schilddrüsen darstellt. Die vorliegende Arbeit befasst sich mit der möglichen Ätiopathologie der kongenitalen Struma unter unseren Bedingungen und mit dem Zusammenhang weiterer Symptome der Karenz von Jod in den Rinderzuchten einschliesslich der Möglichkeiten zu deren Diagnostik. Die kongenitale Struma der Kälber kommt im Einzugsgebiet des SVI Plzeň nur sporadisch vor, selten ist sie aber nicht.

Gewichtsnormen; Struma; pathologische Morphologie

Adresa autora:

MVDr. František Čada, Státní veterinární ústav, Pod vrchem 51, 312 80 Plzeň

VZŤAHY MEDZI OBSAHOM MYOGLOBÍNU A AKTIVITOU SUKcinÁT DEHYDROGENÁZY VO SVALOVÝCH VLÁKNACH

V. Uhrín, E. Kulišková, P. Uhrín

UHRÍN, V. — KULIŠKOVÁ, E. — UHRÍN, P. (Výskumný ústav živočíšnej výroby, Nitra): *Vzťahy medzi obsahom myoglobínu a aktivitou sukcinát dehydrogenázy vo svalových vláknach*. Veter. Med. (Praha), 33, 1988 (2) : 81-89.

Porovnávali sme histochemickú aktivitu sukcinát dehydrogenázy (SDH) a intenzitu reakcie na prítomnosť myoglobínu (Mb) v tých istých svalových vláknach *m. longissimus thoracis* (MLT), *m. semimembranosus* (MSM), *m. rectus femoris* (MRF) a *caput longum m. tricipitis brachii* (MTB). Zároveň sme zisťovali aj obsah myoglobínu v jednom gramu čerstvého svalu. Zistili sme, že svalové vlákna vo všetkých sledovaných svaloch, v ktorých je najintenzívnejšia reakcia pri dôkaze SDH, sa najintenzívnejšie farbila aj pri dôkaze Mb. Taká istá závislosť je aj u intermediárnych a bielych vlákien. Reakcia pri dôkaze SDH na priečnom priereze je najvyššia v subsarkolemálnej oblasti. V distribúcii Mb sa prejavujú podobné tendencie, aj keď menej výrazné, a to len vo vláknach s intenzívnou reakciou. Rôzne svaly majú rôznu hladinu myoglobínu. Svaly s vyšším podielom červených a intermediárnych vlákien obsahujú viac myoglobínu ako svaly s vysokým podielom bielych vlákien. Kvantitatívne hodnoty hladín Mb (g/čerstvý sval) však nie sú úmerné podielu jednotlivých typov svalových vlákien v sledovaných svaloch.

svalové vlákna; myoglobín; sukcinát dehydrogenáza

Aerobný potenciál svalov sa môže posudzovať na základe výskytu myoglobínu a mitochondrií vo svalových vláknach. Mitochondrie sú organely, ktoré sa zapájajú do využitia substrátov tým, že získavajú energiu zo živín a zachycujú energiu, ktorá sa uvoľňuje oxidatívnymi procesmi za súčasnej tvorby makroergických väzieb ATP (Harper, 1977). Myoglobín je hemoproteín, ktorý viaže molekuly kyslíka, hromadí ich a transportuje vo vnútri svalového vlákna k mitochondriám. Rozvoj histochemických a biochemických metód, ktoré umožnili diferencovať svalové vlákna na jednotlivé typy (Dubovitz a Pearse, 1960; Brooke a Keiser, 1970; Ashmore a Doerr, 1971; Peter a i., 1972), podnietil aj štúdium vzájomných vzťahov týchto dvoch významných činiteľov oxidatívneho metabolizmu vo svaloch. Zistilo sa totiž, že obsah myoglobínu je vyšší v pomalých červených vláknach, ktoré využívajú energiu aerobnou cestou. V rýchlych bielych vláknach, ktoré získavajú energiu predovšetkým anaeróbnou glykolýzou, sa vyskytuje v menšom množstve. A tak isto sa prejavuje vysoko pozitívna reakcia pri histochemickom dôkaze enzýmov lokalizovaných na mitochondriách (NADH, SDH) v červených vláknach, kým vo vláknach bielych je reakcia veľmi slabá (Jansson a Sylvén, 1983; Nemeth a Lowry, 1984;

Swatland, 1985). Preto sa predpokladá, že histochemicky dokázaná aktivita sukcinát dehydrogenázy by mohla byť meradlom spotreby kyslíka a aktivita dehydrogenázy, plocha priečného prierezu svalových vlákien a koncentrácia myoglobínu by mohli byť dôležitými faktormi v určovaní veľkosti anoxických oblastí vo svaloch. Zaujímali nás otázky vzájomných závislostí medzi distribúciou aktivity sukcinát dehydrogenázy a distribúciou myoglobínu ako medzi jednotlivými typmi svalových vlákien, tak aj v rámci každého typu, a vzťahy k množstvu myoglobínu v grame čerstvého svalu.

MATERIÁL A METÓDA

K pokusom sme použili päť ošípaných plemena biela ušľachtilá, ktoré sa porážali vo veku 180 dní pri priemernej hmotnosti 100 kg.

Vzorky svalov sme odobrali z *m. longissimus thoracis* (MLT) v úrovni 13. rebra, z *m. semimembranosus* (MSM) na šírku dlane od jeho odstupe za sedacím oblúkom, z *m. rectus femoris* (MRF) a z *caput longum m. tricipitis brachii* (MTB), z geometrického stredy obidvoch svalov. Odobrali sme ich v priebehu 30 až 45 minút po zabíjaní a rozdelili na dve časti.

Prvú časť, bločky cca 1 cm³, sme ihneď zmrazili v tekutom dusíku, kde sme ich ponechali až do spracovania. Za 24 hodín sme z nich narezali na kryostate pri teplote -15 °C sériové rezy, hrubé okolo 15 μm. Tie sme podrobili histochemickým reakciám pre dôkaz sukcinát dehydrogenázy (SDH) a myoglobínu (Mb). Pre dôkaz SDH sme použili ako inkubačné médium roztok nitro BT s jantaranom sodným podľa metódy, ktorú opisujú Lojda a Papoušek (1965). Pre dôkaz myoglobínu sme použili princíp metódy, ktorú pre kryostatové rezy vypracoval Swatland (1979) a ktorú sme modifikovali. Rezy sme nechali uschnúť pri izbovej teplote jednu až dve hodiny, potom sme ich predfixovali v 0,1% kyseline osmičelej 30 minút. Po opláchnutí v destilovanej vode sme ich fixovali jednu minútu v roztoku 1,5% kyseliny sulfosalicylovej a 1,5% glutaraldehydu aa. pH roztoku sme neupravovali, dosahoval približne pH 5. Po fixácii sme podložné sklíčka osušili filtračným papierom a inkubovali päť minút v nasýtenom roztoku benzidínu (Benzidine X 2 HCl — Serva) a 3% roztoku H₂O₂ aa. Miesto benzidínu odporúča Swatland (1979) použiť o-tolidín (o-Tolidine — Serva), ktorý nie je jedovatý. Po ofarbení sme rezy odvodnili vo vzostupnom rade alkoholov, prejasnili v xyléne a montovali v kanadskom balzame.

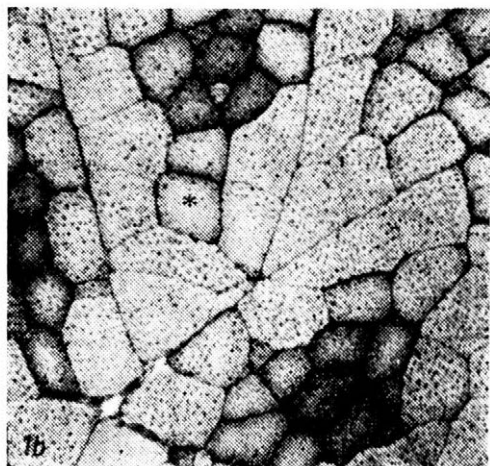
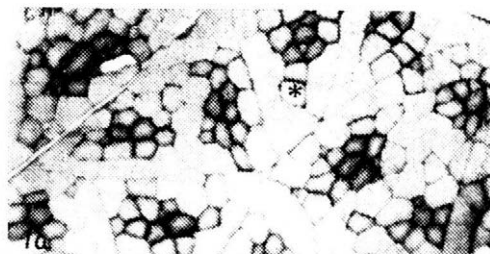
Na označenie jednotlivých typov svalových vlákien pri obidvoch metódach sme použili triedenie a nomenklatúru, ktorú opísali Ashmore a Doerr (1971) — *αR*, *αR* a *αW* vlákna. Zisťovali sme priemernú hrúbku všetkých svalových vlákien a hrúbku, percento počtu a percento plochy jednotlivých typov svalových vlákien. Tieto hodnoty sme zisťovali na mikrofotografiách pri rovnakom zväčšení (215X) pomocou štvorcovej mriežky o hrane štvorca 0,5 cm podľa metódy, ktorú sme opísali v predchádzajúcej práci (Uhrin a Kulíšek, 1979). Mikrofotografie sme zhotovili na mikroskope ZEISS NU pomocou mikrofotografického zariadenia BAI ZEISS na filmy ORWO MA.

Z druhej vzorky sme ihneď po odobraní odvážili cca 1,5 g a zhomogenizovali sme ju v 6 ml destilovanej vody pomocou homogenizátora ULTRA TURRAX. Homogenát sme ponechali v chladničke 24 hodín pri teplote 5 °C. Potom sme ho odstredili, myoglobín v supernatante sme previedli na kyanmyoglobín podľa metódy, ktorú opísali Steinhaufer a i. (1965). Obsah myoglobínu sme stanovili na fotokolorimetri Spekol pri vlnovej dĺžke 546 nm.

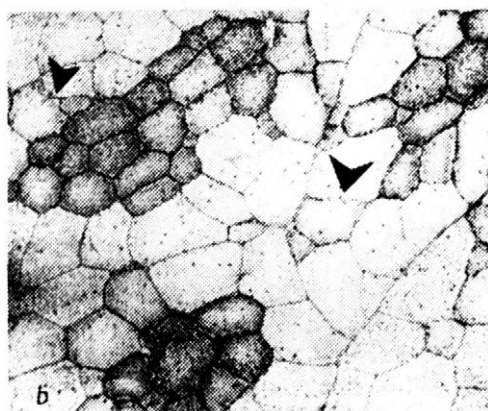
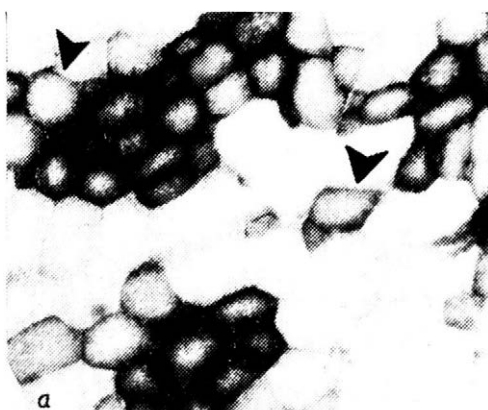
Výsledky objektívnych meraní sme hodnotili štatisticky. Vypočítali sme priemer, smerodajnú odchýlku, strednú chybu priemeru a variačný koeficient v percentách. Pre porovnanie rozdielov sme použili Studentov *t*-test stredných hodnôt.

VÝSLEDKY

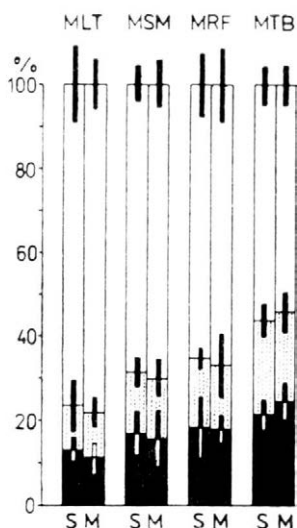
Výsledky histochemického dôkazu myoglobínu demonštrujú obr. 1a, b, 2b a 4b. Myoglobín sa na priečných rezoch prejavuje ako intenzívne zafarbená tmavo hnedá až čierna substancia. Intenzita zafarbenia sa



1a, 1b. Priechý prierez svalovými vláknami po reakcii na dôkaz myoglobínu — Cross-section of muscle fibres after reaction to myoglobin test



2. Priechý prierez svalovými vláknami, ktoré sa podrobili reakcii na dôkaz sukcinát dehydrogenázy (2a) a pre dôkaz myoglobínu (2b). Identické svalové vlákna s vysoko pozitívnou reakciou na SDH a myoglobin (βR), so stredne intenzívnou reakciou (αR) a s nízkou reakciou (αW) — Cross-section of muscle fibres which have undergone the reaction to the test for succinate dehydrogenase (2a) and the myoglobin test (2b). Identical muscle fibres with a high positive reaction to SDH and myoglobin (βR), with a moderately intensive reaction (αR) and with low reaction (αW)



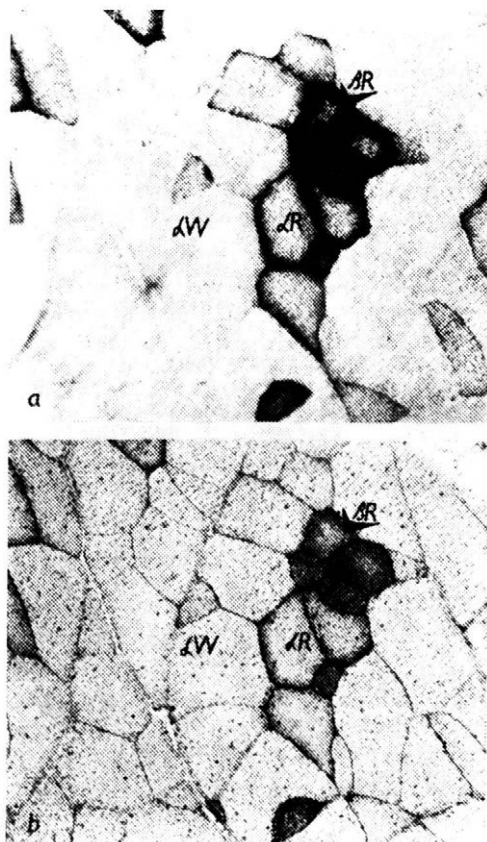
3. Zastúpenie plochy jednotlivých typov svalových vlákien v percentách, diferencované na základe reakcie na sukcinát dehydrogenázu (S) a na prítomnosť myoglobínu (M) — Representation of the area of individual types of muscle fibres in percentages, differentiated on the basis of reaction to succinate dehydrogenase (S) and on the presence of myoglobin (M)

■ — červené, □ — intermediárne, □ — biele

I. Množstvo myoglobínu, hrúbka svalových vlákien a zastúpenie jednotlivých typov vlákien (% počtu) — Amount of myoglobin, thickness of muscle fibres and share of individual types of fibres (% of number)

Množstvo myoglobínu v mg.g ⁻¹		Metóda farbenia	Priemerná hrúbka μm		Počet jednotlivých typov vlákien v percentách					
					βR		αR		αW	
$\bar{x} \pm s$	<i>v</i>		$\bar{x} \pm s$	<i>v</i>	$\bar{x} \pm s$	<i>v</i>	$\bar{x} \pm s$	<i>v</i>	$\bar{x} \pm s$	<i>v</i>
<i>musculus longissimus thoracis</i>										
2,3 ± 0,6	26,08	SDH	82,6 ± 3,1	3,79	18,6 ± 3,6	19,10	13,6 ± 5,5	40,56	67,8 ± 7,4	10,95
		Mb	79,8 ± 5,7	7,14	16,4 ± 3,3	20,12	14,7 ± 2,6	17,87	68,9 ± 3,8	17,87
<i>musculus semimembranosus</i>										
2,6 ± 0,7	26,92	SDH	86,8 ± 7,3	8,35	22,5 ± 5,0	22,29	18,7 ± 7,8	41,75	58,8 ± 10,1	17,12
		Mb	88,2 ± 7,9	8,98	22,1 ± 2,2	10,04	17,6 ± 4,6	26,38	60,3 ± 4,3	10,13
<i>musculus rectus femoris</i>										
3,1 ± 0,9	29,03	SDH	80,8 ± 6,4	7,94	24,3 ± 5,9	24,27	20,5 ± 2,9	14,19	55,2 ± 5,3	9,52
		Mb	80,0 ± 9,1	11,32	23,7 ± 3,9	16,64	20,2 ± 7,5	37,06	56,1 ± 9,2	16,32
<i>musculus triceps brachii</i>										
5,4 ± 1,5	27,78	SDH	86,6 ± 11,2	12,97	30,0 ± 6,1	20,25	24,8 ± 2,4	9,52	45,2 ± 6,9	15,25
		Mb	85,9 ± 11,2	13,01	28,5 ± 3,4	12,02	23,7 ± 4,4	14,23	47,7 ± 5,5	11,53

4. Porovnanie tých istých svalových vlákien pri reakcii na sukcinát dehydrogenázu a myoglobín. Intenzita reakcie na prítomnosť myoglobínu niekedy môže byť menej intenzívna (šípky), čo môže mať za následok zaradenie vlákna do inej skupiny — Comparison of the same muscle fibres during reaction to succinate dehydrogenase and myoglobin. The intensity of the reaction to the presence of myoglobin can sometimes be less intensive (arrows), which can have the effect of placing the fibre in another group



medzi jednotlivými svalovými vláknami líši. Najintenzívnejšie sa farbía tie vlákna, ktoré sme pri reakcii na SDH označili ako červené βR vlákna. Menej intenzívne sa farbía intermediárne vlákna. V bielych αW vláknach sme zafarbenie nepozorovali. Výsledky kvantitatívneho porovnania reakcie na prítomnosť SDH vo vláknach a reakcie na prítomnosť myoglobínu v tých istých vláknach sú na tab. I a obr. 3. Zastúpenie jednotlivých typov vlákien, určené oboma metódami, sme porovnávali Studentovým t -testom stredných hodnôt. Z porovnania vyplynulo, že ich počty sa pri oboch metódach štatisticky nelíšia. Pokiaľ sa vyskytujú diferencie, spôsobujú ich menej výrazné reakcie pri dôkaze myoglobínu. To môže mať za následok, že to isté vlákno sa pri oboch metódach nezaradí do tej istej skupiny (obr. 4a, b).

Pri subjektívnom hodnotení sme rozdiely v intenzite histochemických reakcií pozorovali len medzi jednotlivými typmi svalových vlákien, nepozorovali sme ich však medzi jednotlivými svalmi. Inak povedané, intenzita reakcie na prítomnosť myoglobínu v červených vláknach, napr. v MLT a MTB, sa pri subjektívnom hodnotení prejavovali rovnako. Rozdiely sme však pozorovali v kvantitatívnom zastúpení jednotlivých typov vlákien medzi svalmi. Tak v MLT tvorí plocha červených vlákien okolo 12 %, v MSM 16 %, v MRF okolo 18 %, v MTB až 24 %. Podobný trend má aj plocha intermediárnych svalových vlákien (obr. 3). Týmto tendenciám odpovedajú aj výsledky chemických analýz. Zatiaľ čo sme

v MLT zistili len 2,3 mg myoglobínu v jednom grame čerstvého svalu, v MSM a MRF to bolo už 2,6 a 3,1 mg na gram čerstvého svalu a v MTB až 5,4 mg. Z týchto údajov vidno, že hodnoty histochemických analýz nevyjadrujú kvantitatívne zastúpenie myoglobínu vo svaloch úplne. Vysvetľujú však príčiny jeho rozdielných hladín.

DISKUSIA

Modifikácia metódy, ktorú vypracoval Swatland (1979) pre histochemický dôkaz myoglobínu v rezoch svalov zhotovených po zmrazení na kryostate, spočíva predovšetkým v zaradení prefixácie 0,1% kyselínou osmičelou. Pri farbení postupom, ktorý uvedený autor odporúča, nedochádzalo k úplnej precipitácii myoglobínu, ktorý sa rozpúšťal ako vo fixačnom, tak aj vo farbiacom roztoku a vyplavoval sa. Tomuto zabránila uvedená prefixácia. Swatland (1979) odporučil nahradiť jedovatý benzidín nejedovatým tolidínom. My sme v práci použili predovšetkým benzidín a len experimentálne sme preskúšali aj o-tolidín. Môžeme konštatovať, že výsledky sú pri oboch farbivách totožné.

Z výsledkov práce vyplýva, že medzi intenzitou reakcie na prítomnosť SDH a na prítomnosť myoglobínu vo svalových vláknach existuje priama závislosť. Zistili ju aj Janson a Sylvén (1983), ktorí konštatujú pri analýze izolovaných svalových vlákien, že vlákna typu I, bohaté na SDH, obsahujú v priemere o 60 % viac myoglobínu ako vlákna typu II. Potvrdzujú tak výsledky, ktoré opisujú Peter a i. (1972) v celých svaloch. Podobne aj Nemeth a Lowry (1984) zistili vo vláknach typu II u človeka len okolo jednej tretiny obsahu myoglobínu voči vláknam typu I. Pri použití kvantitatívnych metód však v rámci typu II vlákna s nižším obsahom myoglobínu nepozorovali. To by nasvedčovalo, že u človeka sa vo vzťahu k myoglobínu nedajú klasifikovať vlákna IIA a IIB, hoci u zvierat sa takáto možnosť opisuje a potvrdili sme ju aj my. Swatland (1985), ktorý sledoval pri podobnom experimente obsah myoglobínu a SDH spektrofotometrickou analýzou histologických rezov, konštatuje, že vlákna so silnou aktivitou SDH obsahujú myoglobín. Upozorňuje však, že existujú aj vlákna, ktoré vykazujú vysokú aktivitu ATP-ázy pri alkalicknej preinkubácii, ale nízku aktivitu SDH s nízkym až nemerateľným množstvom myoglobínu.

Subsarkolemálna aktivita SDH je vo všetkých vláknach vyššia ako aktivita v axiálnej oblasti. Toto konštatovanie sa zhoduje ako s údajmi ďalších autorov, tak aj s našimi výsledkami. Znamená to, že v centrálnych oblastiach vlákien môže vznikať anoxia, čo zťažuje podmienky pre účinný oxidatívny metabolizmus. To má za následok zhoršenú funkciu svalových vlákien. Preto sa štúdiu tohto problému venuje dosť veľká pozornosť. Galan a i. (1984) udávajú, že aktivitu mitochondriálnych enzýmov redukuje hypoxia. Tato hypoxia môže mať pôvod v redukcii transportu kyslíka, ktorý sprostredkováva hemoglobín a myoglobín. Swatland (1984) zistil, že distribúcia myoglobínu je na celom priereze svalového vlákna rovnaká. Naproti tomu my sme pozorovali, aj keď minimálne, predsa len patrné rozdiely v intenzite reakcie na periférii svalového vlákna a v jeho axiálnej oblasti. Federspiel (1986) tiež študoval túto problematiku a modeloval ju matematicky. Došiel k záverom, že pokles tenzie kyslíka z periférie do centra vlákna signifi-

II. Pomer koncentrácie myoglobínu k hrúbke svalových vlákien — The ratio of myoglobin concentration to the thickness of muscle fibres

$\frac{\text{Obsah myoglobínu (mg) v grame čerstvého svalu}}{\text{hrúbka vlákien v } \mu\text{m}} \cdot 10^{-2}$				
Prepočet v hrúbke	MLT	MSM	MRF	MTB
všetkých vlákien	2,88	2,95	3,87	6,29
červených vlákien	3,07	3,28	4,66	6,59
bielych vlákien	2,75	2,81	3,48	5,78

kantne závisí od tlaku kyslíka na sarkolemu, od koncentrácie myoglobínu a od difuzibility ako kyslíka, tak aj myoglobínu. Podľa jeho výsledkov je pre vlákna bohaté na myoglobín potrebný relatívne nízky tlak (< 5 mm Hg) kyslíka k tomu, aby sa zabezpečila maximálna respirácia bez vzniku anoxickej oblasti. Avšak Van Der Laarse a i. (1985) pri porovnávaní závislosti medzi myoglobínom a sukcinát dehydrogenázou v rôznych svaloch zistili pri koncentrácii oboch sledovaných zložiek len slabú koreláciu. Porovnávali svalové vlákna rovnakého priemeru a vo vláknach jedného svalu zistili vyššiu aktivitu SDH pri nižšej koncentrácii myoglobínu, kým vo vláknach druhého svalu bola vyššia koncentrácia myoglobínu a nižšia aktivita SDH. To ovšem spochybňuje hypotézu, že prevenciou anoxie v centre vlákna je myoglobínom uľahčená difúzia kyslíka. K podobným záverom došli aj Janson a Sylvén (1983), ktorí tiež konštatujú, že medzi koncentraciou myoglobínu a oxidatívnou kapacitou svalových vlákien nie je významná korelácia. Svedčia o tom aj naše sledovania, pri ktorých sme zistili, že výsledky chemických analýz vyjadrujúce kvantitatívne hodnoty obsahu myoglobínu nie sú úmerne zisteniam o zastúpení červených, prípadne intermediárnych svalových vlákien. Náorne to vidno pri výpočte tzv. difúznej dištancie, ktorú použili Sylvén a i. (1984) a ktorá vyjadruje pomer koncentrácie myoglobínu k hrúbke svalových vlákien (tab. II). Z týchto údajov vidno, že kapacita transportu kyslíka z kapilár k mitochondriám je najvyššia v MTB a najnižšia v MLT. Pritom podiel červených vlákien je v MTB voči MLT dvojnásobne, ale obsah myoglobínu je trojnásobne vyšší.

Z výsledkov práce preto vyplýva, že svalové vlákna vo všetkých sledovaných svaloch, ktoré vykazujú nejintenzívnejšiu histochemickú reakciu na prítomnosť SDH, sa najintenzívnejšie farbja aj pri dôkaze myoglobínu. Taká istá závislosť sa pozoruje aj pri intermediárnych a bielych vláknach. Distribúcia SDH na pričnom priereze vlákien nie je rovnomerná, najvyššia aktivita sa lokalizuje v subsarkolemálnej oblasti. Distribúcia myoglobínu má podobné tendencie, aj keď podstatne menej výrazné, a to len vo vláknach s najintenzívnejšou reakciou. Rôzne svaly obsahujú rôznu hladinu myoglobínu. Svaly s vyšším podielom červených a intermediárnych vlákien obsahujú viac myoglobínu ako svaly s vysokým podielom bielych vlákien. Kvantitatívne hodnoty týchto ukazovateľov však nie sú úmerné, čo nepriamo dokazuje, že obsah myoglobínu v červených vláknach jednotlivých svalov je odlišný. To vytvára pre každý sval odlišné podmienky pre oxidatívny metabolizmus a saturáciu svalových vlákien kyslíkom.

Literatúra

- ASHMORE, C. R. — DOERR, L.: Comparative aspects of muscle fiber types in different species. *Exp. Neurol.*, 31, 1971, s. 408-418.
- BROOKE, M. H. — KEISER, K. K.: Muscle fibre types: How many and what kind? *Arch. Neurol. (Chicago)*, 23, 1970, s. 213-240.
- DUBOWITZ, V. — PEARSE, A. G. E.: A comparative histochemical study of oxidative enzymes and phosphorylase activity in skeletal muscle. *Histochemie*, 2, 1960, s. 105-117.
- FEDERSPIEL, W. J.: A model study of intracellular oxygen gradients in a myoglobin-containing skeletal muscle fiber. *Biophys. J.*, 49, 1986, s. 857-868.
- GALAN, P. — HERCBERG, S. — TOUITOU, Y.: The activity of tissue enzymes in iron-deficient rat and man: an overview. *Comp. Biochem. and Physiol., Pt B*, 77, 1984, s. 647-653.
- HARPER, H. A.: Přehled fyziologické chemie. Praha, Avicenum, Zdrav. nakl. 1977, s. 149-200.
- JANSSON, E. — SYLVÉN, C.: Myoglobin concentration in single type I and type II muscle fibres in man. *Histochemistry*, 78, 1983, s. 121-124.
- LAARSE VAN DER, W. J. — SUHARTI MASLAM — DIEGENBACH, P. C.: Relationship between myoglobin and succinate dehydrogenase in mouse soleus and plantaris muscle fibres. *Histochem. J.*, 17, 1985, s. 1-11.
- LOJDA, Z. — PAPOUSEK, P.: Základy histochemického průkazu enzymů. Brno, Ústav pro další vzdělávání zdravotnických pracovníků 1965.
- NEMETH, M. P. — LOWRY, H. O.: Myoglobin levels in individual human skeletal muscle fibers of different types. *J. Histochem. Cytochem.*, 32, 1984, s. 1211-1216.
- PETER, J. B. — BARNARD, R. J. — EDGERTON, V. R. — GILLESPIE, C. A. — STEMPLE, K. E.: Metabolic profiles of three fiber types of skeletal muscle in guinea pigs and rabbits. *Biochemistry*, 11, 1972, s. 2627-2633.
- STEINHAUF, D. — WENIGER, J. H. — PAHL, G. H. M.: Methoden zur Bestimmung der Fleischbeschaffenheit. *Fleischwirtschaft*, 45, 1965, s. 29-33.
- SWATLAND, H. J.: A method for myoglobin in cryostat sections of muscle by precipitation with sulfosalicylic acid. *Stain. Technol.*, 54, 1979, s. 245-249.
- SWATLAND, H. J.: Studies on the microdistribution of aerobic enzymes and myoglobin in pork. *Food Microstruct.*, 3, 1984, s. 9-15.
- SWATLAND, H. J.: Fibre-optic spectrophotometry of immature bovine skeletal muscles and the cellular distribution of myoglobin and succinate dehydrogenase. *Histochem. J.*, 17, 1985, s. 675-682.
- SYLVÉN, C. — JANSON, EVA — BÖÖK KIM: Myoglobin content in human skeletal muscle and myocardium: relation to fibre size and oxidative capacity. *Cardiovasc. Res.*, 18, 1984, s. 443-446.
- UHRÍN, V. — KULÍŠEK, V.: Využitie morfologetrických metód pre stanovenie hrúbky svalových vlákien. *Živoč. Vyr.*, 25, 1980, s. 935-942.

Došlo dňa 19. 3. 1987

УГРИН, В. — КУЛИШКОВА, Л. — УГРИН, П. (Научно-исследовательский институт животноводства, Нитра): Соотношения между содержанием миоглобина и активностью сукцинат дегидрогеназы в мышечных волокнах. *Veter. Med. (Praha)*, 33, 1988 (2) : 81-89.

Сравнивали гистохимическую активность сукцинат дегидрогеназы (СДГ) и интенсивность реакции на миоглобин (Мб) в волокнах *m. longissimus thoracis* (MLT), *m. semitendinosus* (MSM), *m. rectus femoris* (MRF), *caput longum m. tricipitis* (MTB). Одновременно определяли и содержание миоглобина в грамме свежей мышцы. Волокна во всех этих мышцах, в которых наиболее интенсивна реакция на СДГ, сильнее всего окрашиваются при доказательстве Мб. Такая же зависимость отмечена у интермедиарных и белых волокон. Реакция на СДГ на поперечном срезе наибольшая в субсарколемальной области. Подобные тенденции проявляются и в распределении Мб, но в меньшей мере и лишь в волокнах с интенсивной реакцией. Отдельные мышцы обладают разным уровнем миоглобина. Мышцы с повышенной долей красных

и интермедиарных волокон содержат больше миоглобина, чем мышцы с крупным процентом белых волокон. Но количественные значения уровня Мб (г/свежая мышца) несоизмеримы к доли типов волокон в данных мышцах.

мышечные волокна; миоглобин; сукцинат дегидрогеназа

UHRÍN, V. — KULÍŠKOVÁ, L. — UHRÍN, P. (Research Institute of Animal Production, Nitra): *The Relations between the Content of Myoglobin and the Activity of Succinate Dehydrogenase in Muscle Fibres*. Veter. Med. (Praha), 33, 1988 (2): 81-89.

We compared the histochemical activity of succinate dehydrogenase (SDH) and the intensity of reaction to the presence of myoglobin (Mb) in the same muscle fibres *m. longissimus thoracis* (MLT), *m. semimembranosus* (MSM), *m. rectus femoris* (MRF) and *caput longum mi tricipitis brachii* (MTB). At the same time we also ascertained the myoglobin content of one gram of fresh muscle. We found that the muscle fibre in all the muscles studied in which there is the most intensive reaction in the test for SDH are also the most intensively coloured in the test for Mb. There is also the same relationship in intermediary and white fibres. The reaction in testing for SDH on a cross section is greatest in the subsarcolemmic area. Similar tendencies appear in the distribution of Mb, although they are less marked and only in fibres with intensive reaction. Different muscles have different myoglobin levels. Muscles with a higher proportion of red and intermediary fibres contain more myoglobin than muscles with a high proportion of white fibres. The quantitative values of the levels of Mb (g/fresh muscle) are not, however, proportional to the share of individual types of muscle fibres in the muscles studied.

muscle fibers; myoglobin; succinate dehydrogenase

UHRÍN, V. — KULÍŠKOVÁ, L. — UHRÍN, P. (Forschungsinstitut für Tierproduktion, Nitra): *Beziehungen zwischen dem Myoglobingehalt und der Sukzinatdehydrogenase-Aktivität in Muskelfasern*. Veter. Med. (Praha), 33, 1988 (2): 81-89.

Wir verglichen die histochemische Aktivität der Sukzinatdehydrogenase (SDH) und die Intensität der Reaktion auf das Vorhandensein von Myoglobin (Mb) in denselben Muskelfasern des *m. longissimus thoracis* (MLT), *m. semimembranosus* (MSM), *m. rectus femoris* (MRF) und *caput longum mi tricipitis brachii* (MTB). Gleichzeitig ermittelten wir auch den Myoglobingehalt in einem Gramm frischen Muskelfasern. Wir konnten feststellen, daß die Muskelfasern aller untersuchten Muskeln, bei denen die intensivste Reaktion beim Nachweis von SDH verzeichnet wird, sich auch beim Mb-Nachweis am intensivsten verfärben. Dieselbe Abhängigkeit besteht auch bei den intermediären und den weißen Fasern. Beim SDH-Nachweis am Querschnitt ist die Reaktion im subsarkolemmalen Bereich am höchsten. In bezug auf die Mb-Distribution kommen ähnliche, wenn auch weniger ausgeprägte Tendenzen zutage und dies nur in Fasern mit intensiver Reaktion. Verschiedene Muskeln weisen ein unterschiedliches Myoglobinniveau auf. Muskeln mit einem höheren Anteil roter und intermediärer Fasern enthalten mehr Myoglobin als Muskeln mit einem hohen Anteil weißer Fasern. Die quantitativen Werte der Mb-Niveaus (g frischer Muskel) sind jedoch dem Anteil der einzelnen Muskelfaser-typen in den untersuchten Muskeln nicht proportional.

Muskelfasern; Myoglobin; Sukzinatdehydrogenase

Adresa autorov:

Doc. MVDr. Vladimír Uhrín, CSc., ing. Ľubica Kulíšková, CSc., ing. Pavel Uhrín. Výskumný ústav živočíšnej výroby, Hlohovská 2, 949 92 Nitra

Upozorňujeme čtenáře, že v čísle 3 časopisu

VETERINÁRNÍ MEDICÍNA

mají být uveřejněny články:

- V. Kmeť, I. Koniarová, M. Stachová: Výskyt a vlastnosti *Seimonas ruminantium* u teliat v období mléčné výživy
- R. Dušínský, M. Simon, D. Nouzovská: Příprava monoklonálních protilátek proti povrchovým antigenům buněk hovädzieho dobytká
- J. Rubeš, J. Raszyk, Z. Hořínová, V. Gajdůšková, J. Mašek, H. Dočekalová, J. Bartoš, M. Neumannová: Monitorování chromozomálních mutací prasat ve velkochovech
- P. Kaláb, J. Hájek: Spolehlivost diagnostiky gravidity u prasnic přímou radioimunoanalýzou estron-sulfátu
- M. Molnářová, J. Arendarčík: Vplyv vitamínu A na trypsín inhibičné aktivity (TIA) krvnej plazmy a cervikálneho hlienu po hormonálnom ovplyvnení ovárií oviec v estrickom období
- J. Ruprich, A. Piskač, J. Malá: Použití radioimunologického stanovení mykotoxinu ochratoxin A ke skrýningové kontrole potravin a krmiv rostlinného původu
- F. Krédli, J. Svobodník: Rezidua chlórovaných pesticidů a polychlórovaných bifenylů ve vepřovém mase a šunkách v minulých letech a v současnosti
- J. Konrád, M. Cupák, J. Hrušovský, S. Husák, K. Šmíd: Enzymová aktivita pod vlivem výcvikové zátěže služebního psa

VPLYV PMSG NA TRYPSÍN INHIBIČNÉ AKTIVITY (TIA) KRVNEJ PLAZMY, CERVIKÁLNEHO HLIENU A NIEKTORÉ REPRODUKČNÉ ORGÁNY OVIEC V ANESTRI

M. Molnárová, J. Arendarčík, M. Tokoš

MOLNÁROVÁ, M. — ARENDARČÍK, J. — TOKOŠ, M. (Vysoká škola veterinárska, Košice): *Vplyv PMSG na trypsin inhibičné aktivity (TIA) krvnej plazmy, cervikálneho hlienu a niektoré reprodukčné orgány oviec v anestri.* Veter. Med. (Praha), 33, 1988 (2) : 91-100.

Vplyv dávok 750, 1000 a 1500 I. U. PMSG (Antex Leo) na dynamiku trypsin inhibičných aktivít (TIA) krvnej plazmy a cervikálneho hlienu oviec sa líšia: a) v časoch (od podania PMSG) zistených minimálnych hodnôt celkovej TIA (72, 48, 24 hodín); b) v hodnotách priemernej celkovej TIA v jednotlivých dňoch pokusu (40,3—141,4 ‰ hodnôt kontrolných); c) vo frakciách nízkomolekulových TIA po podaní 750 a 1500 I. U. PMSG, ktorá vykazala minimálne hodnoty po 24 hodinách, 1000 I. U. po 72 hodinách (53,0 a 60,4, resp. 69,7 ‰ kontrolných hodnôt); d) v najvyšších hodnotách frakcie nízkomolekulových TIA, ktoré sme zaznamenali po 96 hodinách (96,1—183,7 ‰ hodnôt kontrolných); e) v priemerných hodnotách počas 96 hodín pokusu, ktoré sa pre celkovú TIA pohybovali od 64,1 ‰ (1500 I. U.) do 77,1 ‰ (750 I. U.) a pre nízkomolekulové TIA od 89,6 ‰ (750 a 1000 I. U.) do 122,8 ‰ (1500 I. U.); f) v pomere atretických a neatretických (A/N) terciárnych folikulov, ktorý vzrastal so zvýšenou dávkou PMSG, čo bolo v nepriamej korelácii s priemernými hodnotami celkovej TIA; g) v hmotnosti materníc a ovárií, ktoré po stimulácii vzrastali od 176,8 do 322,3 ‰ hodnôt kontrolných; h) vo výške epitelu cervixu a cervikálnych žliaz, ktorá vzrastala od 118 ‰ do 316 ‰ kontrolných hodnôt; ch) v priemerných hodnotách TIA cervikálneho hlienu, ktoré sa pohybovali od 53,3 do 125 ‰ kontrolných hodnôt.

stimulácia PMSG; terciárne folikuly; hmotnosť materníc; hmotnosť ovárií

V poslednej dobe sa produkcia hospodárskych zvierat stále viac zvyšuje látkami s hormonálnymi účinkami. Stimulácia ovárií k superovulácii gonadotropnými hormónami nesie so sebou celý rad otázok, lebo nerovnováha na tejto úrovni spôsobuje problémy na úrovni fyziologických regulácií, ktoré v konečnom dôsledku môžu znamenať nenormálny vývoj oocytov vo folikuloch. To by sa mohlo nepriaznivo odraziť nielen na fertilitate exogénne ovplyvneného estrálneho cyklu, ale aj na dlhodobejšej poruche plodnosti. PMSG sa najčastejšie používa k indukcii ovulácie a superovulácie hospodárskych zvierat aj v súvislosti s transferom embryí. Domáce zvieratá reagujú na PMSG individuálne. Odpoveď závisí od kvantitatívneho a kvalitatívneho stavu populácií ovariálnych folikulov. Vie sa, že preovulačné uvoľnenie FSH je dôležité pre vývoj folikulov, ktoré budú ovulovať v nasledujúcom cykle. Vývoj preovulačných folikulov závisí od počiatočnej fázy diferenciácie somatických bu-

niek a od záverečnej fázy započatej vylúčením vlny LH, kedy sa menia somatické aj germinálne kompartmenty. Po superovulácii vyvolanej PMSG zistili Moor a i. (1985) zmeny v proteínovom metabolizme a steroidogéze značného počtu folikulov. Aktivácia germinatívneho kompartmentu v období jeho nezrelosti má za následok „staré“ alebo abnormálne oocyty a „nepriateľský“ reprodukčný trakt.

Úlohou predkladanej práce bolo zistiť zmeny v dynamike trypsín-inhibičných aktivít (TIA) krvnej plazmy a cervikálneho hlienu oviec, ktorým boli v anestre jednorázovo podané tri rôzne dávky PMSG — 750, 1000 a 1500 I. U. Priemerné hodnoty TIA počas pokusu sú dané do relácie s kvalitatívnym a kvantitatívnym stavom populácií ovariálnych terciárnych folikulov.

MATERIÁL A METÓDA

Do pokusu sme zaradili 29 oviec v anestríckom období (máj—jún) plemena slovenské merino, troj- až štvorročných, ž. h. 30 až 40 kg, klinicky zdravých. Usporiadanie pokusu vidno z tab. I. Krv sme odoberali denne ráno o 8.00 hodine z *vena jugularis* na heparín a krvnú plazmu sme až do biochemického spracovania uložili pri teplote -25°C . Cervikálny hlien sme odoberali na vatové tampóny a po zvážení eluovali 0,05 mol Tris-HCl pufrum ($\text{pH} = 8,1$). Trypsín inhibičnú aktivitu (TIA) krvnej plazmy a eluátu sme stanovovali zo zníženia rýchlosti hydrolýzy syntetického nízkomolekulového chromogenného substrátu N-alfa-tosyl-p-nitroanilidu (TAPA) hovädzím trypsínom (Bartík a i., 1974). Na stanovenie frakcie nízkomolekulových TIA sme použili supernatant z krvnej plazmy ošetrenej kyselinou chloristou (7,5%) po centrifugácii a neutralizácii (Haendle a i., 1970; Molnárová, 1975b). Inhibíciu sme vyjadrovali v percentách hodnôt kontrolných, pričom sme vyhodnotili len tie vzorky cervikálneho hlienu, ktorých hmotnosť bola vyššia ako 0,02 g.

Materiál na histologické vyhodnocovanie sme odobrali po usmrtení zvierat 97 až 129 hodín od podania PMSG, vizuálne zhodnotili, zvážili, rozdelili a fixovali v médiu formalín : kyselina octová : sublimát (4 : 2 : 1) a po odvodnení a vypraní zaliali do parafínu. 7 až 10 μm veľké rezy sme farbili hematoxilin-eozínom a diferenciáciu terciárnych folikulov sme robili metódou, ktorú opisali Marion a i. (1968). Výšku epitelu a cervikálnych žliaz sme merali metódou, ktorú uviedli Hackett a Hafs (1969).

VÝSLEDKY

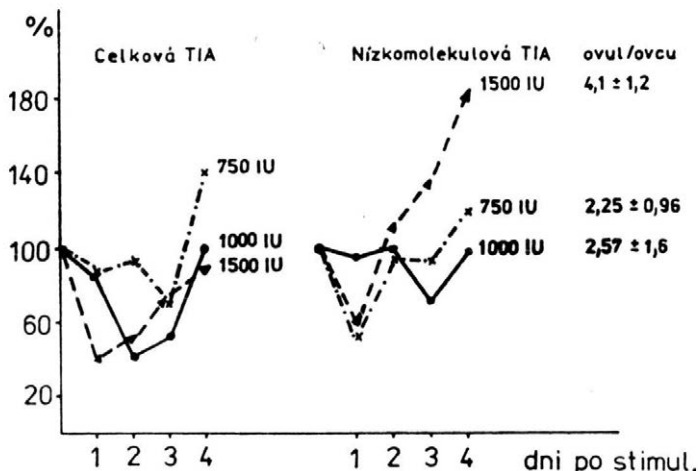
Dynamika priemerných hodnôt trypsín inhibičných aktivít (TIA) krvnej plazmy oviec po stimulácii ovárií 750, 1000 a 1500 I. U. PMSG v anestri, vyjadrená v percentách hodnôt kontrolných oviec, je znázornená na obr. 1a, b. Celková TIA (obr. 1a) kolíše v závislosti od dávok

I. Usporiadanie pokusu: stimulácia ovárií oviec PMSG v anestri — Arrangement of the experiment: PMSG stimulation of the ovaries of ewes in anoestrus

Skupina	n	PMSG (I. U.)	Obdobie
I.	6	—	máj — jún
II.	8	750	máj — jún
III.	7	1000	máj — jún
IV.	8	1500	máj — jún

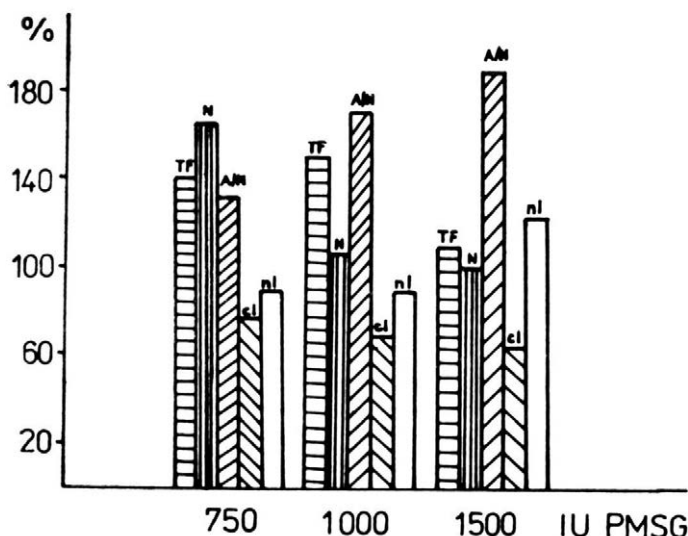
— PMSG — Antex Leo (Dánsko)

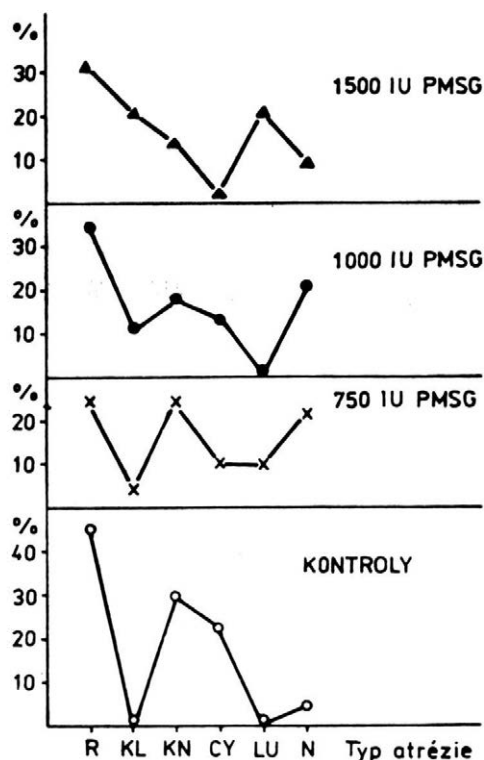
1. Dynamika trypsin inhibičných aktivít (TIA) krvnej plazmy oviec stimulovaných v anestri PMSG v percentách kontrolných hodnôt — Changes in the trypsin-inhibition activities (TIA) of the blood plasma of ewes stimulated by PMSG administration in the anestrus period — percentage of the control values



podaných hormónov. 24 hodín od podania 1500 I. U. PMSG sme zaznamenali minimálne hodnoty TIA (40,1 %), pri podaní 1000 I. U. PMSG sa tieto hodnoty (40,3 %) posunuli do 48 hodín po podaní a po 750 I. U. PMSG (72,7 %) do 72. hodiny. Štvrtý deň — t. j. 96 hodín po podaní — boli hodnoty TIA všetkých pokusných zvierat najvyššie (90,3—141,4 % hodnôt kontrolných). Podobne dynamika priemerných hodnôt frakcie nízkomolekulových TIA krvnej plazmy (obr. 1b) sa líšila podľa podaných dávok hormónov. 24 hodín po podaní PMSG sme zaznamenali pokles všetkých hodnôt TIA (53,1; 60,4; 94,6 %). Po dávkach 750 I. U. a 1000 I. U. sme zistili v 72. hodine po podaní opäť pokles (69,7; 91,8 %), ktorý sme po dávke 1500 I. U. nepozorovali. Štvrtý deň (96 hodín po podaní) sa hodnoty všetkých pokusných skupín zvyšovali (96,1; 119,6; 183,7 %) — (obr. 2). V skupine oviec po stimulácii 1500 I. U. PMSG sme zaznamenali najvyšší priemerný počet ovulácií — $4,1 \pm 1,2$ na ovcu, po stimulácii 750 a 1000 I. U. $2,25 \pm 0,96$ a $2,57 \pm 0,6$ ovulácií. Pri kvanti-

2. Priemerné počty terciárnych folikulov (TF), neatretických TF (N), pomer atretických (A) a neatretických TF (A/N) a priemerné TIA celkové (cl) a nízkomolekulové (nl) v percentách kontrolných hodnôt — The average numbers of tertiary follicles (TF), non-atretic follicles TF (N), the atretic (A) : non-atretic TF follicles ratio (A/N), and the average total TIA (cl) and low-molecular TIA (nl) — percentage of the control values





3. Zastúpenie typov atrézií terciárnych folikulov ovárií oviec po stimulácii PMSG v anestri (máj, jún) — Atresia types in the tertiary follicles of the ovaries of ewes after PMSG stimulation in the anoestrus period (May, June)

Typ: R — raný
 KL — kolapsný
 KN — kontrakčný
 CY — cystický
 LU — luteinizačný
 N — neskorý

tatívnom a kvalitatívnom hodnotení populácie ovariálnych terciárnych folikulov sme pri vyjadrení v percentách hodnôt kontrolných oviec zistili, že po stimulácii PMSG so zvyšujúcou sa dávkou klesá počet neatretických terciárnych folikulov (750 I. U. — 160 %; 1000 I. U. — 108,3 %; 1500 I. U. — 100 % hodnôt kontrolných), pomer atretických ku neatretickým terciárnym folikulom (A/N) koreloval priamo s dávkou. Pre 750 I. U. — $A/N = 2,45$; 100 I. U. — $A/N = 3,3$; 1500 I. U. — $A/N = 3,5$ oproti kontrolným $A/N = 1,85$, čo bolo 132, 178 a 189,2 % hodnôt kontrolných. Celková TIA (priemerné hodnoty počas piatich dní) korelovala nepriamo s A/N , s rastúcou dávkou PMSG a rastúcim A/N klesala celková priemerná TIA krvnej plazmy (750 I. U. — TIA =

II. Zvýšenie hmotnosti materníc a ovárií po podaní PMSG ovciam v anestri v percentách kontrolných hodnôt — Increases of uterus and ovarium weights after PMSG administration to ewes in anoestrus — percent of the control values

Skupina	n	Hmotnosť	
		materníc (%)	ovárií (%)
K	6	100,0	100,0
750 I. U.	8	258,8	202,8
1000 I. U.	7	322,3	176,8
1500 I. U.	8	290,5	244,5

III. Zvýšenie priemernej hrúbky epitelu cervixu a cervikálnych žliaz, priemerného počtu cervikálnych žliaz a priemernej TIA cervikálneho hlienu v percentách po stimulácii ovárií oviec PMSG v anestrii — An increase in the average thickness of cervical and cervix gland epithelium, in the average number of cervical glands, and the average TIA of cervical mucus — percentage after PMSG stimulation of ewe ovaries in anoestrus

Skupina	n	Výška epitelu		Počet cervikálnych žliaz	TIA cervikálneho hlienu
		cervix	cervikálne žľazy		
		(%)			
K	6	100,0	100,0	100,0	100,0
750 I. U.	8	118,4	135,8	231,0	125,0
1000 I. U.	7	118,8	146,8	231,9	53,3
1500 I. U.	8	129,6	152,9	316,4	107,6

= 77,1 %, 1000 I. U. — TIA = 69,3 % a 1500 I. U. — TIA = 64,1 % hodnôt kontrolných). Priemerné hodnoty frakcie nízkomolekulových TIA krvnej plazmy vykazovali po podaní 750 I. U. a 1000 I. U. zníženie oproti kontrolným na 89,6 %, po podaní 1500 I. U. PMSG boli priemerné hodnoty najvyššie (122,8 % kontrolných).

Sledovaním percenta zastúpenia jednotlivých typov atrézií terciárnych folikulov (obr. 3) sme zistili rozdiely najmä v zastúpení raného typu (K = 45 %, 750 I. U. = 24 %, 1000 I. U. = 33 %, 1500 I. U. = 31 %), zastúpenie kolapsného typu vzrastalo s rastúcou dávkou PMSG (K = 0,0; 750 I. U. = 4 %, 1000 I. U. = 11 %, 1500 I. U. = 21 %), zastúpenie kontrakčného typu klesalo s rastúcou dávkou PMSG (K = 29 %, 750 I. U. = 24 %, 1000 I. U. = 17 %, 1500 I. U. = 13 %). Zastúpenie cystického typu bolo najvyššie u kontrol (22 %) a najnižšie po 1500 I. U. PMSG (2 %), zastúpenie luteinizačného typu atrézie sme zistili po podaní 750 I. U. a 1500 I. U. PMSG (10 %, 21 %) a najvyššie zastúpenie neskorého typu atrézie po 750 I. U. PMSG 21 % (oproti 4 % u kontrolných). Hmotnosť ovárií a materníc oviec sa po podaní PMSG v anestrii zvyšuje. V tab. II sú uvedené hodnoty prepočítané na jeden kilogram hmotnosti, vyjadrené v percentách hodnôt kontrolných. Pri sledovaní priemerných hodnôt TIA cervikálneho hlienu sme zistili, že v skupine oviec po podaní 1000 I. U. PMSG došlo k poklesu TIA na 53,3 % hodnôt kontrolných, zatiaľ čo po stimulácii 750 I. U. a 1500 I. U. sme zaznamenali zvýšenie na 125,0 % a 107,6 %. Tieto hodnoty nie sú v korelácii so zvyšovaním výšky epitelu cervixu a cervikálnych žliaz ani so zvyšovaním počtu týchto žliaz, ako je na tab. III, ale sú v určitej korelácii k počtu odobratých a vyhodnotiteľných vzoriek. V skupine po podaní 750 I. U. a 1500 I. U. PMSG sa podarilo odobrať cervikálny hlien v 66 a 65 % prípadov (počet oviec skupiny X dní pokusu = 100 %), zatiaľ čo v skupine po podaní 1000 I. U. PMSG len v 31 % prípadov. Na ováriách oviec stimulovaných 750 a 1500 I. U. PMSG sme zistili priemerne $1,66 \pm 1,2$ a $2,66 \pm 1,8$ žltých teliesok, zatiaľ čo v skupine oviec po 1000 I. U. PMSG sme nezistili ani jedno žlté teliesko.

Je všeobecne známe, že pôsobenie biologicky aktívnych látok, ktoré sú syntetizované organizmom, je v určitej miere paralelné s ich fyziologickými funkciami. Predpokladá sa, že selektívna inhibícia odlišných proteolytických enzýmov je jedinou funkciou prirodzene sa vyskytujúcich proteínázových inhibítorov a ich fyziologickou funkciou je chrániť tkanivá pred prílišnou aktiváciou proteolytických enzýmov. Proteín-proteázové inhibítory, ktoré sa nachádzajú len u niektorých druhov, alebo len v niektorých orgánoch a ktoré nie sú prítomné v intersticiálnej tekutine, pravdepodobne inhibujú a regulujú enzýmové reakcie na intracelulárnej úrovni (Molnárová, 1975a). Syntéza inhibítorov alebo aktivátorov proteolytických enzýmov v pohlavných orgánoch je hormonálne riadená. Tak syntéza proteín-proteázového inhibítora (PPI) vo vezikulárnych žľazách je stimulovaná nielen androgénami, ale nepriamo gonadotropnými hormónami (Haendle a i., 1965). Dynamika a priemerné hodnoty trypsín inhibičných aktivít krvnej plazmy a cervikálneho hlienu sa mení podľa druhu a intenzity zásahov (Molnárová, 1975a, b; Molnárová a Arendarčík, 1979, 1981, 1982, 1987; Molnárová a i., 1985a, b; 1986). Uvoľnenie aktivátora plazminogenu z krysích buniek granulózy je stimulované FSH. Hladiny lyzozomálnych hydroláz spôsobujúcich degradáciu makromolekúl a celkový obsah proteínov v ováriách zostávajú zvýšené po ovulácii (prvý až tretí deň u škrečkov; Rahi a Shrivastava, 1984). Tieto zmeny indukované endogennými hormónami sú signifikantne vyššie po superovulačnej stimulácii. Dimino a i. (1977) ako aj Straus a Flickinger (1978) zistili po podaní PMSG a HCG zvýšenie lyzozomálnych hydroláz v krysích ováriách. Predpokladajú, že vplyv PMSG a HCG na ovuláciu, kapacitáciu a fertilizáciu je sprostredkovaný ováriami pravdepodobne cez lyzozomálne hydrolázy. V našich pokusoch sme zistili zníženie priemernej celkovej trypsín-inhibičnej aktivity (TIA) krvnej plazmy oviec po podaní 750, 1000 a 1500 I. U. PMSG v anestríckom období. Tieto priemerné hodnoty celkovej TIA korelovali nepriamo s dávkami PMSG, s pomerom atretických ku ne-atretickým terciárnym folikulom (A/N) a s priemerným počtom ovulácií (obr. 1, 2) aj s priemernou výškou epitelu cervikálnych žliaz a ich počtom (tab. III), ale nie s hmotnosťou materníc a ovárií. Tu sme síce zaznamenali po stimulácii zvýšenie hmotnosti ovárií a materníc všetkých pokusných oviec, ale zvýšenie nebolo lineárne a nekorelovalo so zvyšujúcimi sa dávkami PMSG (tab. II, III). Tiež priemerné hodnoty TIA cervikálneho hlienu neboli lineárne závislé, čo možno závisí od prítomnosti žltých teliesok v ováriách skupín oviec so stimuláciou 750 a 1500 I. U. PMSG, kde sme zistili $1,66 \pm 1,2$ a $2,66 \pm 1,8$ žltých teliesok (kontrola = $0,5 \pm 0,5$). V skupine oviec po stimulácii 1000 I. U. PMSG sme nezistili ani jedno staré žlté teliesko.

Priemerné počty ovulácií boli určované podľa stavu vaječníkov v predpokladanom čase ovulácie, alebo do 24 hodín od predpokladanej ovulácie a nekorelovali s počtom starých žltých teliesok. Priemerné počty starých žltých teliesok uvádzame preto, že predpokladáme iný pomer koncentrácií etrogénov a progesterónu v plazme oviec so žltými telieskami ako oviec bez nich. Dynamika TIA naznačuje závislosť od tohto pomeru.

Ovce sú pokladané za zvieratá, u ktorých estrické obdobie je vyvolané skracovaním svetelného dňa. Avšak ani obdobie, kedy sa naopak dni predlžujú, nie je obdobím úplného pokoja. Ammar-Khodja a Brudieux (1982) zisťovali hladiny progesterónu v krvnej plazme oviec počas 15 až 18 mesiacov a zistili značné individuálne rozdiely. Lindsay a Signoret (1980) definujú anestrus ako výsledok rôznych fyziologických podmienok. Sezónnosť oviec závisí od zemepisnej šírky, vyčerpania a nutričných podmienok; anestrické obdobie môže trvať od nuly do deviatich mesiacov. Niektoré plemená majú absolútny anestrus, ktorý môže byť prerušený len podaním progestagénnych a gonadotropných hormonálnych prípravkov. Niektoré plemená sa za určitých okolností môžu rozmnožovať v každom ročnom období. McLeod a Haresing (1984) zistili, že k riadnému vývoju žltého telieska z folikulu stimulovaného GnRH je potrebné pôsobenie progesterónu na preovulačný folikul. Autori sa domnievajú, že keď progesterón modifikuje odpoveď folikulu na gonadotropnú sekréciu, má dvojitú úlohu pri regulácii „udalosti“ estrického cyklu. Moor a i. (1985) skúmali abnormálny vývoj oocytov oviec po superovulácii a zistili, že aktivácia nezrelých germinálnych oddielov (kompartmentov) má za následok vznik „starých“ alebo abnormálnych oocytov a „nepriateľský“ reprodukčný trakt. Tieto zmeny boli registrované v proteínovom zložení oocytu a autori ich pokladajú za najcitlivejší indikátor zmien v tomto type buniek, ktorý je možné získať relatívne rýchlo. Proteolytické enzýmy zúčastňujúce sa na ovulačnom procese boli študované a opísané viacerými autormi. Ichikawa a i. (1983a) zistili, že celý rad proteolytických enzýmov okrem kolagenázy sa zúčastňujú na cicavčom ovulačnom procese pred kolagenolýzou a po nej. Ichikawa a i. (1983b) použitím 11 druhov inhibítorov zistili, že najmenej tri skupiny proteínáz sú zodpovedné za postupné rozrušenie steny Graafovho folikulu škrečkov. Ako prvé pôsobia serínové proteínázy (trypsín, chymotrypsín, elastáza, plazmín), potom pôsobia metaloproteínázy (kolagenáza, termolizín) a nakoniec tiolové proteínázy (katepsín B, papaín).

Cervikálny hlien je komplexná a dynamická substancia, ktorá vykazuje veľa fyzikálnych vlastností. Obsahuje anorganické soli a celý rad organických látok, vrátane proteínov, enzýmov a inhibítorov. Zloženie a vlastnosti sa cyklicky menia v priebehu spontánneho reprodukčného estrického cyklu. Preovulačný cervikálny hlien je vodnatý, obsahuje málo proteínov a má nízku antitryptickú aktivitu. Cez takýto hlien prechádzajú spermie rýchlo, nestávajú sa „obetami“ leukocytov. Zvýšený obsah proteín-proteínázových inhibítorov v hliene počas dominácie progestagénu, alebo po použití analogov k synchronizácii môže inaktivovať proteázy spermií, a tak vplývať na ich fertilitu. TIA cervikálneho hlienu je v anestrickom období relatívne nízka, rastie po použití Agelínu k synchronizácii (Arendarčík a i., 1983; Molnárová a i., 1985, 1986). Domnievame sa, že naše pozorovania, že po dávkach 750 a 1500 I. U. PMSG je TIA cervikálneho hlienu vyššie ako po podaní 1000 I. U. PMSG, je spôsobené prítomnosťou alebo neprítomnosťou žltých teliesok v ováriách pokusných oviec.

Literatúra

- AMMAR-KHODJA, F. — BRUDIEUX, R.: Seasonal variations in the cyclic luteal ovarian activity in the tadmrit ewe in Algeria. *J. Reprod. Fertil.*, 65, 1982, s. 305-311.
- ARENDARČIK, J. — MOLNÁROVÁ, M. — TOKOŠ, M.: Stimulation of sheep ovaries, production of ova, speed of their displacement and localization in the sexual tract, trypsin-inhibiting activity (TIA) in plasma and cervical mucus. *Pol'nohospodárstvo*, 29, 1983, č. 12, s. 1092-1103.
- BARTÍK, M. — CHAVKO, M. — KASAFÍREK, E.: N-alpha-tosyl-L-arginine-p-nitroanilide as substrate in color test and polarographic test of trypsin. *Clin. chim. Acta*, 56, 1974, s. 23-30.
- DIMINO, M. J. — MALCOLM, S. E. — ELFONT, E. A.: Changes in acid hydrolases activities of ovarian subcellular fractions of immature rats after gonadotropic treatment. *Biol. Reprod.*, 17, 1977, s. 780-786.
- HACKETT, A. J. — HAFS, H. D.: Biochemical and morphological changes in bovine tubular genitalia during the estrous cycle. *J. anim. Sci.*, 29, 1969, s. 35-38.
- HAENDLE, H. — FRITZ, H. — TRAUTSCHOLD, I. — WERLE, E.: Über einen hormonabhängigen Inhibitor für proteolytische Enzyme in männlichen accessorischen Geschlechtsdrüsen und im Sperma. *Z. phys. Chem.*, 343, 1965, s. 185.
- ICHIKAWA, S. — OHTA, M. — MORIOKA, H. — MURAO, S.: Blockage of ovulation in the explanted hamster ovary by a collagenase inhibitor. *J. Reprod. Fertil.*, 68, 1983b, s. 17-19.
- ICHIKAWA, S. — MORIOKA, H. — OHTA, M. — ODA, K. — MURAO, S.: Effect of various proteinase inhibitors on ovulation of explanted hamster ovaries. *J. Reprod. Fertil.*, 68, 1983a, s. 407-412.
- LINDSAY, D. R. — SIGNORET, J. P.: Influence of behaviour on reproduction. In: 9th internat. Congr. on anim. Reprod. and A. I. (Madrid). Vol. I. 1980, s. 83-92.
- MARION, G. B. — GIER, H. T. — CHOUDARY, J. B.: Micromorphology of the bovine ovarian follicular system. *J. anim. Sci.*, 27, 1968, s. 451-465.
- MOLNÁROVÁ, M.: Inhibitory proteáz v reprodukčnom procese. *Folia veter.*, 18, 1974, s. 365-382.
- MOLNÁROVÁ, M.: Inhibitor of proteolytic enzymes. *Physiol. bohemoslov.*, 24, 1975a, s. 454-455.
- MOLNÁROVÁ, M.: Inhibitory trypsinu v cervikálnom hliene niektorých hospodárskych zvierat. [Kandidátska dizertácia.] Košice 1975b. 178 s. — Vysoká škola veterinárska.
- MOLNÁROVÁ, M. — ARENDARČIK, J.: Concentration of protein-protease inhibitors in the cervical mucus of heifers after synchronization. *Physiol. bohemoslov.*, 20, 1979, s. 456.
- MOLNÁROVÁ, M. — ARENDARČIK, J.: Irradiation effect at different x-ray dose rates on the activity of trypsin inhibitors in the cervical mucus and in the plasma of sheep. *Physiol. bohemoslov.*, 30, 1981, s. 444-445.
- MOLNÁROVÁ, M. — ARENDARČIK, J.: Inhibitory trypsinu v cervikálnom hliene a plazme oviec po synchronizácii ruje. *Českoslov. Fyziol.*, 31, 1982, s. 471.
- MOLNÁROVÁ, M. — ARENDARČIK, J.: Zmeny trypsin inhibičných aktivít krvnej plazmy a cervikálneho hlienu oviec po podaní PGF_{2α} a PMSG v anestri. *Veter. Med. (Praha)*, 32, 1987, s. 659-668.
- MOLNÁROVÁ, M. — ARENDARČIK, J. — MOLNÁR, P.: Effect of hormone stimulation of ovaries on the dynamics of trypsin inhibiting activity of blood plasma, cervical mucus and histomorphology of ovine cervix. *Physiol. bohemoslov.*, 34, 1985a, s. 268.
- MOLNÁROVÁ, M. — ARENDARČIK, J. — STANIČKOVÁ, A.: Trypsin inhibujúca aktivita (TIA) v krvnej plazme a cervikálnom hliene oviec po hormonálnom ovplyvnení. *Českoslov. Fyziol.*, 34, 1985b, s. 80-81.
- MOLNÁROVÁ, M. — ARENDARČIK, J. — HALAGAN, J. — STANIČKOVÁ, A.: Trypsin inhibičná aktivita (TIA) krvnej plazmy a cervikálneho hlienu oviec so synchronizovanými a hormonálne stimulovanými vaječníkmi. *Českoslov. Fyziol.*, 35, 1986, s. 556-557.
- McLEOD, B. J. — HARESING, W.: Evidence that progesterone may influence subsequent luteal function in the ewe by modulating preovulatory follicle development. *J. Reprod. Fertil.*, 71, 1984, s. 381-386.

MOOR, R. M. — OSBORN, J. C. — CROSBY, I. M.: Gonadotropin-induced abnormalities in sheep oocytes after superovulation. *J. Reprod. Fertil.*, 74, 1985, s. 167-172.

RAHI, H. — SRIVASTAVA, P. N.: Lysosomal hydrolases in reproductive organs during estrous cycle of the hamster. *Gamete Res.*, 10, 1984, s. 57-66.

STRAUSS, J. G. — FLICKINGER, G. L.: A role of lysosomes in *corpus luteum* functions. In: SEGAL, H. L. — DROYLE, D. J. (Eds.): Protein turnover and lysosome function. New York, Acad. Press 1978, s. 1521-1541.

Došlo dňa 30. 3. 1987

МОЛНАРОВА, М. — АРЕНДАРЧИК, Й. — ТОКОШ, М. (Ветеринарный институт, Кошице): Влияние PMSG на трипсин ингибирующую активность (ТИА) кровяной плазмы, слизи шейки матки и некоторые воспроизводственные органы овец в анаэстезе. *Veter. Med. (Praha)*, 33, 1988 (2) : 91-100.

Влияние доз 750, 1000 и 1500 I. U. PMSG (Antex Leo) на динамику трипсин ингибирующих активностей (ТИА) кровяной плазмы и слизи шейки матки овец отличаются: а) по времени (с начала введения PMSG) установленных минимальных значений общей ТИА (72, 48, 24 часов); б) в значениях средней общей ТИА в отдельных днях опыта (40,3—141,4 % значений контрольных); в) в фракциях низкомолекулярных ТИА после введения 750 и 1500 I. U. PMSG, которые показали минимальные значения через 24 часа, 1000 I. U. после 72 часов (53,0 и 60,4; т.е. 69,7 % контрольных значений); г) в самых высоких значениях фракции низкомолекулярных ТИА, которые мы установили через 96 часов (96,1—183,7 % значений контрольных); д) в средних значениях в периоде 96 часов опыта, которые для общей ТИА колебались от 64,1 % (1500 I. U.) до 77,1 % (750 I. U.) и для низкомолекулярных ТИА от 89,6 % (750 и 1000 I. U.) до 122,8 % (1500 I. U.), в отношении атретических и неатретических (A/N) терциальных фолликулов, который возрастал с позывающей дозой PMSG, что находилось в непрямой корреляции со средними значениями общей ТИА; е) в весе маток и яичников, которые после стимуляции возрастали от 176,8 до 322,3 % контрольных значений; ж) в средних значениях ТИА слизи шейки матки, которые колебались от 53,5 до 125 % контрольных значений.

стимуляция PMSG; терциальные фолликулы; вес маток; вес яичников

MOLNÁROVÁ, M. — ARENDARČIK, J. — TOKOŠ, M. (University of Veterinary Medicine, Košice): *The Effect of PMSG on the Trypsin Inhibition Activities (TIA) of Blood Plasma, Cervical Mucus and on Some Parameters of the Reproduction Organs of Ewes in Anoestrus*. *Veter. Med. (Praha)*, 33, 1988 (2) : 91-100.

The effect of the doses of 750, 1000, and 1500 I. U. PMSG (Antex Leo) on changes in the trypsin-inhibition activities (TIA) of the blood plasma and cervical mucus of ewes was found to vary: a) in the times (from PMSG administration) of recording the minimum values of total TIA (72, 48, 24 hours); b) in the values of the average total TIA on individual days of the trial (40.3—141.4 % of the control values); c) in the fractions of low-molecular TIA after administration of 750 and 1500 I. U. PMSG, the fractions exhibited minimum values after 24 hours, and of 1000 I. U. after 72 hours (53.0 and 60.4, and 69.7 % of the control values, respectively); d) in the highest values of the fractions of low-molecular TIA recorded after 96 hours (96.1—183.7 % of the control values); e) in the average values for 96 hours of the trial, which ranged from 64.1 % (1500 I. U.) to 77.1 % (750 I. U.) for total TIA and from 89.6 % (750 and 1000 I. U.) to 122.8 % (1500 I. U.) for low-molecular TIA; f) in the ratio of atretic and non-atretic (A/N) tertiary follicles, which grew with increasing PMSG doses; this was indirectly correlated with the average values for total TIA; g) in the weights of uteri and ovaria which increased from 176.8 to 322.3 % of the control values after the stimulation; h) in the epithelium thickness of cervix and cervical glands increasing from 118 % to 316 % of the control values; i) in the average TIA values of cervical mucus ranging from 53.3 to 125 % of the control values.

PMSG stimulation; tertiary follicles; uterus weight; ovary weight

MOLNÁROVÁ, M. — ARENDARČÍK, J. — TOKOŠ, M. (Veterinärmedizinische Hochschule, Košice): *Einfluss von PMSG auf die Trypsininhibitionsaktivität (TIA) des Blutplasmas, des Zervikalschleimes und auf einige Reproduktionsorgane der Schafe im Anöestrus*. Veter. Med. (Praha), 33, 1988 (2) : 91-100.

Der Einfluss der Gaben von 750, 1000 und von 1500 I. E. PMSG (Antex Leo) auf die Dynamik der Trypsininhibitionsaktivitäten des Blutplasmas und des Zervikalschleimes der Schafe unterscheidet sich: a) in der Zeit (von der PMSG-Applikation an) der Ermittlung der Mindestwerte der gesamten TIA (72, 48, 24 Stunden); b) in den Werten der durchschnittlichen gesamten TIA in den einzelnen Versuchstagen (40,3—141,1 % der Kontrollwerte); c) in den Fraktionen der niedermolekularen TIA nach der Verabreichung von 750 und von 1500 I. E. PMSG, wo die Mindestwerte nach 24 Stunden nachgewiesen werden konnten, von 1000 I. E. nach 72 Stunden (53,0 und 60,4 bzw. 69,7 % der Kontrollwerte); d) in den höchsten Werten der Fraktion der niedermolekularen TIA, die wir nach 96 Stunden (96,1—183,7 % der Kontrollwerte) ermittelten; e) in den im Verlauf von 96 Versuchsstunden ermittelten Durchschnittswerten, die für die gesamten TIA von 64,1 % (1500 I. E.) bis 77,1 % (750 I. E.) und für die niedermolekularen TIA von 89,6 % (750 und 1000 I. E.) bis 122,8 % (1500 I. E.) schwankten; f) im Verhältnis der atretischen und nicht-atretischen tertiären Follikel (A/N), das sich entsprechend der PMSG-Gabe erweiterte, was in einer indirekten Korrelation mit durchschnittlichen Werten der gesamten TIA war; g) im Ovarien- und Gebärmuttergewicht, das nach der Stimulation von 176,8 bis 322,3 % der Kontrollwerte zunahm; h) in der Höhe des Epithels der Cervix und der Zervikaldrüsen, die von 118 % bis 316 % der Kontrollwerte zunahm; ch) in den durchschnittlichen TIA-Werten des Zervikalschleimes, die von 53,3 bis 125 % der Kontrollwerte schwankten.

PMSG-Stimulation; tertiäre Follikel; Gebärmuttergewicht; Ovariengewicht

Adresa autorov:

Ing. Marie Molnárová, CSc., prof. MVDr. Jozef Arendarčík, DrCsc.,
MVDr. Marián Tokoš, Vysoká škola veterinárska, Komenského 73, 041 81 Košice

RADIOIMUNOLOGICKÉ STANOVENÍ MYKOTOXINU OCHRATOXIN A — NOVÁ DIAGNOSTICKÁ METODA V ČSSR

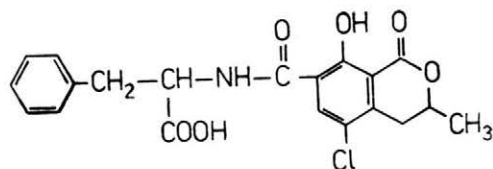
J. Ruprich, K. Vereš, D. Schmiedová

RUPRICH, J. — VEREŠ, K. — SCHMIEDOVÁ, D. (Institut hygieny a epidemiologie, Brno; Ústav nukleární biologie a radiochemie, MBÚ, ČSAV, Praha): *Radioimunologické stanovení mykotoxinu ochratoxin A — nová diagnostická metoda v ČSSR*. Veter. Med. (Praha), 33, 1988 (2) : 101-108.

Byla vyvinuta nová radioimunologická metoda stanovení mykotoxinu ochratoxin A. Použité specifické protilátky byly připraveny imunizací králíků konjugátem ochratoxinu A s bovinním sérovým albuminem. Jejich efektivní afinitní konstanta byla — $K_a = 5,1 \times 10^{-9} \text{ l} \cdot \text{Mol}^{-1}$. Jako radioligand byl použit ^{125}I -ochratoxin s vysokou specifickou radioaktivitou (čs. patent PV 6136, 1986). Průměrná citlivost stanovení (ED 85 %) byla 10 až 15 pikogramů v 0,1 ml vzorku. Rozsah kalibrační křivky byl většinou od 5 do 360 pikogramů.

stanovení RIA; specifické protilátky; imunizace králíků; afinitní konstanta

Ochratoxiny jsou toxické metabolity produkované některými zástupci plísňí rodu *Aspergillus* a *Penicillium*. Objeveny byly v roce 1965 (Scott, 1965). Jako nejtoxičtější mykotoxin ze skupiny ochratoxinů se ukázal ochratoxin A (OCH A), jehož struktura je znázorněna na obr. 1. LD₅₀ ochratoxinu A pro mladé krysy perorálně činí 22 mg · kg⁻¹ živé hmotnosti (Cole a Cox, 1981). Ochratoxin A vyvolává akutní poškození jater, tukovou infiltraci, hyalinní degeneraci a ložiskovou nekrózu ledvin. Na myších byl zjištěn i teratogenní vliv. Podle charakteru účinku je ochratoxin A řazen do skupiny nefrotoxických mykotoxinů. Nefrotoxický účinek může být potencován některými organickými látkami (citrinin, kyselina šťavelová, viridicátumtoxin, nefrotoxická antibiotika), ale i anorganickými látkami (tzv. těžké kovy). Ochratoxin A je jednou z možných příčin endemického onemocnění lidí, nazývaného „balkánská endemická nefropatie“. Obdobné onemocnění je zjišťováno i u některých zvířat, zejména u prasat a drůbeže. Rozsáhlý výskyt změn na ledvinách vlivem ochratoxinu A byl zjištěn u prasat v Dánsku (tzv. dánská porcinní nefropatie — Krogh, 1978), ale i v dalších státech, především přímořských. Při perorálním příjmu ochratoxinu A jsou nacházena rezidua ve tkáních zvířat. Relativně nejvyšší koncentrace jsou zjišťovány v krvi a tkáni



1. Struktura ochratoxinu — Ochratoxin structure

ledvin (Stejn, 1984). Nejčastějším přirozeným zdrojem intoxikace domácích zvířat i člověka jsou cereálie, zejména ječmen, pšenice, oves, kukurice, ale i jiné rostlinné substráty. Možným zdrojem příjmu pro člověka je i maso a orgány jatečných zvířat (prasata, drůbež) krmných kontaminovaných krmivem.

V našich podmínkách se zjišťováním výskytu ochratoxinu A zabývali Piskač aj. (1979) a Kusák aj. (1980). Rozsáhlejší studie o úrovni kontaminace krmiv a potravin ochratoxinem A nebyly v posledních letech v ČSSR zveřejněny.

Ochratoxin A (obr. 1) je látka příbuzná izokumarinům, s molekulovou hmotností 403,0822. Je relativně tepelně stálý, odolává autoklavování, ale vyšší teplota (kolem 200 °C) jej rozloží za poměrně krátkou dobu. Je to látka kyselé povahy, která se v alkalickém prostředí dobře rozpouští i ve vodných roztocích. Uvedené vlastnosti ochratoxinu A si vynutily zavedení metod průkazu tohoto mykotoxinu mezi laboratorní diagnostické metody. Při průkazu jsou nejvíce využívány různé chromatografické metody (AOAC, 1980) a spektrální metody. Zhruba před deseti lety se objevil zcela nový typ kvantitativního stanovení ochratoxinu A, a to stanovení imunochemické (Aalund aj., cit. Morgan aj., 1983; Chu aj., 1976).

Na pracovištích v ČSSR byla dosud využívána především metoda chromatografie v tenké vrstvě silikagelu. Nové přístupy ke kvalitativní kontrole potravin a krmiv, zejména nároky na zvýšený počet vyšetření, vedly k rozhodnutí vyvinout a ověřit možnosti radioimunologického stanovení (RIA) ochratoxinu A i v našem státě.

MATERIÁL A METODY

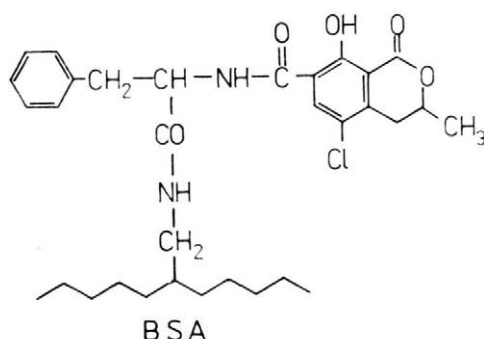
Při práci jsme použili tyto látky: Ochratoxin A (Sigma O-4001), ochratoxin A připravený postupem, který popsali Ruprich aj. (1986), ochratoxin B, který připravili Vereš a Schmiedová (1986, ÚNBR ČSAV Praha), beta-phenyl-alfa-alanin (Lachema), aflatoxin B₁, G₁, M₁, který připravili Ruprich aj. (1986, CHPR IHE Brno), citrinin (Ruprich aj., 1986, CHPR IHE Brno), bovinní sérový albumin (BSA) (Sigma A-7888), 1-ethyl-3/3-dimethylaminopropyl (karbodiimid) (Sigma E-7750), dimethylsulfoxid, pyridin a jiná organická rozpouštědla (Lachema) p. a. čistoty nebo redestilovaná, Sephadex G-25 (Pharmacia), aktivní uhlí Norit A (Serva 30890), dextran T 70 (Pharmacia) a další běžné chemikálie.

Příprava fosfátového pufru pH = 7,5, 0,05 M: na 1000 ml pufru použijeme 15,04 Na₂HPO₄ · 12 H₂O a 1,25 g NaH₂PO₄ · 2 H₂O. Případné drobné odchylky pH upravíme pomocí roztoků HCl a NaOH. Při uchovávání pufr konzervujeme přidavkem 0,05 % azidu sodného. K imunizacím bylo použito Freudovo adjuvans (Difco 0638-60, 0639-60). Imunizovány byly samice králíků plemene Novozélandský bílý (Velaz).

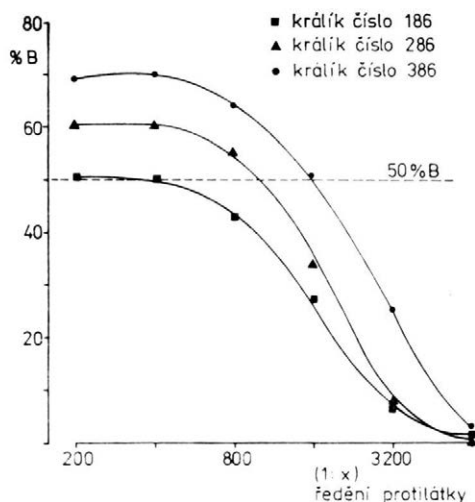
Použité přístroje: Specord M 40 (Carl Zeiss, Jena), měřič gama záření NRG-603 (Tesla), osobní počítač IQ 151 (ZPA) a další běžná laboratorní zařízení.

PŘÍPRAVA SPECIFICKÝCH PROTILÁTEK

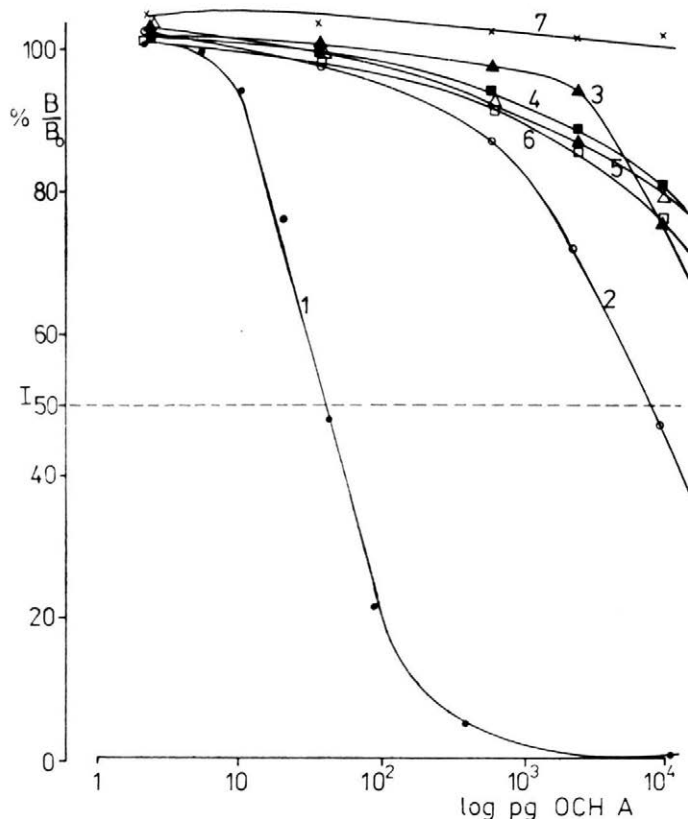
Imunogen určený k přípravě specifických protilátek byl připraven modifikovaným postupem podle autorů Chu aj. (1976) reakcí ochratoxinu A s bovinním sérovým albuminem pomocí karbodiimidu. Ověřena byla i vazba metodou smíšeného anhydridu. Příprava: 5 mg ochratoxinu A bylo rozpuštěno ve 400 μl dimethylsulfoxidu. Roztok byl nakapán na 40 mg předem připraveného 1-ethyl-3/3-dimethylaminopropyl/karbodiimidu. Vzniklý roztok byl ponechán 45 minut reagovat v temnu. V reakční baňce bylo rozpuštěno 15 mg albuminu ve fosfátovém pufru.



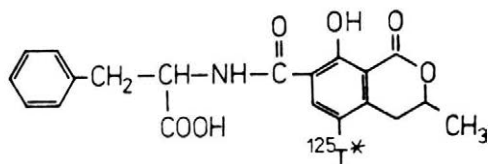
2. Schematické znázornění struktury imunizačního konjugátu OCH A — BSA
— Diagram of the structure of the OCH A — BSA immunization conjugate



3. Titr protilátek králíků č. 186, 286, 386 14 dnů po třetí reimmunizaci konjugátem OCH A — BSA (AB 186 — 400, AB 286 — 1010, AB 386 — 1590) — The antibody titres of rabbits nos. 186, 286, 386, a fortnight after the third re-immunization with the OCH A — BSA conjugate (AB 186 — 400, AB 286 — 1010, AB 386 — 1590)



4. Křížové reakce protilátky AB 286 (1 — ochratoxin A, 2 — ochratoxin B, 3 — aflatoxin B₁, 4 — aflatoxin M₁, 5 — citrinin, 6 — aflatoxin G₁, 7 — phenylalanine) — Cross reactions of the AB 286 antiserum (1 — ochratoxin A, 2 — ochratoxin B, 3 — aflatoxin B₁, 4 — aflatoxin M₁, 5 — citrinin, 6 — aflatoxin G₁, 7 — phenylalanine)



5. Struktura ^{125}I -ochratoxinu používané-
ho jako radioligand — The structure
of ^{125}I -ochratoxin used as radioligand

K tomuto roztoku bílkoviny byl za stálého míchání po kapkách přidán reakční roztok ochratoxinu. Reakční směs byla ponechána tři hodiny při laboratorní teplotě, pak asi 15 hodin (přes noc) při teplotě 4°C . Směs vzniklého konjugátu OCHA-BSA a reakčních zbytků byla rozdělena na sloupci Sephadexu G-25 (15 X 500 mm). K eluci byl použit fosfátový pufr. Jednotlivé frakce eluátu byly spektrálně kontrolovány. Frakce obsahující čistý konjugát byly spojeny. Spektrálně byl stanoven přibližný molární poměr OCH A : BSA v konjugátu (18 : 1). V přepočtu na vstupní množství BSA bylo ve formě konjugátu zpět získáno asi 82 %. Roztok konjugátu byl lyofilizován a použit k imunizaci. Schéma konjugátu je patrné z obr. 2.

Při alternativní přípravě konjugátu metodou smíšeného anhydridu byl jako kondenzační činidlo použit sekundární butyl chloroformát. Výsledný konjugát měl molární poměr OCHA A : BSA 10 : 1. Imunizační schéma bylo: 1. imunizace — 0,75 mg konjugátu bylo rozpuštěno v 1,5 ml destilované vody a smícháno s 1,5 ml kompletního Freudova adjuvans. Po emulgaci byla dávka aplikována intradermálně na 40 až 60 míst na boky králíka (Vaitukaitis, 1981); 2. další reimmunizace — 0,30 mg konjugátu bylo rozpuštěno stejným způsobem jako při první imunizaci, ale Freudovo adjuvans bylo inkompletní. Po emulgaci byla dávka aplikována podkožně na 20 míst podél hřbetu (dvě třetiny dávky) a intramuskulárně do stehenní svaloviny (jedna třetina dávky) pánevních končetin. K imunizaci jsme použili tři králíky. Reimmunizovali jsme třikrát s odstupem šesti týdnů. Hladina protilátek byla kontrolována Ouchterlonyho imunodifúzní metodou, později pomocí RIA. Dosažené hladiny protilátek (titr) jsou patrné z obr. 3. Antisérum bylo získáno vykrvením králíků v celkové narkóze, zavedením kanyly do *arteria carotis communis* dx. Odběr se nevydařil u králíka č. 386, jenž měl nejvyšší hladinu protilátek. Pro další práci bylo použito antisérum králíka č. 286, jež bylo konzervováno lyofilizací. Efektivní afinitní konstanta této protilátky činila $5,1 \cdot 10^9 \text{ l} \cdot \text{mol}^{-1}$ (metodou Scatchardovou) a koeficient homogenity činil 0,96 (metodou podle Sipse-Hilla) (Stupnický, 1979). Prakticky použitelný titr této protilátky byl asi 1 : 1000. Křížové reakce protilátky s některými jinými látkami, jež by mohly ve stanovení interferovat, jsou znázorněny na obr. 4. Byly zjištěny tyto křížové reakce: ochratoxin A — 100 %, ochratoxin B — 0,5 %, citrinin — méně než 0,5 %, fenylalanin — méně než 0,5 %, aflatoxin B₁, G₁, M₁ — všechny méně než 0,5 %.

PŘÍPRAVA RADIOLIGANDU — ^{125}I -OCHRATOXINU

Do zkumavky bylo vneseno 10 μl (0,4 μg) dioxanového roztoku ochratoxinu B, 10 μl fosfátového pufru (pH = 7,4, 0,05 M), 10 μl roztoku beznosičového Na^{125}I o radioaktivitě cca 37 MBq a 10 μl 0,5 % chloraminu T v uvedeném fosfátovém pufru. Směs byla míchána při teplotě 5°C po dobu tří minut a pak bylo přidáno 10 μl 0,5 % roztoku hydrosiřičitanu sodného v uvedeném pufru. Produkt reakce byl extrahován z vodného roztoku opakovaně 100 μl etylacetátu. Získaná směs látek byla rozdělena chromatografií v tenké vrstvě silikagelu (soustava: chloroform — octan etylnatý — kyselina mravenčí = 60 — 40 — 1). Radioaktivní forma ochratoxinu má R_f mírně vyšší než forma výchozí. Poloha byla určena autoradiograficky, ^{125}I -ochratoxin byl po vystřížení skvrny z chromatogramu eluován 2 až 3 ml metanolu. Uvedeným postupem (Vereš a Schmiedová, 1986) je možné získat 10 až 15 MBq ^{125}I -ochratoxinu, který je znázorněn na obr. 5. Postup přípravy je chráněn čs. patentem PV 6136 autorů Vereš a Schmiedová (1986).

PROVEDENÍ RADIOIMUNOLOGICKÉHO STANOVENÍ

Standards OCH A byly připraveny rozpuštěním 720 ng OCH A v 10 ml metanolu. 0,1 ml vzniklého roztoku bylo přidáno k 0,9 ml 0,5 % kaseinu ve fosfátovém pufru. Výsledný standard tedy obsahoval 720 pg OCH A v 0,1 ml roztoku. Standard byl uchováván až do použití při teplotě -20°C zmražený. Při stanovení bylo použito 0,1 ml standardu. Protilátky pro stanovení byly připraveny naředěním ve fosfátovém

pufru v množství, jež odpovídalo 30 až 50% vazbě radioligandu (B_0). Pro stanovení bylo použito 0,1 ml ředěné protilátky. Radioligand byl ředěn fosfátovým pufrům až na radioaktivitu okolo 10 000 imp. $\cdot$ 40 s⁻¹, v objemu 0,1 ml, který byl používán ve stanovení. Vzorke pro stanovení byly připravovány upraveným postupem autorů Lee a Chu (1984). Extrakce byla prováděna z 5 g homogenizovaného, suchého vzorku do 30 ml metanolu po dobu 15 minut. Extrakt byl třikrát koncentrován a v 10% podílu byl míchán s 0,5% kaseinem ve fosfátovém pufru. Do stanovení bylo použito 0,1 ml roztoku. (Podrobnosti přípravy vzorku jsou předmětem samostatného sdělení.) Reakční směs o objemu 0,3 ml byla inkubována v polystyrenových zkuševkách (5 cm) po dobu minimálně 12 hodin (přes noc), při teplotě 4 °C. Volná a vázaná část radioligandu byla separována suspenzí aktivního uhlí Norit A, povlékaného dextranem T 70 (Ruprich aj., 1986) po dobu 15 minut při teplotě 4 °C. Směs byla odstřeďována 10 minut při 3500 otáčkách. Pro měření radioaktivity se odebíralo 0,5 ml supernatantu. Výsledky stanovení byly zpracovány metodou log-logit vážené regrese (Schwarz, 1984) pomocí počítačového programu RIA-VR (Ruprich aj., 1986).

VÝSLEDKY A DISKUSE

Získané kalibrační křivky měly obvykle rozsah od 5 do 360 pg ochratoxinu A. Příklad kalibrační křivky z běžného laboratorního stanovení je uveden na obr. 6. Pro vlastní odečítání výsledků vzorků se nám osvědčilo použití kalibrační křivky v rozsahu 85—15 % vazby nulového standardu — B_0 . Citlivost stanovená jako hodnota odlišitelná od hodnoty B_0 byla stanovena jako 87 % B_0 s pravděpodobností 99 % (n stanovení = 24). V rozsahu 85 — 15 % B_0 je průběh křivky téměř lineární v log-logit souřadnicích (koeficient korelace při lineární regresi kolísá kolem 0,99). Chyba mezi stanoveními (interassay) činila v případě modelových vzorků 12,2 % pro nízké, 6,0 % pro střední a 11,8 % pro vysoké koncentrace ($n = 7$). Citlivost stanovení je značně vysoká. Úroveň 85 % B_0 se pohybuje mezi 10 až 15 pg ve stanovení, což se vyrovná stanovení, které uvedli Morgan aj. (1983), a více než dvojnásobně převyšuje citlivost ELISA stanovení, které použili Pestka aj. (1981). Citlivostí předčí vypracovaná metoda RIA i ELISA stanovení dalších autorů (např. Lee aj., 1984), kteří dosáhli citlivosti ve stanovení 25 až 50 pg. Metoda RIA autorů Chu aj. (1976) používala ³H-ochratoxin A a dosahovala citlivosti asi 0,5 ng v 0,5 ml vzorku. V nedávné době vyvinuté stanovení ELISA, využívající monoklonálních protilátek proti ochratoxinu A (Candlish aj., 1986), nedosahuje vzhledem k nízké efektivní afinitní konstantě zdaleka citlivosti stanovení, která používají polyklonálních protilátek.

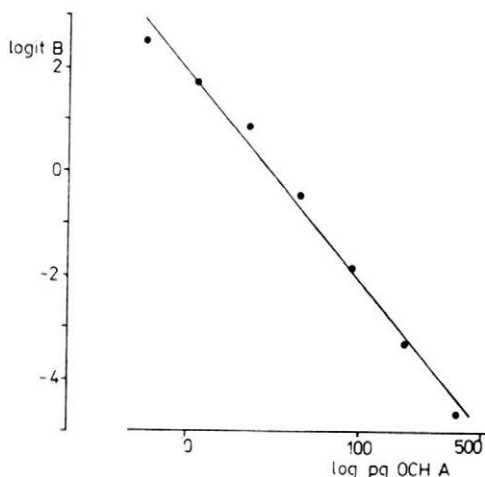
Vysoká citlivost stanovení umožňuje použití méně zahuštěných extraktů vzorků, takže ovlivnění imunochemické reakce balastními látkami je téměř zanedbatelné. Výhoda vysoké citlivosti stanovení vynikne, zvažili-li se úroveň maximálních přípustných koncentrací ochratoxinu A v potravinech (pro ČSR):

- potraviny obecně — 20 μ g OCH A $\cdot$ kg⁻¹,
- potraviny pro děti — 5 μ g OCH A $\cdot$ kg⁻¹,
- potraviny pro kojenče — 1 μ g OCH A $\cdot$ kg⁻¹.

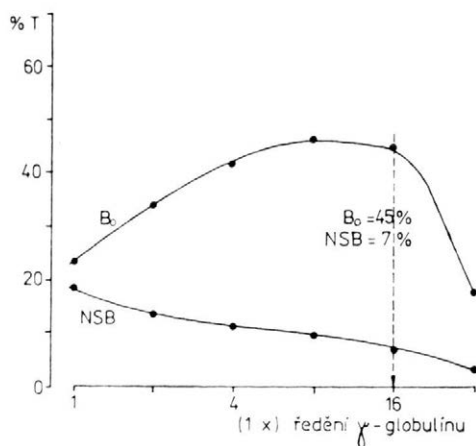
Vzhledem k nedostatku analytických údajů nebyla úroveň maximálních přípustných koncentrací pro krmiva prozatím navržena. V tomto směru může nová diagnostická metoda přinést mnoho cenných poznatků.

Vysoká citlivost vypracovaného postupu je umožněna především tím, že se použije jódovaný radioligand s vysokou specifickou radioaktivitou a protilátkou s dostatečně vysokou afinitní konstantou. Exspirační doba radioligandu je více než čtyři měsíce. Vzhledem k těmto vlastnostem lze předpokládat, že ^{125}I -ochratoxin může být použit i k jiným, tzv. stopovacím účelům. Úroveň křížových reakcí protilátky s možnými interferujícími látkami, které přicházejí v úvahu jako další kontaminanty vzorku, je příznivá. Přihlédneme-li k ředění vzorku, pak téměř není možná chyba vlivem reakce s citrininem, který se klinicky, svým účinkem, projevuje rovněž jako nefrotoxin. Je známo, že se může vyskytovat současně s ochratoxinem A. Překvapující je nízká úroveň křížové reakce s ochratoxinem B, příznivá je i pro aflatoxiny. Reaktivnost protilátky s metabolickými produkty přeměny ochratoxinu A v organismu byla ověřena pouze zjištěním křížové reakce s fenylalaninem. Ochratoxin-alfa nebyl k dispozici.

Vlastní stanovení je poměrně jednoduché. Mimo uvedené schéma stanovení byla ověřována i možnost separace vázané a volné části radioligandu 25% roztokem polyetylenglykolu 6000 (PEG). Při separaci tímto způsobem je nutné přidat do prostředí reakce gama-globulin (např. hovězí). Určení potřebného přídatku globulinů do prostředí reakce znázorňuje obr. 7. Před vlastní procedurou RIA byl hovězí gama-globulin (10%) přidáván v poměru 1 : 16 k fosfátovému pufru, použitému k ředění protilátky. Gama-globulin lze přidat do reakčního prostředí až těsně před separací. Této možnosti však nebylo použito. Separace byla provedena přidáním 0,5 ml 25% PEG k reakční směsi, protřepáním a okamžitým odstředěním při 3500 otáčkách po dobu 15 minut. Supernatant byl odsát nebo dekantován. Ostatní podmínky stanovení byly zachovány jako při separaci aktivním uhlím. Radioaktivita byla měřena v sedimentu



6. Kalibrační křivka RIA stanovení ochratoxinu A (separace 1,5% dextr. Noritem A, noční inkubace) — Calibration curve of the RIA determination of ochratoxin A (separation with 1.5% dextr. Norit A, nightly incubation)



7. Určení optimální koncentrace hovězího gama-globulinu v reakci RIA pro separaci 25% polyetylen-glykolem pro dané ředění protilátky (AB — 1 : 1100) — Determination of the optimum concentration of bovine gamma-globulin in the RIA reaction — separation with 25% polyethyl-glycol for the given antibody dilution ratio (AB — 1 : 1100)

precipitátu. Při separaci PEG jsme dosahovali vyšší úrovně specifické vazby B_0 než při separaci aktivním uhlím, jestliže byla dodržena úroveň ředění. Rozdíl činil až 20 %. Nespecifická vazba se shodně pohybovala okolo 8 %. Průběh kalibrační křivky při separaci PEG byl však méně příznivý. Rovněž strmost křivky byla nižší, což se projevovalo nižší rozlišovací schopností stanovení. Použití PEG má však výhodu v možnosti automaticky pipetovat separační médium.

Vzhledem k možnosti požadavku na rychlé vyšetření většího počtu vzorků na obsah OCH A byla ověřena i krátkodobá inkubace — tři hodiny při teplotě 28 °C. Separace byla prováděna po ochlazení na teplotu 4 °C. Postup byl použitelný, ale rozptýl výsledků byl mírně vyšší.

Metoda RIA vyvinutá pro stanovení ochratoxinu A je v našich podmínkách metodou novou. Lze jí s výhodou použít pro kvantitativní screeningovou kontrolu nezávadnosti potravin a krmiv rostlinného původu. Typem použitého radioligandu je i světovou prioritou. Stanovení je jednoduché, vhodné pro vyšetřování velkých sérií vzorků v krátkém čase. Limitujícími faktory zavedení metody jsou především technické a hygienické vybavení laboratoře, použití jednoduchých, ale spolehlivých metod přípravy vzorků ke stanovení. Metoda RIA stanovení ochratoxinu A byla ověřena ke kontrole rostlinných substrátů. Použití pro kontrolu živočišných surovin vyžaduje další studium, zejména v oblasti interference živočišných bílkovin ve stanovení.

Literatura

- CANDLISH, A. A. G. — STIMSON, W. H. — SMITH, J. E.: A monoclonal antibody to ochratoxin A. *Lett. appl. Microbiol.*, 3, 1986, s. 9-11.
- COLE, R. J. — COX, R. H.: *Handbook of toxic fungal metabolites*. New York, Acad. Press 1981, s. 137.
- CHU, F. S. — CHANG, F. CH. C. — HINSIDILL, R. D.: Production of antibody against ochratoxin A. *Appl. Envir. Microbiol.*, 31, 1976, s. 831-835.
- KROGH, P.: Causal associations of mycotoxic nephropathy. *Acta path. microbiol. scand.*, Suppl. 269, 1978, 28 s.
- KUSÁK, V. — VESELÝ, D. — VESELÁ, D.: Výzkum vlastností a vznik aflatoxinů v potravinách. Ochratoxiny. [Závěrečná zpráva.] Olešnice v Orlických horách, Ústav experimentální mikrobiologie 1980, s. 31-42.
- LEE, S. C. — CHU, F. S.: Enzyme-linked immunosorbent assay of ochratoxin A in wheat. *J. Assoc. off. analyt. Chem.*, 67, 1984, s. 45-49.
- MORGAN, M. R. A. — McNERNEY, R. — CHAN, H. W. S.: Enzyme-linked immunosorbent assay of ochratoxin A in barley. *J. Assoc. off. analyt. Chem.*, 66, 1983, s. 1481-1484.
- PESTKA, J. J. — STEINERT, B. W. — CHU, F. S.: Enzyme-linked immunosorbent assay for detection of ochratoxin A. *Appl. Envir. Microbiol.*, 41, 1981, s. 1472-1474.
- PISKAČ, A. et al.: Mykotoxická nefropatie prasat ve velkochovech. *Veterinářství*, 29, 1979, s. 253-255.
- RUPRICH, J. — PISKAČ, A. — VEREŠ, K.: Radioimunologické stanovení aflatoxinů: metodika stanovení, interferující látky. *Českoslov. Hyg.*, 31, 1986, s. 288-295.
- SCOTT, B.: Toxigenic fungi isolated from cereal and legume products. *Mycopath. et Mycol. appl.*, 25, 1965, s. 213-222.
- SCHWARZ, S.: A versatile, modular and rapid computer program for radioimmunoassay data reduction and continuous quality control for the Hewlett Packard 41 series calculators. Cost/Benefit and predictive value of radioimmunoassay. Elsevier, 1984, s. 129-137.
- STEYN, P. S.: Ochratoxin and related dihydroisocoumarins. *Mycotoxins — production, isolation, separation and purification*. Elsevier, 1984, s. 183-216.
- STUPNICKY, R.: Opracowywanie wyników oraz kontrola jakości w radioimmunologii. Metody radioim. i radiokomp. stosowane w klinice. PZW (Warszawa), 1979, s. 68-90.

VAITUKAITIS, J. L.: Production of antisera with small doses of immunogen: Multiple intradermal injections. *Meth. Enzymol.*, 73, Immunochem. Techn., Part B. New York, Acad. Press 1981, s. 46-52.

VEREŠ, K. — SCHMIEDOVÁ, D.: (^{125}I)ochratoxin a způsob jeho přípravy. PV 6136 (5. 4. 1986).

Došlo dne 24. 3. 1987

РУПРИХ, Й. — ВЕРЕШ, К. — ШМИДОВА, Д. (Институт гигиены и эпидемиологии, Брно; Институт ядерной биологии и радиохимии, МБУ, ЧСАН, Прага): Радиоиммуннологическое определение микотоксина охратоксин А — новый диагностический метод используемый в ЧССР. *Veter. Med. (Praha)*, 33, 1988 (2) : 101-108.

Byl разработан новый радиоиммуннологический метод определения микотоксина охратоксин А. Использованные специфические антитела были подготовлены иммунизацией кроликов конюгатом охратоксину А с сыворотным альбумином к. р. с. Их эффективная афинитная константа была — $K_a = 5,1 \times 10^{-9}$ l. В качестве радиолганда был использован ^{125}I -охратоксин с высокой специфической радиоактивностью (чсл. патент PV 6136, 1986). Средняя чувствительность определения (ЕД 85 %) составляла 10—15 пикограммов в 0,1 мл пробе. Калибровка кривой в основном находилась от 5 до 360 пикограмм.

определение RIA; специфические антитела; иммунизация кроликов; афинитная константа

RUPRICH, J. — VEREŠ, K. — SCHMIEDOVÁ, D. (Institute of Hygiene and Epidemiology, Brno; Institute of Nuclear Biology and Radiochemistry, Microbiological Institute, Czechoslovak Academy of Sciences, Praha): *Radioimmunological Determination of the Mycotoxin Ochratoxin A — a New Diagnostic Method in Czechoslovakia*. *Veter. Med. (Praha)*, 33, 1988 (2) : 101-108.

A new radioimmunological method was developed for the determination of the mycotoxin ochratoxin A. The specific antibodies used in this method had been prepared by the immunization of rabbits by means of administration of ochratoxin A conjugate with bovine serum albumin. Their effective affinity constant was $K_a = 5.1 \times 10^{-9}$ l. Mol $^{-1}$. The substance used as radioligand was ^{125}I -ochratoxin with a high specific radioactivity (Czechoslovak patent PV 6136, 1986). The average sensitivity of determination (ED 85 %) was 10 to 15 picograms per 0.1 ml of sample. The range of the calibration curve was mostly from 5 to 360 picograms.

RIA determination; specific antibodies; immunization of rabbits; affinity constant

RUPRICH, J. — VEREŠ, K. — SCHMIEDOVÁ, D. (Institut für Hygiene und Epidemiologie, Brno; Institut für nukleare Biologie und Radiochemie, MBÜ, ČSAV, Praha): *Radioimmunologische Bestimmung von Mykotoxin Ochratoxin A — neue Diagnostikmethode in der ČSSR*. *Veter. Med. (Praha)*, 33, 1988 (2) : 101-108.

Es wurde eine neue radioimmunologische Methode zur Bestimmung des Mykotoxins Ochratoxin A entwickelt. Die angewendeten spezifischen Antikörper wurden durch Immunisierung der Kaninchen durch Konjugat von Ochratoxin A mit Serenrinderalbumin vorbereitet. Ihre effektive Affinitätskonstante war — $K_a = 5,1 \times 10^{-9}$ l. Mol $^{-1}$. Als Radioligand wurde das ^{125}I -Ochratoxin mit einer hohen spezifischen Radioaktivität (tsch. Patent PV 6136, 1986) benutzt. Die durchschnittliche Bestimmungsempfindlichkeit (ED 85 %) betrug 10 bis 15 Pikogramm/0,1 ml Probe. Die Schwankungsbreite der Eichungskurve betrug 5 bis 360 Pikogramm.

RIA-Bestimmung; spezifische Antikörper; Immunisierung der Kaninchen; Affinitätskonstante

Adresy autorů:

MVDr. Jiří Ruprich, Institut hygieny a epidemiologie, Palackého 1-3, 612 42 Brno

RNDr. Karel Vereš, RNDr. Dana Schmiedová, Ústav nukleární biologie a radiologie MBÜ ČSAV, 140 00 Praha 4

DYNAMIKA OBSAHU AMONIAKU V PROCESE DLHODOBÉHO SKLADOVANIA MÄSOVÝCH KONZERV

M. Šmirják, J. Hrušovský, J. Garčár

ŠMIRJÁK, M. — HRUŠOVSKÝ, J. — GARČÁR, J. (Vojenský veterinárny doškoľovací a výskumný ústav, Košice): *Dynamika obsahu amoniaku v procese dlhodobého skladovania mäsových konzerv*. Veter. Med. (Praha), 33, 1988 (2) : 109-118.

V štyroch druhoch mäsových konzerv, Bravčové vo vlastnej šfave, Hovädzie na slanine, Luncheon meat a Pečeňová paštéta, ktoré boli podrobené dlhodobému skladovaniu v trvaní 36 mesiacov za konštantných podmienok (priemerná teplota 21 °C, priemerná relatívna vlhkosť 73 %), sme sledovali dynamiku amoniaku v korelácii so senzorickými zmenami. Z každého druhu uvedených mäsových konzerv sme v potravinárskom závode vyrobili štyri skupiny finálnych výrobkov, ktoré mali rôzne hladiny amoniaku v závislosti od čerstvosti spracováanej suroviny. Vyrobené mäsové konzervy sme po sterilizácii a schladení, teda po ukončení technologického procesu výroby, senzoricky posúdili a stanovili sme v nich množstvo amoniaku. Získané hodnoty sme použili ako východiskové pre začiatok dlhodobého skladovania. V priebehu dlhodobého skladovania sme v pravidelných, polročných intervaloch sledovali dynamiku vybraných ukazovateľov. Na základe našich experimentálnych výsledkov sme dospeli k záveru, že dlhodobým skladovaním uvedených druhov mäsových konzerv dochádza k miernemu, postupnému nárastu obsahu amoniaku bez podstatnejších zmien v senzorických vlastnostiach, ktoré by nepriaznivo ovplyvnili ich využitie pre konzumáciu.

senzorické zmeny: finálne výrobky; spracovávané suroviny

Okrem rozhodujúceho významu výroby a obalu je skladovanie mäsových konzerv ďalším faktorom, ktorý vplýva na ich akosť a trvanlivosť.

Vyplýva to zo skutočnosti, že pri súčasných sterilizačných postupoch, ktoré sú kompromisom medzi výškou teplôt podmieňujúcich optimálne vlastnosti vareného mäsa a teplôt zaistujúcich 100 % usmrtenie všetkých zárodkov, nie je možné bezpečne zaistiť absolútnu sterilitu všetkých konzerv. Preto sa musia pri skladovaní vytvoriť a konštantne dodržiavať také podmienky, aby boli úplne eliminované alebo maximálne spomalené mikrobiologické a chemické procesy v konzerve a atmosférické pôsobenie na vonkajšiu plochu konzervy.

Mikrobiologické, chemické, prípadne elektrochemické procesy v konzerve sú urychľované zvyšovaním teploty. Pre priebeh zmien na vonkajšej ploche plechoviek sú rozhodujúcimi faktormi kolísanie teploty, relatívna vlhkosť vzduchu, povrchové nečistoty vrátane prachu. Základnou požiadavkou v dlhodobých skladoch je dostatočne nízka, nekolísavá teplota, nízka a stála relatívna vlhkosť a minimálna prašnosť.

S prihliadnutím k praktickým možnostiam je možné považovať za vyhovujúce tieto parametre: teplota okolo 10 °C, relatívna vlhkosť 60 až 75 % [L á t, 1966].

Je prirodzené, že teploty, ktoré sa pohybujú bližšie k 0 °C, by boli pre trvanlivosť mäsových konzerv ešte kladnejšie, pričom udržiavanie relatívnej vlhkosti na požadovanej hodnote by za daných podmienok teploty bolo veľmi obtiažne.

Teplota v sklade nesmie poklesnúť pod 0 °C, pretože vzniká nebezpečenstvo, že náplň zamrzne. Táto skutočnosť môže mať závažné dôsledky na trvanlivosť konzerv. Zmrazením sa zväčšuje objem náplne, čo môže mať za následok porušenie tesnosti plechoviek, najmä v uzáveroch a spojoch plášťa.

Horné teploty by nemali prekročiť 15 °C, pretože pri týchto teplotách sa začínajú aktivizovať rôzne spórotvorné proteolytické zárodky a urýchľujú sa chemické procesy v náplni i medzi obalom a náplňou.

Zmenami, ktoré prebiehajú v konzervách počas ich dlhodobého skladovania, sa zaoberal L á t (1966). Tento autor zistil, že v organoleptických vlastnostiach konzistencie, vo vzhľade, v chuti a vône neboli v priebehu päťročného skladovania zistené zmeny, ktoré by boli vyvolané skladovaním konzerv. Všetky skúšané druhy si zachovali pôvodné zmyslové vlastnosti.

Z chemických ukazovateľov boli sledované: číslo kyslosti, amoniak a obsah cínu a železa.

Obsah amoniaku bol po štvorročnom až päťročnom skladovaní dosť vysoký, nie je však možné bezpečne povedať, že ide o vplyv skladovania alebo suroviny použitej pri výrobe, prípadne o vplyv vysokých teplôt, pretože skladovanie konzerv bolo vykonané jeden až dva roky po výrobe a o použitej surovine nebolo nič známe.

K objasneniu týchto otázok je potrebné vykonať nové pokusy vedené tak, aby boli presne známe hodnoty suroviny pred výrobou, po výrobe a v priebehu skladovania.

L á t (1966) ďalej uvádza, že pri konzervách pre dlhodobé skladovanie je obsah amoniaku jedným z dôležitých kritérií svedčiacich o tom, že pre výrobu týchto konzerv bolo použité mäso čerstvé, že sterilizácia bola správna. Množstvo amoniaku v týchto konzervách by nemalo byť vyššie ako 25 mg v 100 g.

B l a n k a (1968) zistil u rôznych druhov mäsových konzerv skladovaných desať rokov pri teplote okolo 20 °C až trojnásobne vyšší obsah amoniaku.

Vplyvom dlhodobého skladovania na obsah amoniaku v pečeňových paštétach sa zaoberali In g r a L á t (1972) a dospeli k záveru, že pri skladovej teplote 8 °C v priebehu dlhodobého skladovania (päť rokov) sa obsah amoniaku v náplni nezvyšuje.

Úlohou našej práce bolo sledovať dynamiku amoniaku v korelácii so senzorickými zmenami vo vybraných druhoch mäsových konzerv v priebehu dlhodobého — trojročného — skladovania za definovaných podmienok.

MATERIÁL A METÓDY

Experimentálne práce sme vykonali v podmienkach nášho zariadenia. Skladovanie vyrobených mäsových konzerv bezprostredne nadväzovalo na výrobu štyroch vybraných druhov: Bravčové vo vlastnej šťave (BK), Hovädzie na slanine (HK), Luncheon meat (LK) a Pečeňový krém (PK). Tieto konzervy boli vyrobené v potravinárskom závode, ktorý vyrába mäsové konzervy. U prvých troch mäso-

vých konzerv sme z každého druhu vyrobili štyri skupiny (1—4) za použitia suroviny — mäsa bravčového a hovädzieho — so známymi senzorickými vlastnosťami, s rôznym, ale známym obsahom amoniaku. Rôzne hladiny amoniaku v surovine sme dosiahli jej skladovaním za týchto podmienok: priemerná teplota 12,5 °C a priemerná relatívna vlhkosť 78,0 %. Spracovním tejto suroviny v štyroch pracovných smenách v priebehu dvoch za sebou idúcich dní sme získali finálne výrobky s rôznou hladinou sledovaného ukazovateľa. U mäsovej konzervy Pečeňový krém sme vyrobili iba jednu skupinu zo surovín, ktoré neboli podrobené skladovaniu vzhľadom na ich rôznorodosť. Týmto spôsobom sme vyrobili celkom 13 skupín štyroch druhov mäsových konzerv. Zo všetkých skupín takto vyrobených mäsových konzerv sme po sterilizácii a schladení, teda po skončení technologického procesu výroby, odobrali po desať vzoriek, u ktorých sme determinovali vybrané ukazovatele (senzorické hodnotenie a amoniak) a tieto sme použili ako východiskové pre začiatok dlhodobého skladovania.

U odobratých vzoriek sme stanovili kvantitatívny obsah amoniaku mikrodifúznou metódou, metodickým postupom, ktorý popísal Priebela (1978), a vzorky sme senzoricky komisionálne posúdili podľa platných schém pre hodnotenie konzervovárensko-liehovarských výrobkov. Okrem toho sme vzorky podrobili komplexnému laboratórnemu vyšetreniu. Mäsové konzervy sme potom podrobili dlhodobému skladovaniu v trvaní 36 mesiacov v skladovacích priestoroch s priemernou teplotou 21 °C a s priemernou relatívnou vlhkosťou 73 %.

V priebehu dlhodobého skladovania sme všetky vyrobené skupiny z každého druhu mäsových konzerv pravidelne dvakrát ročne senzoricky komisionálne posúdili a kvantitatívne stanovili obsah amoniaku. Okrem toho sme všetky vzorky podrobili komplexnému laboratórnemu vyšetreniu.

Statistické zhodnotenie získaných výsledkov kvantitatívneho stanovenia amoniaku sme robili za využitia týchto charakteristík: aritmetický priemer $\bar{x}$, smerodajná odchýlka s , relatívna smerodajná odchýlka s_r , dolná hranica intervalu spoľahlivosti L_1 a horná hranica intervalu spoľahlivosti L_2 pre hladinu významnosti 0,05 (Eckchlagera i., 1980).

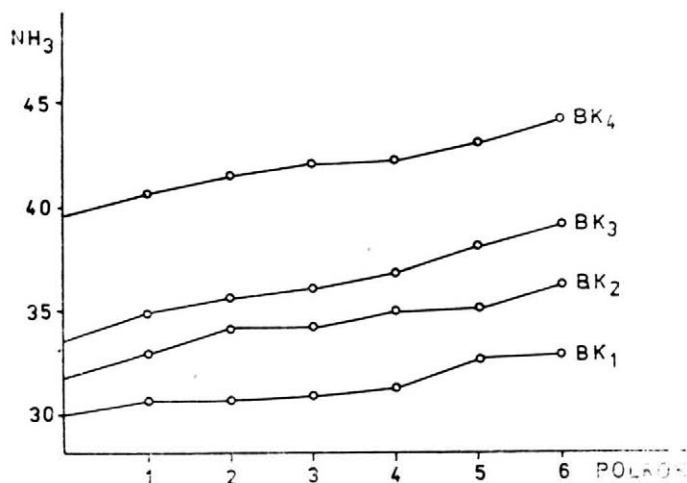
VÝSLEDKY A DISKUSIA

Sledovaním dynamiky amoniaku a senzorického hodnotenia konzerv pri skladovaní v priebehu troch rokov sme získali tieto výsledky:

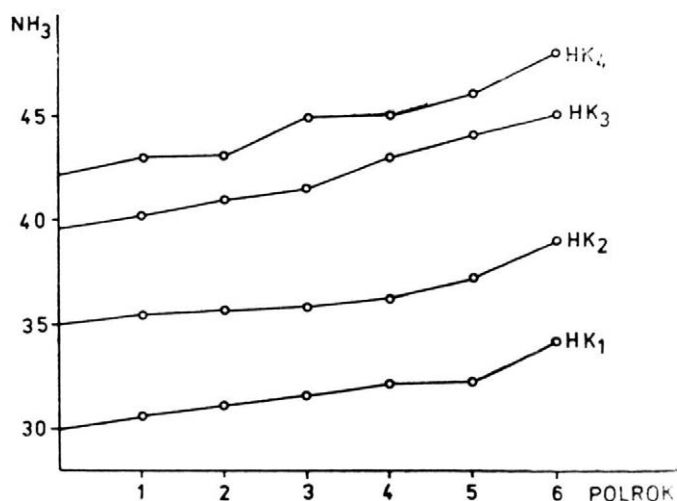
Pri bravčových konzervách (BK₁) hodnoty amoniaku v priebehu troch rokov vykazovali kvantitatívne veľmi mierny vzostup z počiatočného priemeru 30,1 na terminálnu hodnotu 32,9 mg v 100 g vzorky (tab. I). Senzorické hodnotenie uvedeného druhu konzervy vo všetkých intervaloch vyšetrenia kvalitatívne zodpovedalo skupine A. Obsah amoniaku a výsledky senzorického hodnotenia charakterizujú konzervy vyrobené zo suroviny v prvej smene prvého dňa. U toho istého výrobku, ktorý bol produktom druhej pracovnej smeny v prvom dni (BK₂), boli hodnoty amoniaku v priebehu sledovaného obdobia limitované okrajovými priemermi 31,9 a 36,2 mg v 100 g (pri senzorickom hodnotení) všetkých odberov v skupine A (tab. I).

Bravčové konzervy vyrobené v prvej smene druhého dňa (BK₃) v rámci sledovaného trojročného obdobia prezentovala mierne stúpajúca kvantitatívna dynamická krivka amoniaku, limitovaná v počiatočnej fáze pokusu hodnotou 33,7 a vo finálnej projekcii hodnotou 39,0 mg v 100 g vzorky. V rámci senzorického hodnotenia týchto konzerv počas dlhodobého skladovania a v súlade s kritériami sme ich zaradili do skupiny A (tab. I).

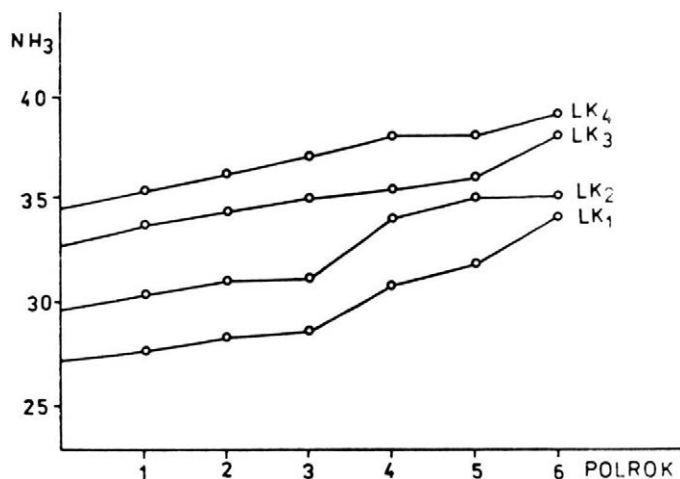
Množstvo amoniaku poslednej skupiny bravčových konzerv, vyrobenej v druhej pracovnej smene druhého dňa (BK₄), vychádzalo z počiatočného priemeru 39,6 mg v 100 g, pričom krivka tohoto ukazovateľa v priebehu troch rokov mierne stúpala k finálnemu limitujúcemu priemeru



1. Dynamika amoniaku (mg v 100 g) v bravčovej konzerve (BK₁₋₄) v priebehu dlhodobého skladovania — The changes in ammonia content (mg per 100 g) in canned pork (BK₁₋₄) in the course of long-term storage



2. Dynamika amoniaku (mg v 100 g) v hovädzej konzerve (HK₁₋₄) v priebehu dlhodobého skladovania — The changes in ammonia content (mg per 100 g) in canned beef (HK₁₋₄) in the course of long-term storage



3. Dynamika amoniaku (mg v 100 g) v luncheon meatu (LK₁₋₄) v priebehu dlhodobého skladovania — The changes in ammonia content (mg per 100 g) in canned luncheon meat (LK₁₋₄) in the course of long-term storage

I. Dynamika vybraných ukazovateľov u bravčových konzerv (BK₁₋₄) v priebehu dlhodobého skladovania — The changes in selected parameters of canned pork (BK₁₋₄) in the course of long-term storage

Druh	Ukazovateľ	Začiatok	Prvý rok		Druhý rok		Tretí rok	
			prvý polrok	druhý polrok	prvý polrok	druhý polrok	prvý polrok	druhý polrok
BK ₁	$\bar{x}$	30,10	30,70	30,70	30,90	31,40	32,70	32,90
	s	1,92	2,42	2,47	1,98	2,55	2,57	2,37
	s_r	6,36	7,89	8,02	6,41	8,11	7,88	7,21
	L_1	28,61	28,77	28,75	29,28	29,45	30,63	31,03
	L_2	31,65	32,61	32,67	32,42	33,39	34,71	34,79
	senzorické posúdenie	A	A	A	A	A	A	A
BK ₂	$\bar{x}$	31,90	32,80	34,10	33,70	34,80	34,70	36,20
	s	2,21	2,44	2,37	2,14	2,35	2,12	2,59
	s_r	6,93	7,45	6,96	6,36	6,76	6,11	7,17
	L_1	30,12	30,82	32,18	31,97	32,89	33,02	34,18
	L_2	33,64	34,70	35,94	35,37	36,63	36,40	38,30
	senzorické posúdenie	A	A	A	A	A	A	A
BK ₃	$\bar{x}$	33,70	34,80	35,50	35,90	36,70	38,00	39,00
	s	2,02	2,32	2,25	1,59	2,16	2,17	2,20
	s_r	5,99	6,68	6,35	4,43	5,89	5,71	5,62
	L_1	32,08	33,91	33,68	34,60	34,95	36,31	37,33
	L_2	35,28	36,99	37,26	37,12	38,37	39,77	40,81
	senzorické posúdenie	A	A	A	A	A	A	A
BK ₄	$\bar{x}$	39,60	40,70	41,30	42,00	42,10	43,00	44,10
	s	2,72	2,38	2,22	1,85	1,85	1,97	2,07
	s_r	6,86	5,87	5,37	4,42	4,40	4,57	4,70
	L_1	37,47	38,76	39,53	40,49	40,64	41,47	42,46
	L_2	41,73	42,54	43,05	43,43	43,58	44,59	45,74
	senzorické posúdenie	B	B	B	B	B	B	B

44,1 mg v 100 g. Pri senzorickom hodnotení všetky posúdenia týchto konzerv v rámci trojročného sledovania zodpovedali požiadavkám pre kvalitatívnu skupinu B (tab. I). Dynamika amoniaku v bravčových konzervách BK₁ je graficky zobrazená na obr. 1.

Ďalšiu skupinu pokusného materiálu v dlhodobom skladovaní predstavovali hovädzie konzervy, pri ktorých prvá skupina, vyrobená v rámci prvej smeny prvého dňa (HK₁), bola v priebehu troch rokov prezentovaná priemernými hodnotami amoniaku 30,1 až 34,1 mg v 100 g. Pri

II. Dynamika vybraných ukazovateľov u hovädzích konzerv (HK₁₋₄) v priebehu dlhodobého skladovania — The changes in selected parameters of canned beef (HK₁₋₄) in the course of long-term storage

Druh	Ukazovateľ	Začiatok	Prvý rok		Druhý rok		Tretí rok	
			prvý polrok	druhý polrok	prvý polrok	druhý polrok	prvý polrok	druhý polrok
HK ₁	$\bar{x}$	30,10	30,60	31,20	31,60	32,30	32,30	34,10
	<i>s</i>	1,19	1,26	1,62	1,52	1,33	1,30	1,50
	<i>s_r</i>	3,96	4,12	5,19	4,80	4,12	4,04	4,39
	<i>L</i> ₁	29,19	29,55	29,93	30,42	31,22	31,26	32,96
	<i>L</i> ₂	31,09	31,55	32,51	32,82	33,32	33,34	35,34
	senzorické posúdenie	A	A	A	A	A	A	A
HK ₂	$\bar{x}$	35,00	35,70	35,80	35,90	36,40	37,20	38,70
	<i>s</i>	1,94	1,82	1,55	2,10	1,74	1,80	1,42
	<i>s_r</i>	5,54	5,12	4,32	5,85	4,79	4,84	3,67
	<i>L</i> ₁	33,64	34,21	34,61	34,25	34,99	35,77	37,59
	<i>L</i> ₂	36,53	37,11	37,07	37,59	37,75	38,63	39,85
	senzorické posúdenie	A	A	A	A	A	A	A
HK ₃	$\bar{x}$	39,70	40,40	41,00	41,50	43,00	44,00	44,90
	<i>s</i>	1,08	1,14	1,32	1,18	1,55	1,44	1,85
	<i>s_r</i>	2,73	2,83	3,24	2,84	3,59	3,29	4,11
	<i>L</i> ₁	38,86	39,49	39,65	40,58	41,78	42,76	43,40
	<i>L</i> ₂	40,58	41,29	41,75	42,44	44,24	45,06	46,34
	senzorické posúdenie	A	A	A	A	A	A	A
HK ₄	$\bar{x}$	42,80	43,00	43,10	45,00	45,00	46,20	48,00
	<i>s</i>	1,46	1,22	0,92	1,45	1,80	1,57	1,91
	<i>s_r</i>	3,42	2,86	2,14	3,25	4,02	3,41	3,98
	<i>L</i> ₁	41,65	41,85	42,46	43,56	43,28	44,95	46,46
	<i>L</i> ₂	43,97	43,79	43,92	45,87	46,16	47,45	48,37
	senzorické posúdenie	B	B	B	B	B	B	B

totálnom senzorickom hodnotení bola zaradená v kvalitatívnej skupine A (tab. II).

Ďalšia skupina konzerv (HK₂), pokiaľ ide o množstvo amoniaku, vychádzala z počiatočnej priemernej hodnoty 35,0 mg v 100 g vzorky a postupne stúpala k finálnemu priemeru 38,7 mg v 100 g, pričom podľa senzorického hodnotenia boli tieto konzervy zaradené v skupine A (tab. II).

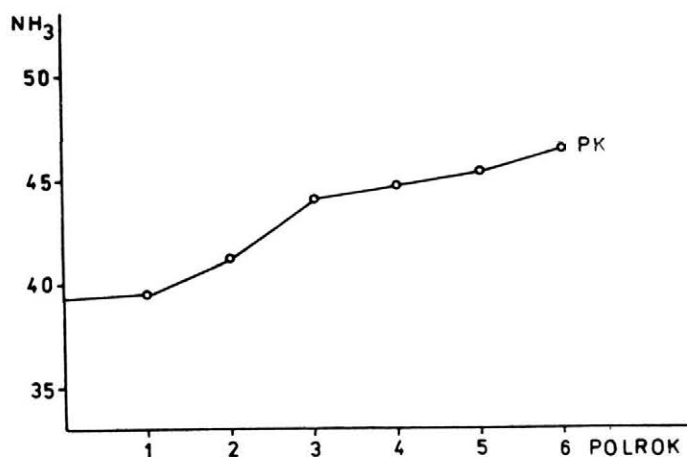
Hovädzie konzervy vyrobené v prvej smene druhého dňa (HK₃) mali priemernú kvantitatívnu projekciu amoniaku v trojročnom období limi-

III. Dynamika vybraných ukazovateľov u luncheon meatu (LK₁₋₄) v priebehu dlhodobého skladovania — The changes in selected parameters of canned luncheon-meat (LK₁₋₄) in the course of long-term storage

Druh	Ukazovateľ	Začiatok	Prvý rok		Druhý rok		Tretí rok	
			prvý polrok	druhý polrok	prvý polrok	druhý polrok	prvý polrok	druhý polrok
LK ₁	$\bar{x}$	27,20	27,60	28,30	28,60	30,90	31,90	34,20
	<i>s</i>	0,81	0,67	0,69	0,91	0,81	1,14	1,53
	<i>s_r</i>	2,97	2,44	3,14	3,19	2,63	3,56	4,47
	<i>L</i> ₁	26,59	27,07	27,57	27,89	30,28	31,04	32,97
	<i>L</i> ₂	27,87	28,13	28,97	29,35	31,58	32,84	35,39
	senzorické posúdenie	A	A	A	A	A	A	A
LK ₂	$\bar{x}$	29,70	30,40	31,00	31,20	34,00	35,00	35,10
	<i>s</i>	1,04	0,72	0,67	0,90	1,01	0,68	1,08
	<i>s_r</i>	3,51	2,54	2,16	2,88	3,04	1,95	3,06
	<i>L</i> ₁	28,84	29,80	30,31	30,53	32,34	34,18	36,41
	<i>L</i> ₂	30,49	31,03	31,37	31,97	34,18	35,26	38,15
	senzorické posúdenie	A	A	A	A	A	A	A
LK ₃	$\bar{x}$	32,80	33,60	34,30	35,00	35,30	36,00	38,10
	<i>s</i>	1,27	0,84	0,58	0,67	0,93	0,69	1,13
	<i>s_r</i>	3,87	2,66	1,58	1,95	2,64	1,93	2,96
	<i>L</i> ₁	31,80	32,87	33,86	34,01	34,61	35,27	37,23
	<i>L</i> ₂	33,82	34,29	34,78	35,08	36,08	36,37	39,03
	senzorické posúdenie	A	A	A	A	A	B	B
LK ₄	$\bar{x}$	34,70	35,30	36,10	37,00	38,00	38,00	38,70
	<i>s</i>	0,98	0,57	0,70	0,62	0,64	0,67	1,44
	<i>s_r</i>	2,80	1,63	1,90	1,68	1,70	1,77	3,72
	<i>L</i> ₁	33,91	34,79	35,50	36,38	37,28	37,40	37,52
	<i>L</i> ₂	35,45	35,71	36,88	37,36	38,30	38,46	39,82
	senzorické posúdenie	B	B	B	B	B	B	B

tovanú okrajovými priemermi 39,7 až 44,9 mg v 100 g s mierne vzostupnou krivkou. Pri senzorickom hodnotení týchto vzoriek sme ich zaradili do skupiny A [tab. II].

Posledná skupina hovädzích konzerv (HK₄) mala pri počiatkovej analýze priemerné množstvo amoniaku 42,8 mg v 100 g, pričom tento ukazovateľ v priebehu sledovaného trojročného obdobia kvantitatívne narastal až na konečný priemer 48,0 v 100 g. Výsledky senzorického hodnotenia konzerv v tejto skupine boli v súlade s kritériami skupiny B [tab. II].



4. Dynamika amoniaku (mg v 100 g) v pečenevej paštéte (PK) v priebehu dlhodobého skladovania — The changes in ammonia content (mg per 100 g) in liver pâté (PK) in the course of long-term storage

Grafické znázornenie dynamiky amoniaku u jednotlivých skupín (HK₁₋₄) mäsových konzerv hovädzieho na slanine je zobrazené na obr. 2.

Ďalším výrobkom, ktorý sme sledovali z aspektu dlhodobého skladovania, bol Luncheon meat. Jeho prvá skupina (LK₁), vyrobená v rámci našich sledovaní, bola charakterizovaná v počiatočnej fáze 27,2 mg amoniaku v 100 g vzorky, pričom hodnoty tohto ukazovateľa v priebehu troch rokov postupne stúpali a posledný odber bol prezentovaný priemernou hodnotou amoniaku 34,2 mg v 100 g vzorky. Sensorické hodnotenie tejto skupiny bolo v celom komplexe jednoznačne v súlade s kritériami pre skupinu A (tab. III).

Luncheon meat vyrobený v druhej smene prvého dňa (LK₂) charakterizovalo v počiatku sledovania v priemere 29,7 mg amoniaku v 100 g vzorky, pričom v ďalšom období sledovania sme evidovali vzostup, ukončený v rámci vyšetrení posledného odberu priemernou hodnotou 35,1 mg v 100 g. Výsledky sensorického hodnotenia zaradili celý vyšetrovaný komplex do skupiny A (tab. III).

Luncheon meat vyrobený v prvej smene druhého dňa (LK₃) a sledovaný v polročných intervaloch v priebehu troch rokov vykazoval pri počiatočnej analýze 32,8 mg amoniaku v 100 g vzorky, pričom uvedený ukazovateľ kvantitatívne stúpol ku konečnému priemeru 38,1 mg v 100 g. Pri sensorickom hodnotení sme prvých päť odberov zaradili do akostnej skupiny A, posledné dva odbery vyhovovali požiadavkám pre skupinu B (tab. III).

Posledná skupina konzerv z hodnoteného druhu výrobku (LK₄) vykazovala pri počiatočnej analýze 34,7 mg amoniaku v 100 g vzorky. Toto množstvo potom v priebehu troch rokov skoro lineárne, kontinuálne stúpalo a v záverečnej fáze bolo prezentované priemerom 38,7 mg v 100 g. Sensorické hodnotenie konzerv tejto skupiny v celom rozsahu spadalo do kvalitatívnej škály skupiny B (tab. III).

Dynamika amoniaku v mäsových konzervách Luncheon meat (LK₁₋₄) je graficky znázornená na obr. 3.

Pri pečenevej konzerve sme hodnoty amoniaku v jednotlivých dielčích surovinách nestanovovali. Za východiskové sme brali hodnoty amoniaku v pečenevej konzerve na konci technologického procesu výroby, pred začiatkom dlhodobého skladovania.

Pri uvádzanom výrobku sme zaznamenali v priebehu trojročného sledovania v rámci polročných vyšetrení nárast obsahu amoniaku z po-

IV. Dynamika vybraných ukazovateľov u pečeňovej paštéty (PK) v priebehu dlhodobého skladovania — The changes in selected parameters of canned liver pâté in the course of long-term storage

Druh	Ukazovateľ	Začiatok	Prvý rok		Druhý rok		Tretí rok	
			prvý polrok	druhý polrok	prvý polrok	druhý polrok	prvý polrok	druhý polrok
PK	$\bar{x}$	39,20	39,70	41,00	44,00	44,70	45,30	46,40
	s	0,92	0,68	0,50	0,50	0,70	0,66	0,76
	s_r	2,34	1,72	1,21	1,15	1,67	1,46	1,63
	L_1	38,50	39,11	40,62	43,64	44,14	44,75	45,75
	L_2	39,96	40,19	41,40	44,44	45,26	46,09	46,95
	senzorické posúdenie	A	A	A	A	A	A	A

čiatocného priemeru 39,2 ku konečnej priemernej hodnote 46,4 mg v 100 g vzorky. Tento nárast bol výraznejší najmä medzi prvým až tretím polrokom dlhodobého skladovania. Pri senzorickom posúdení sme uvedený výrobok v rámci všetkých posúdení zaradili do kvalitatívnej skupiny A (tab. IV).

Grafické znázornenie dynamiky hodnôt amoniaku v pečeňovej konzerve je uvedené na obr. 4.

Z výsledkov získaných v priebehu sledovania dynamiky hodnôt amoniaku u mäsových konzerv počas dlhodobého, trojročného skladovania vyplýva, že v sledovanom období došlo k miernemu vzostupu tohto ukazovateľa vo všetkých druhoch konzerv. Túto skutočnosť zaznamenal aj B l a n k a (1968), ktorý zistil u konzerv skladovaných desať rokov pri teplote okolo 20 °C až trojnásobné zvýšenie množstva amoniaku. Naproti tomu I n g r a L á t (1972) nezaznamenali u pečeňových paštét skladovaných pri teplote 8 °C po dobu piatich rokov žiaden vzostup hodnôt amoniaku. Pri vylúčení vplyvu mikroorganizmov na tvorbu amoniaku vzhľadom na negatívne mikrobiologické nálezy sa domnievame, že vzostup jeho množstva bol spôsobený chemickými reakciami počas skladovania a bol ovplyvnený pomerne vysokou skladovacou teplotou — v priemere 21 °C.

Na základe našich pozorovaní je evidentné, že senzorické hodnotenie finálneho výrobku až po terminálnu fázu vyšetrenia (tretí rok skladovania) vykazovalo kvalitatívne zatriedenie u prevažnej väčšiny mäsových konzerv do skupiny A. Výnimku tvorí konzerva Luncheon meat vyrobená v prvej smene druhého dňa (LK₃). Senzorické vyšetrenie v treťom roku skladovania určuje tieto konzervy pre zaradenie do skupiny B. Táto skutočnosť by mohla byť dôsledkom použitia širokej škály ingrediencií pri výrobe, ktoré sa z dlhodobého pohľadu vyznačujú rozličnou stabilitou, avšak ani toto kvalitatívne senzorické zatriedenie nerobí výrobok obmedzeným pre bežný konzum. U posledných štyroch skupín mäsových konzerv, a to bravčovej, hovädzej a luncheon meat (BK₄, HK₄ a LK₄), boli pri senzorickom posúdení všetky zaradené do skupiny B.

Na základe našich experimentálnych výsledkov sme dospeli k záveru, že dlhodobým skladovaním uvedených mäsových konzerv za defi-

novaných podmienok dochádza k miernemu postupnému nárastu obsahu amoniaku bez podstatnejších zmien v senzorických vlastnostiach finálnych výrobkov, ktoré by nepriaznivo ovplyvnili ich využitie pre konzumáciu.

Literatúra

- BLANKA, R.: Provéřování sterilizačních režimů a sledování jakosti plechových obalů. [Výzkumná zpráva.] Brno, Výzkumný ústav masného průmyslu 1968.
- ECKSCHLAGER, K. — HORSÁK, Z. — KODEJŠ, Z.: Vyhodnocování analytických výsledků a metod. Praha, SNTL 1980. 223 s.
- INGR, I. — LÁT, J.: Obsah amoniaku v jätrových paštikách po jejich pětiletém skladování. Prům. Potravn., 23, 1972, č. 4, s. 110-111.
- LÁT, J.: Skladování masových konserv. Prům. Potravn., 17, 1966, č. 7, s. 349-354.
- PRÍBELA, A.: Analýza prírodných látok v poživatinách. I. vyd. Bratislava, ALFA 1978.

Došlo dňa 10. 11. 1986

ШМИРЬЯК, М. — ГРУШОВСКИ, Й. — ГАРЧАР, Я. (Военный ветеринарный научно-исследовательский институт усовершенствования врачей, Кошице): **Динамика аммиака в процессе длительного складирования мясных консерв.** Veter. Med. (Praha), 33, 1988 (2) : 109-118.

У четырех видов мясных консерв, Свинина в собственном соку, Говядина на свином сале, Ланчен-мит и Печеночный паштет, которые были подвергнуты долговременному складированию в течение 36 месяцев в постоянных условиях (средняя температура 21 °C, средняя относительная влажность 73 %), наблюдалась динамика аммиака в корреляции с органолептическими изменениями. Из каждого вида приведенных мясных консерв на пищевом предприятии были созданы четыре группы конечных продуктов, у которых наблюдался различный уровень аммиака в зависимости от свежести обработанного сырья. Изготовленные мясные консервы после стерилизации и охлаждения, т.е. после окончания технологического процесса производства, были сенсорически оценены и у них установилось количество аммиака. Полученные значения были использованы как исходные для начала долговременного складирования. В течение долговременного складирования в регулярных, полугодовых интервалах наблюдалась динамика избранных показателей. На основании наших экспериментальных результатов было сделано заключение, что при долговременном складировании приведенных видов мясных консерв наступает умеренное, постепенное нарастание содержания аммиака без существенных изменений в органолептических свойствах, которые бы неблагоприятно повлияли на их использование потребителем.

органолептические изменения; конечные продукты; обрабатываемое сырье

ŠMIRJÁK, M. — HRUŠOVSKÝ, J. — GARČAR, J. (Military Veterinary Extension and Research Institute, Košice): *The Pattern of Ammonia Content during Long-Term Storage of Canned Meat.* Veter. Med. (Praha), 33, 1988 (2) : 109-118.

Ammonia content in relation with sensory changes was studied in four kinds of meat cans (Pork in Natural Juice, Beef with Bacon, Luncheon Meat, and Liver Pâté), stored for 36 months under constant conditions (average temperature 21 °C, average relative humidity 73 %). Four groups of final products were prepared from each kind of these cans; the final products differed from one another in the ammonia contents, depending on the freshness of the food. After sterilization and cooling, i. e. after the termination of the technological process of production, the produced meat cans were subjected to sensory evaluation and their ammonia contents were determined. These values were used as initial data for the start of long-term storage. In the course of long-term storage the selected parameters were measured in regular intervals. It was concluded from the experimental results that the content of ammonia slightly increased with the time of storage of the tested kinds of meat cans without any significant influence on their sensory characteristics that would affect their use for human consumption.

sensory changes; final products; processed raw materials

Adresa autorov:

MVDr. Miroslav Šmirják, CSc., prof. MVDr. Jozef Hrušovský, DrSc., ing. Jaroslav Garčár, Vojenský veterinárny doškoľovací a výskumný ústav, PS-B-35, 041 15 Košice

VZTAHY MEZI VÝSKYTEM PROTILÁTEK PROTI *TOXOPLASMA GONDII* A KLINICKÝMI NÁLEZY VYŠETŘENÝCH KOČEK

M. Svoboda, V. Svobodová, J. Konrád

SVOBODA, M. — SVOBODOVÁ, V. — KONRÁD, J. (Vysoká škola veterinární, Brno): *Vztahy mezi výskytem protilátek proti Toxoplasma gondii a klinickými nálezy vyšetřených koček*. Veter. Med. (Praha), 33, 1988 (2) : 119-126.

V průběhu tří let jsme na přítomnost protilátek proti *Toxoplasma gondii* vyšetřili 178 koček klinicky zdravých a 442 nemocných — pacientů kliniky chorob malých zvířat Vysoké školy veterinární v Brně. Protilátky proti *T. gondii* mělo 34,8 % zvířat bez klinických příznaků onemocnění a 54,3 % koček nemocných ($P < 0,01$). Ve srovnání se skupinou koček klinicky zdravých se specifické protilátky vyskytovaly signifikantně častěji u koček s nemocemi trávicí soustavy ($P < 0,01$), zejména při akutních gastroenteritidách, dále u těch koček, které měly postižená játra ($P < 0,01$; $P < 0,05$). Statisticky významně vyšší výskyt protilátek proti *T. gondii* jsme dále nacházeli u koček s postižením nervové soustavy ($P < 0,05$; $P < 0,01$), zejména u zvířat s příznaky mimořádné agresivity ve věku čtyři měsíce až tři roky. Zvětšené mizní uzliny mělo 44 % koček s protilátkami proti *T. gondii*. Ve srovnání s průměrem vyšetřovaného souboru je to o 15 % více a jedná se o závislost statisticky významnou ($P < 0,01$).

toxoplazmóza; klinické příznaky; reakce mizních uzlin

Klinické příznaky toxoplazmózy kočky nejsou specifické a často se skrývají za jinými nosologickými jednotkami nebo orgánovým postižením. Smyslem naší práce bylo vyhledat a posoudit případné závislosti mezi výskytem protilátek proti *Toxoplasma gondii* (*T. gondii*) a klinickými nálezy vyšetřených koček. Chtěli bychom tak přispět ke zpřesnění diagnostiky této závažné nemoci.

První případ klinické toxoplazmózy koček popsali v roce 1942 Olafson a Monlux. Rašín (1973) infikoval čtrnácti cystogenními kmeny *T. gondii* 40 koťat ve věku pět až dvanáct týdnů. V období parazitémie pozoroval nechutenství a přechodné průjmy. Kühn aj. (1974) zjistili u koček experimentálně infikovaných oocystami *T. gondii* pouze zvýšenou teplotu. Tóš — Lutyová (1980) vyvolala akutní toxoplazmózu koček perorálním podáním masa, které obsahovalo tkáňové cysty *T. gondii*. Intraperitoneální aplikací trofozoitů vyvolala infekci chronickou. Nápadné bylo postižení dýchacích orgánů a parazité byli nalezeni v plicích. Parker aj. (1981) infikovali kočky zoity intravenózně. Druhý až čtvrtý den po inokulaci pozorovali horečku a letargii. K exitu docházelo šestý až sedmý den. Hynuly zejména ty kočky, u nichž byly postiženy plíce.

MATERIÁL A METODY

V letech 1981 až 1984 jsme na přítomnost protilátek proti *T. gondii* vyšetřili na klinice chorob malých zvířat VŠV v Brně 442 nemocných a 178 klinicky zdravých koček. Sledovali jsme kočky všech věkových kategorií, různých plemen a obou pohlaví tak, aby byl zachycen průběžný klinický materiál. Vlastní klinické vyšetření jsme zaměřili na zjištění přítomnosti stavu (*status praesens*) a na stanovení diagnózy. Sledovali jsme temperament, výživný stav, trias, přístupné mizní uzliny, stav srsti, kůže, viditelných sliznic a oka a vyšetřovali jsme jednotlivé orgánové systémy. Ke stanovení diagnózy jsme využili i dalších doplňkových vyšetření a u zvířat, která uhynula, byla provedena kompletní pitva.

Metodiky odběru krve, preparace vzorků a vlastních sérologických vyšetření popisuje S v o b o d a (1988) a celkové výsledky sérologické depistáže jsou předmětem jiného sdělení.

Veškeré dostupné údaje o vyšetřených kočkách byly pomocí děroštitkového kódu nebo písemně zaznamenány do analyzačních karet a nejdůležitější vztahy byly statisticky vyhodnoceny χ^2 testem a testem rozdílu dvou relativních hodnot (Reisenauer, 1970).

VÝSLEDKY

Skupina klinicky zdravých koček zahrnovala 178 zvířat, z nich ve věku do jednoho roku bylo 54 %. Kočky byly klinicky bez příznaků, pouze

I. Přehled skupinových diagnóz nemocných koček — A survey of the group diagnoses in sick cats

Skupina onemocnění	Počet dg.	Nemocné kočky	
		počet	procento
Nemoci kůže a kožních derivátů	4	8	1,81
Nemoci oběhové soustavy, krve a krevetvorných orgánů	5	12	2,72
Nemoci dýchací soustavy	12	25	5,66
Nemoci trávicí soustavy	17	61	13,80
Postižení jater, pankreatu a peritonea	9	22	4,98
Nemoci močové soustavy	10	15	3,39
Nemoci pohlavních orgánů a poruchy reprodukce	7	10	2,26
Nemoci pohybového aparátu	3	3	0,68
Nemoci nervové soustavy a oka	10	19	4,30
Nemoci žláz s vnitřní sekrecí, poruchy ve výživě a nemoci přeměny látkové	2	2	0,45
Endoparazitózy	5	123	27,83
Scabies	2	50	11,31
Intoxikace	3	8	1,81
Novotvary	11	18	4,07
Infekční onemocnění (bez toxoplazmózy)	7	36	8,15
Toxoplazmóza	1	28	6,33
Nedostatečně charakterizované stavy a nemoci ostatní	1	2	0,45
Celkem	109	442	100,00

II. Výskyt protilátek proti *Toxoplasma gondii* ve vztahu ke klinickým nálezům — The occurrence of antibodies to *Toxoplasma gondii* in relation to the clinical findings

Skupinové členění nemocí	Počet koček	Pozitivní sérologická reakce — %				Hladina významnosti	
		SFR	KFR	MPA	celkem	SFR	celkem
Kočky klinicky zdravé	178	26,40	13,48	5,06	34,83	norma	
Nemoci kůže a kožních derivátů	8	25,00	12,50	12,50	37,50	N	N
Nemoci oběhové soustavy, krve a krevetvorných orgánů	12	50,00	8,33	41,67	50,00	N	N
Nemoci dýchací soustavy	25	24,00	28,00	—	36,00	SN	SN
Nemoci trávicí soustavy	61	45,90	27,87	21,31	60,66	0,01	0,01
Nemoci jater, slinivky břišní a peritonea	22	54,54	22,73	9,09	59,09	0,01	0,05
Nemoci močové soustavy	15	66,67	40,00	20,00	80,00	N	N
Nemoci pohlavních orgánů a poruchy reprodukce	10	60,00	30,00	30,00	60,00	N	N
Nemoci pohybového aparátu	3	66,67	33,33	—	66,67	N	N
Nemoci nervové soustavy a oka	19	52,63	47,37	47,37	73,68	0,05	0,01
Nemoci žláz s vnitřní sekrecí, poruchy ve výživě a nemoci přeměny látkové	2	50,00	50,00	50,00	100,00	N	N
Endoparazitózy	123	36,58	16,26	15,45	43,90	SN	SN
Scabies	50	44,00	26,00	14,00	50,00	0,05	SN
Intoxikace	8	37,50	25,00	—	37,50	N	N
Novotvary	18	44,44	22,22	22,22	50,00	SN	SN
Nedostatečně charakterizované stavy a nemoci ostatní	2	100,00	50,00	50,00	100,00	N	N
Nemoci infekční (bez toxoplazmózy)	36	33,33	19,44	13,89	41,67	SN	SN
Toxoplazmóza	28	100,00	78,57	85,71	100,00	0,01	0,01
Celkem	620	40,32	23,23	17,10	48,71	0,01	0,01

SN — statisticky nevýznamné

N — netestováno

u 10 % zvířat byly lehce zduřelé jednotlivé mízní uzliny. Protilátky proti *T. gondii* byly Sabin-Feldmanovou reakcí (SFR) zjištěny u 26,40 %, komplementfixační reakcí (KFR) v 13,48 % a mikroprecipitací v agarovém gelu u 5,06 % koček. Minimálně jednou séroreakcí byly specifické protilátky prokázány 62 X (34,83 %). Vesměs se jednalo o základní titry protilátek. Tato skupina sloužila jako kontrola pro srovnání se sérologickými nálezy koček nemocných.

Skupina nemocných koček zahrnovala 442 zvířat se 109 různými diagnózami. Podle druhu onemocnění a převládajícího postižení byly kočky rozčleněny do 16 podskupin (tab. I). V tab. II jsou shrnuty sérologické nálezy nemocných koček podle skupinových diagnóz a statisticky vyhodnocené srovnání se sérologickými nálezy zvířat klinicky zdravých k výsledkům SFR (předposlední sloupec tab. II) a s nálezy celkovými (poslední sloupec tab. II).

Nemoci trávicí soustavy jsme diagnostikovali 61 X. Téměř 79 % koček ve skupině bylo ve věku do tří let. Nejčastěji byla zjišťována akutní, často recidivující enteritida (22 zvířat), následovala *enteritis et colitis chronica* (13 zvířat). Protilátky proti *T. gondii* se u této skupiny vyskytovaly signifikantně častěji ($P < 0,01$) než u skupiny kontrolní. Vyšší procento sérologicky pozitivních zvířat bylo také zjištěno všemi séroreakcemi současně.

Nemoci jater, pankreatu a peritonea byly zjištěny u 22 koček všech věkových kategorií. Nemoci jater byly diagnostikovány 16 X, v jednom případě byl určen akutní zánět slinivky břišní a ve zbývajících pěti případech se jednalo o nemoci peritonea, obvykle v kombinaci s ostatními orgánovým postižením. V této skupině bylo signifikantně vyšší procento jedinců se specifickými protilátkami zjišťovanými minimálně jednou séroreakcí ($P < 0,05$), ale také SFR ($P < 0,01$). Protilátky proti *T. gondii* jsme kromě jednoho případu nacházeli vždy u koček s postižením jater.

Nemoci nervové soustavy a oka byly pozorovány u 19 koček všech věkových kategorií. Devět koček bylo z důvodu mimořádné agresivity (opakovaně poranily člověka) utraceno a vyšetřeno na vzteklinu — vždy s negativním výsledkem. Nemoci očí se vyskytly pětkrát. Sérologické nálezy jsou uvedeny v tab. II. Nejvyšší titry protilátek jsme nacházeli u koček ve věku od čtyř měsíců do tří let.

Endoparazitózy byly nejčastější příčinou onemocnění koček. Celkem pět skupin vnitřních parazitů bylo diagnostikováno u 123 koček. Nejčastějšími diagnózami byly: askarióza (70 koček), kokcidióza (29 koček) a taeniáza (21 kočka). Ve srovnání se skupinou kontrolní nebyly sérologické nálezy statisticky významně vyšší. Specifické protilátky zjišťované všemi séroreakcemi byly prokázány u pěti koček ve věku od dvou do deseti let, u nichž byla jako hlavní onemocnění diagnostikována toxokaróza.

Scabies byl prokázán u 50 koček. Ve 32 případech se jednalo o kožní formu (původcem *Notoedres cati*); ušní formou svrabu (původcem *Otodectes cynotis* var. *cati*) trpělo 18 koček. SFR byly zjištěny protilátky proti *T. gondii* u 44 % koček této skupiny, což je signifikantně více než u koček klinicky zdravých. Jak je zřejmé z tab. II, nebyly u ostatních orgánových postižení zjištěny statisticky významné závislosti mezi výskytem specifických protilátek a skupinovými diagnózami,

popřípadě se jednalo o malé počty zvířat ve skupině, které nebylo možné statisticky vyhodnotit.

I n f e k č n í n e m o c i (kromě toxoplazmózy) se vyskytly celkem u 36 koček, jejichž věk nepřesáhl pět let. Celkem bylo zachyceno sedm infekcí: infekční rhinotracheitida (20 koček), infekční panleukopenie a susp. infekční peritonitida (5 koček), susp. leptospiróza (dvakrát), morbus Aujeszky (jedenkrát) a u tří koček byly diagnostikovány bakteriální sepse. Počet koček se specifickými protilátkami byl u zvířat této skupiny sice vyšší než ve skupině kontrolní, ale nejednalo se o rozdíly statisticky významné. Skupinou 28 koček, u kterých byla diagnostikována toxoplazmóza, se zabývá samostatná práce (S v o b o d a aj., 1986).

Sérologické nálezy 178 klinicky zdravých koček jsme srovnali se sérologickými nálezy 442 koček nemocných. Jak je vidět z tab. III, je procento zvířat s protilátkami proti *T. gondii* u skupiny koček nemocných signifikantně vyšší než u zdravých. Toto vyšší procento specifických protilátek u nemocných zvířat prokázaly shodně všechny použité séroreakce ($P < 0,01$). Z celkového počtu 620 vyšetřených koček mělo zvětšené mízní uzliny 29 % zvířat. Kočky s protilátkami proti *T. gondii* prokázanými minimálně dvěma séroreakcemi měly zvětšené mízní uzliny ve 44 %. Statistické vyhodnocení těchto údajů prokázalo, že kočky s protilátkami měly signifikantně častěji ($P < 0,01$) zvětšené mízní uzliny, než byl průměr sledovaného souboru.

DISKUSE

Minimálně jednou séroreakcí mělo specifické protilátky prokazatelné 35 % koček. Znamená to, že více než jedna třetina koček bez klinických příznaků onemocnění přišla do styku s *T. gondii*. Více než 80 % zvířat této skupiny však mělo pouze základní titry protilátek, které zůstávaly při opakovaných vyšetřeních stejné. Uvedené výsledky jsou v souladu s poznatky autorů W a r d aj. (1971), kteří uvádějí, že asymptomatický průběh onemocnění je poměrně častý.

Nemoci trávicí soustavy byly diagnostikovány často a podobně jako při onemocněních dýchacích orgánů převažovala zvířata mladá, takže nelze hovořit o zvyšující se protilátkové prevalenci v souvislosti s věkem zvířat. Protilátky proti *T. gondii* jsme zjišťovali u těch zvířat, u nichž po krátké anorexii a případném zvracení následovaly krátkodobé průjmy s možnou recidivou až přechodem do chronicity. Akutní postižení předního úseku střeva doprovázela jeden až dva dny trvající horečka. Námi zjištěné nálezy jsou v souladu s údaji většiny autorů (P e t r a k a C a r p e n t e r, 1965; K ü h n aj., 1972; R a š í n, 1973). Z epizootologického hlediska je závažné zjištění, které uveřejnil F a y e r (1981). Tento autor uvedl, že kočky s recidivující enteritidou vylučovaly oocysty *T. gondii* opakovaně a ve větším množství. V klinické praxi je proto třeba diferenciatně diagnosticky počítat s toxoplazmózou zejména u těch mladých jedinců, u nichž po krátké anorexii dochází k několik dnů trvající enteritidě s možnou recidivou. Tyto etiologicky nejasné případy obvykle považujeme za onemocnění způsobené dietní chybou. Ve skupině koček s postižením dechových orgánů nebyla na rozdíl od ostatních autorů (T ó s — L u t y o v á, 1980; P a r k e r aj., 1981) zjištěna přímá korela-

III. Srovnání výskytu protilátek proti *Toxoplasma gondii* mezi kočkami zdravými a nemocnými — A comparison of the occurrence of antibodies to *Toxoplasma gondii* in healthy and sick cats

Použitá sérologická vyšetřovací metoda	Pozitivní sérologické nálezy				Hladina statistické významnosti
	kočky klinicky zdravé		kočky nemocné		
	počet	procento	počet	procento	
SFR	47	26,40	203	45,93	0,01
KFR	24	13,48	120	27,15	0,01
MPA	9	5,06	97	21,95	0,01
Protilátky zjištěny celkem	62	34,83	240	54,30	0,01
Celkem koček ve skupině	178	—	442	—	—

ce mezi plicními lézemi a výskytem protilátek proti *T. gondii*. Patrně se nejednalo o akutní průběh onemocnění, pro který je postižení plic typické.

Společně s příznaky gastrointestinálními bývají v souvislosti s toxoplazmózou nejčastěji popisovány nervové příznaky (Ward aj., 1971), což dokládají i naše výsledky. Funkční poruchy CNS (např. mimořádná agresivita) mohou být způsobovány přítomností vysokého počtu tkáňových cyst v mozku. Opakovaně byla prokázána afinita *T. gondii* k nervové tkáni a téměř každá druhá kočka této skupiny byla MPA pozitivní. Změny na očích v souvislosti s výskytem specifických protilátek jsme nacházeli pouze ojediněle. Signifikantně vyšší výskyt specifických protilátek u 50 koček s dg. scabies můžeme vysvětlit častějším kontaktem volně se pohybujících koček s nemocnými zvířaty. Při onemocnění svrabem, ale platí to pro celou skupinu kožních chorob, nelze spoléhat na odlišení případné toxoplazmózy podle reakce mizních uzlin, protože mizní uzliny (zejména *lnn. mandibulares*) mělo zvětšené 78 % koček s dg. scabies.

Závislost mezi výskytem protilátek proti *T. gondii* a infekcemi koček nebyla prokázána. Nepotvrdili jsme ani nálezy autorů Patrak a Carpenter (1965), kteří nacházeli toxoplazmózu jako komplikaci infekční panleukopenie.

Výsledky naší práce prokázaly, že nemocné kočky měly protilátky proti *T. gondii* signifikantně častěji než zvířata klinicky zdravá (tab. III), ale také skutečnost, že kočky, které byly infikovány *T. gondii*, umíraly častěji než zvířata, u kterých nebyly specifické protilátky zjištěny. K těmto závěrům jsme dospěli vyhodnocením mortality obou skupin zvířat, a nepřímou tak potvrzujeme patogenitu *T. gondii*. Z hlediska diferenciální diagnózy bychom o toxoplazmóze měli uvažovat u těch koček, u kterých nacházíme minimálně dvojnásobné zvětšení alespoň dvou mizních uzlin, a to jak povrchových, tak i mezenterálních.

Literatura

- FAYER, R.: Toxoplasmosis update and public health implications. Can. veter. J., 22, 1981, č. 11, s. 344-352.
- KÜHN, D. — OPPERMANN, W. H. — RÖDEL, H.: Experimentelle Infektion von Hunden mit Toxoplasma-Oozysten. Berl. Münch. tierärztl. Wschr., 85, 1972, č. 16, s. 309-314.
- KÜHN, D. — JUHR, N. — ROMMEL, M. — BOCH, J.: Experimentelle Toxoplasma-Infektionen bei der Katze. III. Entwicklungsstadien nach oralen Toxoplasma-Oozysten-Infektion im Darm der Katze. Berl. Münch. tierärztl. Wschr., 87, 1974, č. 3, s. 41-46.
- OLAFSON, P. — MONLUX, W. S.: Toxoplasma infections in animals. Cornell Veter., 32, 1942, č. 2, s. 176-190.
- PARKER, G. A. — LANGLOSS, J. M. — DUBEY, J. P. — HOOVER, E. A.: Pathogenesis of acute toxoplasmosis in specific-pathogen-free cats. Veter. Path., 18, 1981, s. 786-803.
- PETRAK, M. — CARPENTER, J.: Feline toxoplasmosis. J. Amer. veter. med. Assoc., 146, 1965, č. 7, s. 728-734.
- RAŠÍN, K.: *Toxoplasma gondii*, *Isospora felis* — přirozená a experimentální infekce koček. Veter. Med. (Praha), 18, 1973, č. 10, s. 593-618.
- REISENAUER, R.: Metody matematické statistiky a její aplikace. 2. vydání. Praha, Práce — SNTL 1970. 239 s.
- SVOBODA, M.: Výskyt protilátek proti *Toxoplasma gondii* u koček z Brna a okolí. Veter. Med. (Praha), 33, 1988, č. 1, s. 45-54.
- SVOBODA, M. — KONRÁD, J. — SVOBODOVÁ, V.: Toxoplasmose der Katze — Vorkommen und Diagnostik in der Kleintierklinik. Schweiz. Arch. Tierheilkde. 128, 1986, č. 12, s. 613-621.
- TÓŠ-LUTY, S.: Experimental toxoplasmosis in cats. I. Pathology and immunology. Acta parasit. pol., 27, 1980, č. 3, s. 11-22.
- WARD, J. M. — NELSON, N. — WRIGHT, J. F. — BERMAN, E.: Chronic clinical cerebral toxoplasmosis in cats. J. Amer. veter. med. Assoc., 159, 1971, č. 8, s. 1012-1014.

Došlo dne 9. 3. 1987

СВОБОДА, М. — СВОБОДОВА, В. — КОНРАД, Я. (Ветеринарный институт, Брно): Отношения между появлением антител против *Toxoplasma gondii* и клиническими диагнозами обследованных кошек. Veter. Med. (Praha), 33, 1988 (2) : 119-126.

В течение трех лет мы на наличие антител против *Toxoplasma gondii* обследовали 178 кошек клинически здоровых и 442 больных — пациентов клиники заболеваний малых животных Ветеринарного института в Брно. Антитела против *T. gondii* были у 34,8 % животных без клинических признаков заболеваний и 54,3 % кошек больных ($P < 0,01$). По сравнению с группой кошек клинически здоровых специфические антитела появлялись доказательно чаще у кошек с заболеваниями пищеварительной системы ($P < 0,01$), главным образом при острых гастроэнтеритах, далее у тех кошек, у которых была поражена печень ($P < 0,01$; $P < 0,05$). Статистически значимо более высокое появление антител против *T. gondii* мы далее находили у кошек с поражением нервной системы ($P < 0,05$; $P < 0,01$), гл. образом у животных с признаками чрезвычайной агрессивности в возрасте от четырех до трех лет. Увеличенные лимфатические узлы наблюдались у 44 % кошек с антителами против *T. gondii*. По сравнению со средним исследованной совокупности это составляет на 15 % больше и речь идет о зависимости статистически значительной ($P < 0,01$).

токсоплазмоз; клинические признаки; реакция лимфатических узлов

SVOBODA, M. — SVOBODOVÁ, V. — KONRÁD, J. (University of Veterinary Medicine, Brno): *Relations between the Occurrence of Antibodies to Toxoplasma gondii and the Clinical Findings in Cats Subjected to Clinical Examination*. Veter. Med. (Praha), 33, 1988 (2) : 119-126.

Within a three-year period, 178 clinically healthy and 442 sick cats (patients of the Clinic for Small Animal Diseases of the University of Veterinary Medicine, Brno) were examined for the presence of antibodies to *Toxoplasma gondii*. Antibodies to *T. gondii* were detected in 34.8 % of the animals without clinical signs of the disease and in 54.3 % of the sick cats ($P < 0.01$). Compared with the group of clinically healthy cats, the specific antibodies occurred significantly more frequently in the cats suffering from diseases of the digestive tract ($P < 0.01$), particularly in those with acute gastroenteritis, and in those having liver disorders ($P < 0.01$; $P < 0.05$). A statistically significantly higher occurrence of antibodies to *T. gondii* was also recorded in the cats with disorders of the nervous system ($P < 0.05$; $P < 0.01$), particularly in those with symptoms of extraordinary aggressivity at the age span from four months to three years. Enlarged lymph nodes were found out in 44 % of the cats having antibodies to *T. gondii*. This is 15 % more than the average for the investigated set of animals, which is a statistically significant dependence ($P < 0.01$).

toxoplasmosis; clinical signs; reaction of lymph nodes

SVOBODA, M. — SVOBODOVÁ, V. — KONRÁD, J. (Veterinärmedizinische Hochschule, Brno): *Beziehungen zwischen dem Vorkommen der Antikörper gegen die Toxoplasma gondii und klinischen Befunden bei untersuchten Katzen*. Veter. Med. (Praha), 33, 1988 (2) : 119-126.

Im Verlauf von drei Jahren untersuchten wir auf die Anwesenheit der Antikörper gegen die *Toxoplasma gondii* 178 klinisch gesunde und 442 kranke Katzen — alle Patienten der Klinik für Krankheiten der Kleintiere der Hochschule für Veterinärmedizin in Brno. Die Antikörper gegen die *T. gondii* wiesen insgesamt 34,8 % der Tiere ohne klinische Erkrankungssymptome und 54,3 % der kranken Katzen ($P < 0.01$) auf. Im Vergleich zu klinisch gesunden Katzen kamen die spezifischen Antikörper signifikant häufiger und öfters bei Katzen mit Erkrankungen des Verdauungstraktes ($P < 0.01$), insbesondere bei akuten Gastroenteritiden, ferner bei Katzen mit einer kranken Leber ($P < 0.01$; $P < 0.05$) vor. Ein statistisch bedeutend höheres Vorkommen der Antikörper gegen die *T. gondii* verzeichneten wir bei Katzen mit krankem Nervensystem ($P < 0.05$; $P < 0.01$), insbesondere bei Tieren mit Symptomen einer ausserordentlichen Aggressivität im Alter von 4 Monaten bis 3 Jahren. Vergrösserte lymphatische Ganglien wiesen wir bei 44 % der Katzen mit Antikörpern gegen die *T. gondii* nach. Im Vergleich zum Durchschnitt der untersuchten Auswahl ist es um 15 % mehr und es geht um eine statistisch bedeutende Abhängigkeit ($P < 0.01$).

Toxoplasmose; klinische Symptome; Reaktion der lymphatischen Ganglien

Adresa autorů:

MVDr. Miroslav Svoboda, CSc., MVDr. Vlasta Svobodová, prof. MVDr. Jaroslav Konrád, DrSc., Vysoká škola veterinární, Palackého 1-3, 612 42 Brno

IV. MEDZINÁRODNÉ SYMPÓZIUM O FYZIOLÓGII VÝŽIVY PREŽÚVAVCOV

Ústav fyziológie hospodárskych zvierat SAV v Košiciach usporiadal v dňoch 22. až 25. augusta 1987 IV. medzinárodné sympóziu o fyziológii výživy prežúvavcov, ktoré sa konalo v hoteli Patria na Štrbskom Plese. Toto sympóziu nadväzovalo na tradičné sympóziá o dusíkovom metabolizme hospodárskych zvierat, avšak súčasný vedecký program — pripravený v spolupráci s poprednými odborníkmi hlavne zo socialistických krajín — obsahoval podstatne širší okruh otázok fyziológie výživy, trávenia a metabolizmu prežúvavcov.

Na sympóziu bolo registrovaných 110 účastníkov, z toho 56 z ČSSR a 54 zo zahraničia, celkovo z 15 krajín. Prednesených bolo 52 referátov a prezentovaných bolo 47 plagátových zdení.

Úvodné slovo predniesol akademik K. Boďa, riaditeľ Ústavu fyziológie hospodárskych zvierat SAV v Košiciach. Zdôraznil, že sympóziu by sa v budúcnosti malo stať miestom pre širokú výmenu najaktuálnejších poznatkov základného i aplikovaného výskumu.

V prvej sekcii *Metabolizmus* predniesli hlavné referáty prof. W. Barej z PLR: *Regulácia sekrécie pankreatickej šťavy a žlče u prežúvavcov*, prof. Giesecke z NSR: *Funkcia inzulínu pri lipolýze tukov u vysokodojných kráv* a MVDr. J. Váradý, DrSc., z usporiadajúceho pracoviska, ktorý hovoril o skrmovaní syntetických a polosyntetických diét. Konštatoval, že prežúvavce sú schopné kryť svoje požiadavky na dusík v plnom rozsahu z rôznych zdrojov, či už natívnych alebo syntetických. Príkladom úspešnej spolupráce košického ústavu a Ukrajinského vedeckovýskumného ústavu fyziológie a biochémie hospodárskych zvierat v Lvove v oblasti využívania netradičných zdrojov krmív bol referát *Metabolické procesy u býkov dlhodobo kŕmených netradičnými krmivami*, ktorý predniesol prof. G. I. Kalačnjuk z Lvova.

Druhá sekcia sa zaoberala otázkami regulácie rastu a príjmu krmiva. MVDr. S. Kuchár, CSc., z usporiadajúceho ústavu predniesol referát *Regulácia príjmu potravy u mláďat* a prof. F. R. Bell z Veľkej Británie hovoril o neuroendokrínnej kontrole príjmu tekutín a krmiva u prežúvavcov. Z ďalších referujúcich treba spomenúť MVDr. J. Koppela, CSc., z košického ústavu, ktorý zistil, že podanie rastového hormónu cicajúcim jahňatám zvýšilo prírastky hmotnosti až v druhom mesiaci života, čo poukazuje na to, že rastový hormón neovplyvňuje rast v rannom postnatálnom období.

V tretej sekcii sa hovorilo o perspektívach ďalšieho výskumu v oblasti bachorovej mikrobiológie a o mikrobiologických, resp. enzymologických prístupoch k štúdiu týchto problémov. Hlavný referát na túto tému predniesli ing. M. Marounek, CSc., a ing. J. Kopečný, CSc., z Ústavu fyziológie a genetiky hospodárskych zvierat ČSAV, Praha-Uhríněves. Plagátové zdenia sa týkali adherentných bachorových baktérií, ich ureázovej aktivity a ich vzťahu k využitiu ¹⁵N-močoviny, metabolizmu škrobu v bachore a vplyvu monenzínu na bachorovú fermentáciu a mikroflóru v podmienkach *in vitro*.

V štvrtej sekcii *Systémy využitia dusíkatých látok v krmivách prežúvavcov* bola riešená široká škála otázok dusíkového metabolismu. Prof. H. Bergner z NDR predniesol príspevok *Metabolizmus močoviny v hrubom čreve prežúvavcov* a dr. J. Madsen z Dánska v príspevku *Hodnota kŕmnej bielkoviny z hľadiska potrieb prežúvavca a jeho mikroorganizmov* hovoril aj o novom systéme hodnotenia bielkovín, ktorý sa uplatňuje v škandinávskych krajinách. Ďalšie príspevky sa týkali otázok syntézy aminokyselín v krvi po intravenóznom podaní ¹⁵N-močoviny, tvorby amoniaku v bachore pri skrmovaní močoviny a sušeného hydínového trusu, úprav slamy amoniakom vzhľadom na lepšie využitie dusíka a živín, degradácie kŕmnych bielkovín v bachore a iných otázok metabolizmu dusíka u prežúvavcov.

Piata sekcia obsahovala voľné zdenia a z praktického hľadiska zaujali príspevky MVDr. L. Němečka, CSc., z Brna o permanentných fistulách pre hovädzí dobytok a prof. A. Petkova z BLR o rozdieloch vo vývoji ultraštruktúry predžalúdkov u oviec v závislosti od veku.

V rámci sympózia sa uskutočnila diskusia „za okrúhlym stolom“ na tému *Využitie metód molekulárnej genetiky pri štúdiu bachorových mikroorganizmov*. Úvod do diskusie dal referát MVDr. V. Kmeťa, CSc., a akademika K. Boďu z košického ústavu, ktorý riešil problematiku aplikácie poznatkov z oblasti génových manipulácií zo známych modelov *E. coli* a *Bacillus subtilis* na bachorové baktérie. Na manipuláciu bolo navrhnuté klonovanie celulázových génov a génov enzýmov využívajúcich amoniak do bachorových streptokokov. Praktické využitie geneticky pozmenených baktérií je pri výrobe kolonizačných preparátov pre mláďatá prežúvavcov a pri biotransformácii lignocelulózových materiálov.

Abstrakty všetkých príspevkov boli publikované v časopise Veterinární medicína (Praha) ako supplementum.

IV. medzinárodné sympóziu o fyziológii výživy prežúvavcov by malo začať novú tradíciu medzinárodných sympózií, ktoré by mali postupne a periodicky usporiadať významné vedecké pracoviská v jednotlivých socialistických krajinách tak, aby sa vytvorilo medzinárodné fórum výmeny a konfrontácie najnovších vedeckých poznatkov z oblasti fyziológie výživy prežúvavcov.

MVDr. Miroslav Baran, CSc.

Ústav fyziológie hospodárskych zvierat SAV, Košice

CONTENTS

Čada F.: Pathomorphological Investigation of the Thyroid Glands of Calves in the Early Postnatal Period with the Supply Area of the State Veterinary Institute at Plzeň	69
Uhrín V., Kulíšková L., Uhrín P.: The Relations between the Content of Myoglobin and the Activity of Succinate Dehydrogenase in Muscle Fibres	81
Molnářová M., Arendarčík J., Tokoš M.: The Effect of PMSG on the Trypsin Inhibition Activities (TIA) of Blood Plasma, Cervical Mucus and on Some Parameters of the Reproduction Organs of Ewes in Anoestrus	91
Ruprich J., Vereš K., Schmiedová D.: Radioimmunological Determination of the Mycotoxin Ochratoxin A — a New Diagnostic Method of Czechoslovakia	101
Šmirják M., Hrušovský J., Garčár J.: The Pattern of Ammonia Content during Long-Term Storage of Canned Meat	109
Svoboda M., Svobodová V., Konrád J.: Relations between the Occurrence of Antibodies to <i>Toxoplasma gondii</i> and the Clinical Findings in Cats Subjected to Clinical Examination	119

INHALT

Čada F.: Pathomorphologische Untersuchung der Schilddrüse bei Kälbern in der frühesten postnatalen Periode im Einzugsgebiet des SVI Plzeň	69
Uhrín V., Kulíšková L., Uhrín P.: Beziehungen zwischen dem Myoglobingehalt und der Sukzinatdehydrogenase-Aktivität in Muskelfasern	81
Molnářová M., Arendarčík J., Tokoš M.: Einfluss von PMSG auf die Trypsininhibitionsaktivität (TIA) des Blutplasmas, des Zervikalschleimes und auf einige Reproduktionsorgane der Schafe im Anöestrus	91
Ruprich J., Vereš K., Schmiedová D.: Radioimmunologische Bestimmung von Mykotoxin Ochratoxin A — neue Diagnostikmethode in der ČSSR	101
Šmirják M., Hrušovský J., Garčár J.: Dynamik von Ammoniak im Prozess einer langfristigen Lagerung von Fleischkonserven	109
Svoboda M., Svobodová V., Konrád J.: Beziehungen zwischen dem Vorkommen der Antikörper gegen die <i>Toxoplasma gondii</i> und klinischen Befunden bei untersuchten Katzen	119



Rukopisy odevzdány k tisku 13. 10. 1987 — Podepsáno k tisku 5. 1. 1988

Vědecký časopis VETERINÁRNÍ MEDICÍNA • Vydává Československá akademie zemědělská — Ústav vědeckotechnických informací pro zemědělství • Vychází měsíčně • Redaktorka ing. Jovanka Václavíčková • Redakce: 120 56 Praha 2, Slezská 7, telefon 257541 • Vytiskl MÍR, Novinářské závody, n. p., závod 6, tř. Lidových milicí 22, 120 00 Praha 2 • © Ústav vědeckotechnických informací pro zemědělství, Praha 1988

Rozšiřuje PNS. Informace o předplatném podá a objednávky přijímá každá administrace PNS, pošta, doručovatel a PNS-ÚED Praha, závod 01 — AOT, Kafkova 19, 160 00 Praha 6; PNS-ÚED Praha, závod 02, Obránců míru 2, 656 07 Brno; PNS-ÚED Praha, závod 03, Kubánská 1539, 708 72 Ostrava-Poruba. Objednávky do zahraničí vyřizuje PNS — ústřední expedice a dovoz tisku Praha, závod 01, administrace vývozu tisku, Kafkova 19, 160 00 Praha 6.