

VĚDECKÝ ČASOPIS



VETERINÁRNÍ MEDICÍNA

7

ROČNÍK 35 (LXIII)
PRAHA
ČERVENEC 1990
CENA 15 Kčs
CS ISSN 0375-8427

ČESKOSLOVENSKÁ AKADEMIE ZEMĚDĚLSKÁ
ÚSTAV VĚDECKOTECHNICKÝCH INFORMACÍ
PRO ZEMĚDĚLSTVÍ

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

Vedoucí redaktorka ing. Zdeňka Radošová

OBSAH

Faldíková L., Kozdera A., Věžník Z., Bendová J.: Produkce testosteronu po stimulaci varlečních buněk býků gonadotropinem <i>in vitro</i>	385
Jalč D., Zelenák I., Bučko J., Vondrák T., Široka P.: Vplyv metanolového extraktu pilín na trávenie celulózy, sena a pšeničných otrúb <i>in vitro</i>	391
Legáth J., Timkovičová M., Tomáš J., Javorský P., Belák M.: Elúcia baktérií adherovaných na epitel bachora oviec a ich elektrónovomikroskopický dôkaz	397
Uhrín P.: Postmortálny metabolizmus glykogénu svalov zdravých ošípaných a ošípaných postihnutých syndrómom malignej hypertermie	403
Hrdlička J.: Rezidua inhibičných látok ve tkáních jatečných zvířat — porovnání mikrobiologických metod agarové difúze	411
Cigánková V.: Histologický a submikroskopický obraz diferenciácie semenníkov (<i>Ovis aries</i>) z vývojového aspektu	419
Konrád J., Cupák M., Hrušovský J., Husák S., Šmíd K.: Metabolizmus minerálií u psů v průběhu výcvikové a pracovní zátěže.	427
Vladík P., Prouza A.: Nález <i>Yersinia ruckeri</i> u pstruhů duhových v Československu	437

INFORMACE

Prosbová M.: Veterinárne bázy dát a možnosti ich sprístupňovania	443
--	-----

СОДЕРЖАНИЕ

Фалдикова Л., Коздера А., Вежник З., Бендова Й.: Продукция тестостерона после стимулирования клеток семенников быков с помощью гонадотропина в пробирке	388
Ялч Д., Зеленьяк И., Бучко Я., Вендрак Т., Сирока П.: Влияние метанолового экстракта опилок на переваривание клетчатки, сена и пшеничных отрубей в пробирке	396
Легат Я., Тимковичова М., Томаш Я., Яворски П., Белак М.: Элюирование бактерий, адгерированных на эпителии рубца у овец и их электроново-микроскопическое доказательство	402
Угрин П.: Послесмертный метаболизм гликогена мышц у здоровых и пораженных синдромом злокачественной гипертермии свиней	409
Грдличка Й.: Остатки ингибирующих веществ в тканях боенских животных — сравнение микробиологических методов агаровой диффузии	417
Циганкова В.: Гистологическая и субмикроскопическая картина дифференциации семенников (<i>Ovis aries</i>) в аспекте эволюции	424
Конрад Я., Цупак М., Грушовски Й., Гусак С., Шмид К.: Метаболизм минеральных веществ у собак в ходе дрессировки и натаски	434
Владик П., Проуза А.: Диагноз <i>Yersinia ruckeri</i> у радужной форели в Чехословакии	441

PRODUKCE TESTOSTERONU PO STIMULACI VARLETNÍCH BUNĚK BÝKŮ GONADOTROPINEM *in vitro*

L. Faldíková, A. Kozdera, Z. Věžník, J. Bendová

FALDÍKOVÁ, L. — KOZDERA, A. — VĚŽNÍK, Z. — BENDOVÁ, J. (Výzkumný ústav veterinárního lékařství, Brno): *Produkce testosteronu po stimulaci varletních buněk býků gonadotropinem in vitro*. Veter. Med. (Praha), 35, 1990 (7) : 385—389.

Schopnost odpovědi býčích varletních buněk na stimulaci Sérovým gonadotropinem ad us. vet. (Bioveta, Ivanovice na Hané) byla zjišťována *in vitro*. Tkáň varlat byla rozřezána, štěpena kolagenázou a uvolněné buňky byly stimulovány gonadotropinem v koncentracích 7,8 až 250 m. j. l⁻¹ a srovnány s kontrolními vzorky bez použití gonadotropinu. Varletní buňky býků reagovaly na zvyšující se stimulaci stoupající produkcí testosteronu.

býk; varletní buňky; stimulace *in vitro*; produkce testosteronu

Odpovědi myších varlat na gonadotropin *in vitro* poprvé popsali Van Damme aj. (1973). K získání suspenze buněk myších varlat použili Van Damme aj. (1974) mechanické štěpení a výsledné množství buněk na varle bylo $3,0 \pm 1,0 \cdot 10^4$. Mamode aj. (1982, 1983) použili k uvolnění buněk myších varlat kolagenázu a získali $10,3 \cdot 10^6$ buněk na varle. V homogenizovaných alikvótech stanovili tyto autoři aktivitu gonadotropinů měřením koncentrace testosteronu produkovaného *in vitro*. McCarthy aj. (1979) a D'Occhio aj. (1984) inkubovali fragmentovanou varletní tkáň býků a zjistili vzestup testosteronu při stimulaci gonadotropinem.

V této práci jsme zjišťovali, zda lze kolagenázou uvolnit buňky z býčích varlat a stimulovat je gonadotropinem ke zvýšené produkci testosteronu *in vitro*.

MATERIÁL A METODA

K pokusům byla použita varlata pěti býků českého strakatého plemene ve věku 18 měsíců o hmotnosti asi 600 kg (A, B, C, D, E). Varlata byla vypreparována ihned po porážce a přenesena do Krebs-Ringerova roztoku. Z každého varlete ze tří řezů z různých míst bylo naváženo 10 g tkáně, nařezáno na malé kousky a vloženo do Erlenmayerových baněk. Do každé baňky byly napipetovány 4 ml 0,1% roztoku kolagenázy v médiu M 199 (Ústav sér a očkovacích látek, Praha) o pH 7,2 obsahujícího 2 % hovězího séra a štěpení tkáně probíhalo za stálého třepání ve vodní lázni při teplotě 34 °C po dobu 10 minut. Následovalo odsátí média s enzymem, přidání 4 ml roztoku kolagenázy k naštěpené tkáni a štěpení dalších 20 minut za stejných podmínek. Naštěpená tkáň byla promývána médiem bez kolagenázy, které pak bylo rovněž odsáto. Nakonec byla tkáň protřepávána v médiu na vibrační třepačce po dobu pěti minut a zfiltrována přes čtyři vrstvy hydrofilní gázy. Médium obsahující uvolněné buňky bylo odstředováno v chlazené odstředivce pět minut při 140 G a sedimenty byly resuspendovány v médiu. Koncentrace buněčných suspenzí byla stanovena hemocytometricky a suspenze byly naředěny tak, aby výsledná koncentrace v inkubované směsi byla přibližně $2 \cdot 10^6 \cdot \text{ml}^{-1}$.

Alikvóty buněčné suspenze byly rozděleny do nádobek po 1 ml, u pokusných vzorků bylo médium doplněno Sérovým gonadotropinem ad us. vet. (Bioveta, Ivanovice na Hané) tak, aby v objemu 1 ml byla výsledná koncentrace gonadotropinu 0; 7,5; 31,2; 62,5; 125; resp. 250 m. j. l⁻¹ pro býky C, D, E. Všechny experimenty byly provedeny v triplicátech.

Inkubace probíhala za stálého třepání ve vodní lázni při teplotě 34 °C po dobu tří hodin a 95 % kyslíku a 5 % oxidu uhličitého v plynné fázi. Po skončení inkubace byl obsah nádobek přelit do zkumavek a odstředován po dobu pěti minut při 1 600 G. Supernatant byl odsát a uchován při teplotě -20 °C do analýzy. Stanovení testosteronu bylo provedeno radioimunoanalýzou podle metody, kterou popsal Mamode (1984) a produkce testosteronu byla přepočtena na $1 \cdot 10^6$ buněk.

VÝSLEDKY

Hladina testosteronu u pěti býků v závislosti na zvyšující se koncentraci gonadotropinu použitého ke stimulaci je patrná z obr. 1. Zatímco produkce testosteronu u býků C, D a E se zvyšovala se stoupající koncentrací gonadotropinu, u býka A došlo při koncentracích 31,2 a 62,5 m. j. $\cdot$ l $^{-1}$ k setrvání hladiny testosteronu na úrovni produkce při koncentraci gonadotropinu 7,8 m. j. $\cdot$ l $^{-1}$ a pak k následnému vzestupu hladiny testosteronu při stimulačním množství 125,0 m. j. $\cdot$ l $^{-1}$. Poněkud odlišný charakter odpovědi ukázal býk B, u kterého jsme zjistili výrazné snížení tvorby testosteronu v případě nejvyšší použité dávky gonadotropinu, tj. v tomto případě 125,0 m. j. $\cdot$ l $^{-1}$.

Relativní změny v tvorbě testosteronu za stejných experimentálních podmínek jsou vyjádřeny na obr. 2. Je zřejmé, že u býka C, D a E došlo k trojnásobnému až čtyřnásobnému zvýšení tvorby testosteronu (300 až 400 %), přičemž odpověď u býků A a B měla odlišný charakter.

Nejvyšší produkci testosteronu vykázal býk E, při nejvyšší použité koncentraci gonadotropinu 250 m. j. $\cdot$ l $^{-1}$ to bylo $99,99 \pm 2,49$ nmol.l $^{-1}$. U tohoto býka také došlo k jednomu z nejvyšších relativních zvýšení produkce testosteronu. U varletních buněk býka C byla zjištěna nejnižší úroveň vyprodukovaného testosteronu (maximální koncentrace $10,25 \pm 2,02$ nmol.l $^{-1}$), avšak relativně došlo k několikanásobnému zvýšení produkce testosteronu ve srovnání s výchozí hodnotou.

Zisk buněk na 10 g tkáně varlat byl v pořadí býků A, B, C, D, E: 103 131 000, 96 548 500, 154 360 000, 186 624 000 a 182 784 000. Variační koeficient analýzy měl průměrnou hodnotu 13,4 % a pohyboval se v rozmezí 2,0 až 26,1 %.

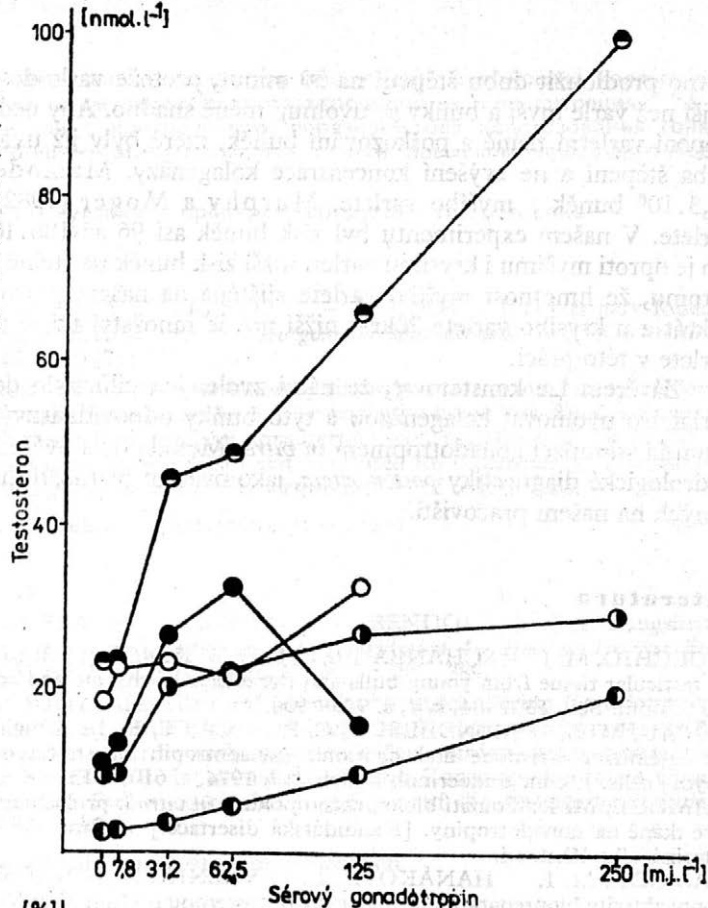
DISKUSE

Bylo prokázáno, že varlata myši a krys dávají citlivou a specifickou odpověď po stimulaci gonadotropinu, přičemž tato odpověď má charakter lineární závislosti na množství podaného gonadotropinu (Schumacher aj., 1979; Dufau aj., 1974; Mendelson aj., 1975). Podobně McCarthy aj. (1979) a D'Occhio aj. (1984) zjistili vzestup produkce testosteronu *in vitro* v závislosti na koncentraci stimulačního hormonu, když inkubovali varletní tkáň býků nařezanou na malé kousky. Výsledky, prezentované v tomto sdělení, jsou v souladu s nálezy, které publikovali McCarthy aj. (1979) a D'Occhio aj. (1984).

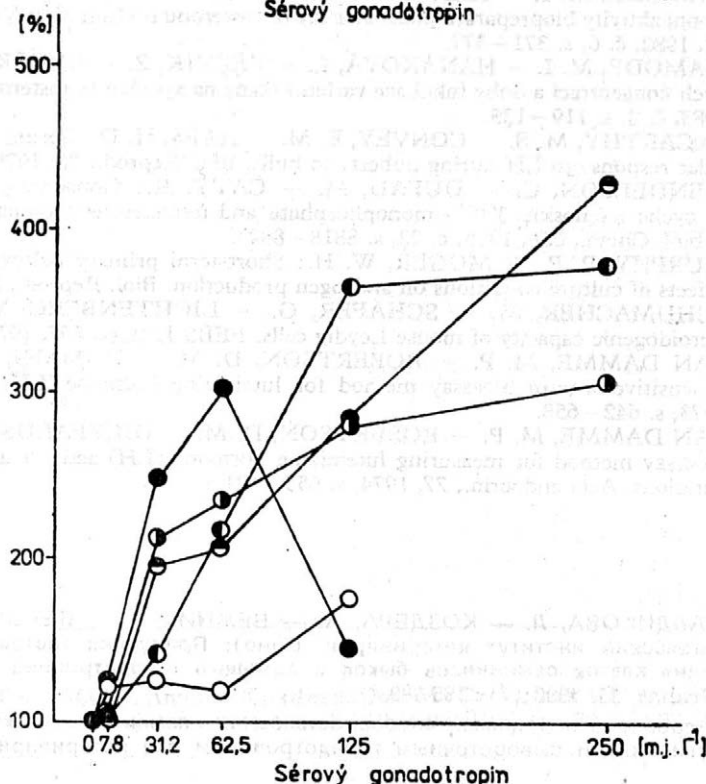
Z našich výsledků vyplývá, že odpověď varletních buněk jednotlivých býků na stimulaci gonadotropinem je individuální. Bazální produkce testosteronu vykazuje různou úroveň a také po stimulaci dochází k rozdílnému zvýšení produkce. U jednoho ze sledovaných býků nereagovaly varletní buňky na stimulaci 125 m. j. $\cdot$ l $^{-1}$ dalším zvýšením produkce testosteronu, ale naopak došlo k jejímu poklesu. Tento pokles mohl být způsoben obsazením receptorových míst v Leydigových buňkách varlat tohoto býka, čemuž by mohlo nasvědčovat i to, že se jedná o býka s nejmenším ziskem buněk z 10 g varletní tkáně.

K uvolnění buněk býčích varlat byla v naší práci použita kolagenáza, rutinně používaná v naší laboratoři ke štěpení myších varlat (Mamode aj., 1982, 1983). U myších varlat stačila k rozštěpení doba dvakrát 10 minut, u fragmentů býčích varlat bylo však

1. Hladina testosteronu v suspenzi býčích varlečních buněk po stimulaci gonadotropiny *in vitro*; býk A ○—○, B ●—●, C ○—○, D ○—○, E ○—○ — Testosterone concentrations in the suspension of bulls' testicular cells after *in vitro* gonadotropin stimulation; bull A ○—○, B ●—●, C ○—○ D ○—○ E ○—○



2. Relativní nárůst hladiny testosteronu v suspenzi býčích varlečních buněk po stimulaci gonadotropiny *in vitro* (bazální hodnoty bez stimulace = 100 %; hodnoty po jednotlivých stimulacích vztaženy k těmto hodnotám) — Relative increase in testosterone concentrations in the suspension of bulls' testicular cells after *in vitro* gonadotropin stimulation (basal values without stimulation = 100 %; the values from different stimulations are related to these values)



nutno prodloužit dobu štěpení na 30 minut, protože varle dospělého býka je kompaktnější než varle myši a buňky se uvolňují méně snadno. Aby nedocházelo k drastičtějším štěpením varletní tkáně a poškozování buněk, které byly již uvolněny, byla zvolena delší doba štěpení a ne zvýšení koncentrace kolagenázy. Mamode aj. (1982, 1983) získali $10,3 \cdot 10^6$ buněk z myšního varlete, Murphy a Moger (1982) $7 \cdot 10^6$ buněk z krysího varlete. V našem experimentu byl zisk buněk asi 96 až $186 \cdot 10^6$ z 10 g býčího varlete. To je oproti myšimu i krysímu varleti nižší zisk buněk na stejné množství tkáně vzhledem k tomu, že hmotnost myšního varlete zjištěná na našem pracovišti byla v průměru asi 80krát a u krysího varlete 20krát nižší než je množství tkáně použité z každého býčího varlete v této práci.

Závěrem lze konstatovat, že námi zvolených cílů bylo dosaženo, buňky z býčích varlat lze uvolňovat kolagenázou a tyto buňky odpovídají zvýšenou produkci testosteronu na stimulaci gonadotropinem *in vitro*. Metoda byla ověřena za účelem prohloubení andrologické diagnostiky *post mortem*, jako ověření platnosti intravitálních testů, používaných na našem pracovišti.

Literatura

- D'OCCHIO, M. J. — SCHANBACHER, B. D. — KINDER, J. E.: *In vitro* testosterone secretion by testicular tissue from young bulls and the effects of chronic and acute exposure to estradiol — 17. J. anim. Sci., 58, 1984, č. 4, s. 949—954.
- DUFAU, M. L. — MENDELSON, C. R. — CATT, K. J.: A highly sensitive *in vitro* bioassay for luteinizing hormone and chorionic gonadotropin: Testosterone production by dispersed Leydig cells. J. clin. Endocrinol. Metab., 39, 1974, s. 610—613.
- MAMODE, M. I.: Použití biologického pokusu *in vitro* k průkazu a hodnocení responsibility cílové tkáně na gonadotropiny. [Kandidátská disertace.] — Brno 1984, 109 s. — Výzkumný ústav veterinárního lékařství.
- MAMODE, M. I. — HANÁKOVÁ, L. — VĚŽNÍK, Z. — HRUŠKA, K.: Stanovení gonadotropní aktivity biopreparátu podle syntézy testosteronu myšimi varlaty *in vitro*. Veter. Med. (Praha), 27, 1982, č. 6, s. 371—377.
- MAMODE, M. I. — HANÁKOVÁ, L. — VĚŽNÍK, Z. — HRUŠKA, K.: Vliv různých buněčných koncentrací a doby inkubace varletní tkáně na syntézu testosteronu. Veter. Med. (Praha), 28, 1983, č. 2, s. 119—125.
- MCCARTHY, M. S. — CONVEY, E. M. — HAFS, H. D.: Serum hormonal changes and testicular response to LH during puberty in bulls. Biol. Reprod., 20, 1979, s. 1221—1227.
- MENDELSON, C. — DUFAU, M. — CATT, K.: Gonadotropin binding and stimulation of cyclic adenosine 3'15'-monophosphate and testosterone production in isolated Leydig cells. J. biol. Chem., 250, 1975, č. 22, s. 8818—8823.
- MURPHY, P. R. — MOGER, W. H.: Short-term primary culture of mouse interstitial cells: Effects of culture conditions on androgen production. Biol. Reprod., 27, 1982, s. 38—47.
- SCHUMACHER, M. — SCHÄFER, G. — LICHTENBERG, V. — MILZ, H.: Maximal steroidogenic capacity of mouse Leydig cells. FEBS Letters, 107, 1979, č. 2, s. 398—402.
- VAN DAMME, M. P. — ROBERTSON, D. M. — ROMANI, P. — DICZFALUSY, E.: A sensitive *in vitro* bioassay method for luteinizing hormone (LH) activity. Acta endocrin., 74, 1973, s. 642—658.
- VAN DAMME, M. P. — ROBERTSON, D. M. — DICZFALUSY, E.: An improved *in vitro* bioassay method for measuring luteinizing hormone (LH) activity using mouse Leydig cell preparations. Acta endocrin., 77, 1974, s. 655—671.

Došlo dne 14. 6. 1989

ФАЛДИКОВА, Л. — КОЗДЕРА, А. — ВЕЖНИК, З. — БЕНДОВА, Й. (Научно-исследовательский институт ветеринарии, Брно): Продукция тестостерона после стимулирования клеток семенников быков с помощью гонадотропина в пробирке. Veter. Med. (Praha), 35, 1990 (7) : 385-389.

В пробирке определяли способность бычьих семенных клеток реагировать на стимулирование сывороточным гонадотропином для ветеринарных целей (Биовета, Ива-

новице-на-Гане). Разрезанную ткань семенников расщепляли с помощью коллагеназы, а высвобожденные клетки стимулировали гонадотропином в концентрациях 7,8 — 250 м.ед. л⁻¹ и сравнивали с контрольными образцами без использования гонадотропина. В ответ на растущую стимуляцию эти клетки повышали продукцию тестостерона.

бык; клетки семенников; стимуляция в пробирке; продукция тестостерона

FALDÍKOVÁ, L. — KOZDERA, A. — VĚŽNÍK, Z. — BENDO VÁ, J. (Veterinary Research Institute, Brno): *Testosterone production after in-vitro gonadotropin stimulation of bulls' testicular cells*. Veter. Med. (Praha), 35, 1990 (7): 385 — 389.

The response of bulls' testicular cells to the stimulation by serum gonadotropin ad us. vet. (Bioveta, Ivanovice in Haná) was investigated in *in vitro* tests. The testicular tissue was sliced, collagenase-split and the loosened cells were stimulated by gonadotropin concentrations of 7.8 to 250 IU per l; control samples without gonadotropin treatment were used for comparisons. The testicular cells responded to the increasing stimulation by higher production of testosterone.

bull; testicular cells; *in vitro* stimulation; testosterone production

FALDÍKOVÁ, L. — KOZDERA, A. — VĚŽNÍK, Z. — BENDO VÁ, J. (Forschungsinstitut für Veterinärmedizin, Brno): *Testosteronproduktion nach Stimulation der Hodenzellen von Bullen durch Gonadotropin in vitro*. Veter. Med. (Praha), 35, 1990 (7): 385 — 389.

Die Reaktionsfähigkeit von Bullenhodenzellen auf Stimulation durch Serum-Gonadotropin ad us. vet. (Bioveta, Ivanovice na Hané) wurde *in vitro* ermittelt. Das Hodengewebe wurde zerschnitten, mittels Kolagenase gespalten und die freigegebenen Zellen wurden durch Gonadotropin in Konzentrationen von 7,8 bis 250 I. E. l⁻¹ stimuliert und mit Kontrollproben ohne Gonadotropinanwendung verglichen. Die Bullenhodenzellen reagierten auf die gesteigerte Stimulation durch erhöhte Testosteronproduktion.

Bulle; Hodenzellen; *in vitro*-Stimulation; Testosteronproduktion

Adresa autorů:

Ing. Ludmila Faldíková, CSc., MVDr. Antonín Kozdera, Doc. MVDr. Zdeněk Věžník, CSc., MVDr. Jindřiška Bendová, Výzkumný ústav veterinárního lékařství, Hudcova 70, 621 32 Brno

NABÍDKA INZERTNÍ SLUŽBY

Vědecký časopis Veterinární medicína Vám nabízí možnost inzerce Vašich výrobků, služeb, patentů apod. na stránkách uvnitř časopisu.

Časopis Veterinární medicína vychází 1 × za měsíc.

Inzertní a reklamní plochu poskytujeme všem zájemcům — vědeckovýzkumným a vývojovým pracovištím, podnikům, podnikatelům apod.

Inzeráty budou zařazovány k otištění v pořadí v jakém dojdou do redakce.

Reklamní fotografie přijímáme jen v černobílém provedení.

Cena inzerátu se pohybuje podle zaplněné plochy stránky až do maxima 4369,— Kčs.

Objednávky na inzerci či reklamu zasílejte na adresu:

Ústav vědeckotechnických informací pro zemědělství

Redakce vědeckého časopisu Veterinární medicína

Slezská 7, 120 56 Praha 2

VPLYV METANOLOVÉHO EXTRAKTU PILÍN NA TRÁVENIE CELULÓZY, SENA A PŠENIČNÝCH OTRÚB *in vitro*

D. Jalč, I. Zelenák, J. Bučko, T. Vondrák, P. Siroka

JALČ, D. — ZELENÁK, I. — BUČKO, J. — VENDRÁK, T. — SIROKA, P. (Ústav fyziológie hospodárskych zvierat SAV, Košice; Vysoká škola lesnícka a drevárska, Zvolen): *Vplyv metanolového extraktu pilín na trávenie celulózy, sena a pšeničných otrúb in vitro*. Veter. Med. (Praha), 35, 1990 (7): 391–396.

V pokuse sme sledovali vplyv extraktu upravených bukových pilín — UBP (získaného extrakciou 80% metanolom) na trávenie celulózy *in vitro* a na trávenie diéty pozostávajúcej zo sena a pšeničných otrúb (80 : 20 %) v umelom bachore (Rusitec). Dodaním 10, 25, 50, 75 a 100 mg extraktu k 0,25 g celulózy sa významne znížila jej stráviteľnosť z 94,5 na 92,9; 90,4; 85,2; 82,1 a 80,1 %. Dodaním 0,6; 1,5 a 3,0 g extraktu k 14 g DM diéty v Rusitecu sa znížila jej stráviteľnosť z 49,6 na 41,8 %. Zvýšila sa produkcia plynov (CO_2 , H_2 , CH_4), celkových unikavých mastných kyselín — UMK, kyseliny octovej, propionovej, n-maslovej a izomaslovej, využitie glukózy a produkcia ATP. Vplyvom dodania extraktov sa účinnosť mikrobiálnej proteosyntézy (Y_{ATP}) významne nezmenila. Metanolový extrakt UBP obsahoval okrem fenolických látok (syringaldehyd a vanilín) aj redukujúce látky (sacharidy), ktoré ovplyvnili fermentáciu diéty v Rusitecu.

metanolový extrakt; upravené bukové piliny; fermentácia *in vitro*, Rusitec

Vo všetkých vaskulárnych tkanivách rastlín sa nachádzajú fenolické látky, ktoré sú derivované z dvoch metabolických ciest, kyseliny šikimovej a acetáto-malonovej. Primárnymi fenolickými látkami u objemných krmív sú p-kumarová a ferulová kyselina. Okrem nich v bunčných stenách objemových krmív sú prítomné kyselina p-hydroxi-benzoová, syringová a vanilová, p-hydroxi-benzaldehyd a syringaldehyd (Jung, Fahey, 1983). Majú antimikrobiálne účinky voči baktériam a filamentóznym hubám. Tieto fenolické látky sa nachádzajú aj v dreve (Jurd a i., 1971) a spôsobujú poškodenie membrán mikroorganizmov, ich lýzu a uvoľnenie bunčného obsahu.

Cieľom tejto práce bolo sledovať vplyv fenolických látok obsiahnutých v metanolových extraktoch drevených pilín na trávenie celulózy *in vitro* a na bachorovú fermentáciu diéty, pozostávajúcej zo sena a pšeničných otrúb v umelom bachore (Rusitec).

MATERIÁL A METÓDY

EXPERIMENT I

Bukové piliny upravené hydrobarotermicky pri tlaku 1,2 MPa a impregnované 1% H_2SO_4 sme extrahovali šesť hodín 80% metanolom. Touto extrakciou sme získali 32,35% výťažok upravených bukových pilín (UBP). Analýzou metanolového extraktu UBP plynovou chromatografiou na analyzátoe Perkin-Elmer 8500 sme zistili obsah fenolických látok — 0,37 mg syringaldehydu a 0,18 mg vanilínu v 1 ml extraktu. Ostatné fenolické látky je možné stanoviť kvapalinovou chromatografiou.

V pokusoch *in vitro* sme vysušený metanolový extrakt UBP dodali k čistej sulfátovej celulóze za účelom stanovenia stráviteľnosti sušiny. Použili sme metódu, ktorú popisali Mellenberger a i. (1970). Bachorový obsah pre pokusy sme získali od dospelých baranov plemena merino, vybave-

ných permanentnou bachorovou fistulou. Zvieratá boli kŕmené dobrým lúčnym senom *ad libitum* a mali prístup k vode a minerálnemu lízu pre ovce. K 35 ml zmesi bachorovej tekutiny a McDougallovho pufru (1 : 1) a k 0,25 g celulózy sme pridali 10, 25, 50, 75 a 100 mg extraktu. Tieto množstvá zodpovedajú koncentrácii 7,7; 19,4; 38,8; 58,3 a 77,7 mmol syringaldehydu. Fermentácia trvala 96 hodín. Pre lepšiu reprodukovateľnosť výsledkov sme uskutočnili sériu siedmich experimentov idúcich za sebou v jedno- až dvochtýždňových intervaloch, pričom každá vzorka bola testovaná v troch (celulóza), resp. šiestich (celulóza + extrakt) paralelkách. Výsledky stanovenia stráviteľnosti sušiny celulózy bez a s prídavkom extraktu sú priemerom 21 stanovení (celulóza), resp. 42 stanovení (celulóza + extrakt). Štatistické vyhodnotenie výsledkov sme uskutočnili na počítači PP-01 (tab. I).

EXPERIMENT II

Fermentácia kŕmnej dávky pozostávajúcej zo sena a pšeničných otrúb (80 : 20 %) bola uskutočnená v umelom bachore (Rúsitce), ako ho opisuje Czerkawski a Breckenridge (1977). Použili sme štyri fermentačné nádoby (V), ktorých objem bol 800 ml a prietok umelých slín — McDougallovho pufru asi 800 ml za deň. Seno a pšeničné otruby s prídavkom extraktu boli uzavreté v nylonových vrecúškach o veľkosti ôk 200 mikrónov. Bachorový obsah bol získaný podobným spôsobom ako v experimente I. Sledovali sme parametre bachorovej fermentácie v kontrolnej diéte vo fermentačnej nádobe V₁ a v experimentálnych diétach vo fermentačných nádobách V₂, V₃ a V₄ v Rusitecu. Kontrolná diéta pozostávala z 11,40 g DM lúčneho sena a 2,87 g pšeničných otrúb. K experimentálnym diétam vo fermentačných nádobách V₂, V₃ a V₄ sme pridali 0,6; 1,5 a 3,0 g vysušeného metanolového extraktu UBP čo zodpovedá koncentrácii 0,53; 1,34 a 2,65 mol syringaldehydu. Jedná sa o adekvátne zvýšené množstvá 10, 25, 50 mg extraktu použitých v experimente I.

Experiment trval 12 dní, pričom prvých šesť dní trvala tzv. steady state perióda počas ktorej sa stabilizovali podmienky fermentácie v Rusitecu. V šiesty až dvanásť deň boli uskutočnené odbery vzoriek a merania potrebné pre štúdium fermentácie jednotlivých diét. V pokuse bola zabezpečená izonitrogénnosť jednotlivých diét a pridaním 21 mg močoviny do 1 l McDougallovho pufru sme dosiahli 13 % CP v každej diéte.

Incubačná procedúra a príprava vzoriek na analýzy bola uskutočnená metódou, ktorú stanovili Czerkawski a Breckenridge (1977). Koncentrácia unikavých masných kyselín v effluente bola stanovená metódou plynovej chromatografie (Czerkawski, 1976) za použitia kyseliny krotónovej ako interného štandardu na chromatografe Perkin-Elmer 8500. Objem produkovaných plynov bol meraný prietokovým plynomerom a plyny boli analyzované plynovým analyzátorom Chrom 4 metódou, ktorú stanovili Czerkawski a Clapperton (1968). Amoniakálny dusík v effluente bol stanovený metódou podľa autorov Conway a O'Malley (1942). Nestrávené zvyšky krmiva po premytí s McDougallovým pufrom boli sušené do konštantnej hmotnosti pri 105 °C k stanoveniu stráviteľnosti sušiny krmiva.

VÝSLEDKY A DISKUSIA

EXPERIMENT I

Z výsledkov uvedených v tab. I vyplýva, že metanolový extrakt UBP ovplyvnil trávenie celulózy v podmienkach *in vitro*. Významný pokles ($P < 0,001$) stráviteľnosti sušiny celulózy sme zistili pri dodaní 25, 50, 75 a 100 mg extraktu, čo zodpovedá 19,4; 38,8; 58,3 a 77 mmol syringaldehydu. Pokles stráviteľnosti celulózy bol zaznamenaný aj pri podaní 10 mg extraktu (7,7 mmol) syringaldehydu, avšak štatisticky sa to neprejavilo. Borneman a i. (1986) sledovali vplyv čistých fenolických látok na trávenie celulózy *in vitro* ako aj na čisté kultúry bachorových baktérií. Pridaním 10 mmol syringaldehydu, vanilínu a p-hydroxibenzaldehydu zistili zníženie stráviteľnosti celulózy (Solka-floc) počas 48 hodín fermentácie z 63,1 % na 38,0; 36,4, resp. 46,2 %.

Vplyv extraktov dreva na trávenie celulózy sledoval Britton (1978). Postupne extrahoval zmes pilín tvrdého a mäkkého dreva (80 : 20 %) hydrolyzovaných 2,3% H₂SO₄ so 100, 95 a 80% etanolom. Jednotlivé extrakty v množstve 20 až 30 mg pridal k 300 mg celulózy a počas 48 hodín fermentácie zistil pokles jej stráviteľnosti z 76 % na 71,65 a 60 %. Je teda zrejmé, že metanolové, resp. etanolové extrakty dreva negatívne ovplyvňujú trávenie celulózy, čo je spôsobené prítomnosťou fenolických látok v extraktoch.

I. Vplyv metanolového extraktu UBP na stráviteľnosť sušiny celulózy *in vitro* — The effects of the methanol extract of treated beech sawdust on the digestibility of cellulose dry matter *in vitro*

	Stráviteľnosť sušiny [%]	SEM	Štatistika
Čistá sulfátová celulóza (C)	94,55	0,65	
C + 10 mg extraktu	92,89	0,70	NS
C + 25 mg extraktu	90,40	0,75	$P < 0,001$
C + 50 mg extraktu	85,17	1,01	$P < 0,001$
C + 75 mg extraktu	82,07	0,94	$P < 0,001$
C + 100 mg extraktu	80,11	1,23	$P < 0,001$

Hodnoty sú priemerom 21 stanovení (celulóza), resp. 42 stanovení (C + extrakt).

NS = nesignifikantné, SEM = štandardná stredná chyba

II. Vplyv metanolového extraktu UBP na fermentáciu diét v Rusitecu — The effects of the methanol extract of treated beech sawdust on diet fermentation in Rusitec

Parameter fermentácie	Fermentačná nádoba				Štatistika
	V ₁	V ₂	V ₃	V ₄	
Stráviteľnosť krmiva [%]	49,65 ± 1,08	48,37 ± 0,98	46,96 ± 1,56	41,82 ± 1,90	V ₁ –V ₄ $P < 0,01$
NH ₃ -N v effluente [mg.deň ⁻¹]	104,86 ± 4,42	114,95 ± 4,53	98,81 ± 2,21	92,76 ± 2,79	V ₁ –V ₄ $P < 0,05$
Produkcia [mmol.deň ⁻¹]	42,56	47,42	53,37	53,04	V ₁ –V ₃
UMK	± 2,49	± 1,54	± 2,52	± 2,17	V ₁ –V ₄ $P < 0,01$
kyseliny octovej	23,61 ± 1,55	28,39 ± 1,05	30,59 ± 1,62	31,33 ± 1,38	V ₁ –V ₂ $P < 0,05$ V ₁ –V _{3,4} $P < 0,01$
kyseliny propionovej	11,99 ± 0,68	12,14 ± 0,39	14,13 ± 0,65	13,58 ± 0,80	V ₁ –V ₃ $P < 0,05$
kyseliny n-maslovej	3,95 ± 0,42	4,32 ± 0,24	5,09 ± 0,33	5,15 ± 0,48	V ₁ –V ₃ $P < 0,05$
kyseliny n-valérovej	1,28 ± 0,08	1,70 ± 0,13	1,68 ± 0,19	1,77 ± 0,15	V ₁ –V ₂ $P < 0,05$ V ₁ –V ₄
kyseliny izovalérovej	1,70 ± 0,18	0,84 ± 0,05	1,85 ± 0,24	1,17 ± 0,01	V ₁ –V ₂ $P < 0,001$ V ₁ –V ₄ $P < 0,01$

Výsledky sú priemerom 6 stanovení.

EXPERIMENT II

Parametre bacherovej fermentácie kŕmnej dávky pozostávajúcej zo sena a pšeničných otrúb v Rusitecu uvádzame v tab. II. Z výsledkov tu uvedených vyplýva, že vplyvom dodania metanolových extraktov UBP sa znížila stráviteľnosť sušiny kŕmnej dávky, avšak výrazne sa to prejavilo len v nádobe V₄. Pokles stráviteľnosti sušiny kŕmnej dávky bol spojený s poklesom stráviteľnosti neutrálnej detergentnej vlákniny (NDF), kyslej detergentnej vlákniny (ADF) a hemicelulózy. Stráviteľnosť celulózy sa nezmenila.

Jedným z hlavných parametrov bacherovej fermentácie v Rusitecu je produkcia UMK a plynov. Dodaním extraktov do fermentačných nádob V₂, V₃ a V₄ sa zvýšila produkcia celkových UMK, jednotlivých UMK — kyseliny octovej, propionovej, n-maslovej a n-valérovej a znížila sa produkcia kyseliny izomaslovej. Zvýšená produkcia UMK bola spojená so zvýšenou produkciou plynov (CO₂ a metánu).

Analýzou UBP a UBP extrahovaných 80% metanolom sme zistili obsah redukujúcich látok 15 a 4 %. To znamená, že 11 % redukujúcich látok bolo extrahovaných a okrem fenolických látok sa v extraktoch nachádzajú aj redukujúce látky (sacharidy).

Väčšina bacherových mikroorganizmov získava energiu pre rast premenou sacharidovej diéty do UMK a je spojená s produkciou nadbytku H₂ (Czerkawski, 1975). Tento prebytok vodíka je potom využívaný v procese metanogenézy. Je pravdepodobné, že dodaním extraktov bola pridaná do fermentačného média v Rusitecu energia vo forme sacharidov. Prejavilo sa to zvýšenou produkciou UMK, metánu, CO₂ a H₂ vo fermentačných nádobách V₂, V₃ a V₄.

V pokuse sa prejavila tendencia poklesu amoniakálneho dusíka v effluente a bola spojená so zvýšenou produkciou mikrobiálnej sušiny effluentu pri fermentácii experi-

III. Vplyv metanolového extraktu UBP na konečné produkty fermentácie diét v Rusitecu — The effects of the methanol extract of treated beech sawdust on diet fermentation in Rusitec

Parameter fermentácie	Fermentačná nádoba				Štatistika
	V ₁	V ₂	V ₃	V ₄	
Produkcia [mmol.deň ⁻¹]	6,78	10,75	8,98	8,56	V ₁ -V ₂ P < 0,01
CH ₄	±0,54	±0,79	±1,21	±0,9	
CO ₂	24,53	27,12	31,67	28,92	V ₁ -V ₃ P < 0,05
	±1,55	±3,19	±3,05	±1,66	
H ₂	78,85	91,30	100,71	102,15	V ₁ -V ₂ P < 0,05
	±6,60	±2,89	±4,03	±3,65	V ₁ -V ₃ P < 0,01
					V ₁ -V ₄
Využitie glukózy	23,02	26,28	29,12	29,37	V ₁ -V ₃ P < 0,01
[mmol.deň ⁻¹]	±1,29	±0,86	±2,26	±1,11	V ₁ -V ₄
ATP	101,71	117,69	127,77	127,57	V ₁ -V ₂ P < 0,05
	±5,63	±3,86	±5,99	±6,05	V ₁ -V ₃ P < 0,01
					V ₁ -V ₄ P < 0,05
Y _{ATP}	9,19	8,83	9,07	9,30	V ₁ -V ₂ P < 0,05
[g.mol ⁻¹]	±0,42	±0,19	±0,15	±0,33	

Výsledky sú priemerom 6 stanovení.

mentálnych diét. Amoniak je kľúčový metabolit dusíkatého metabolizmu v bachore a 60 až 80 % dusíka je inkorporovaného do mikrobiálneho proteínu, pasážovaného cez bachorový amoniakálny pool (Nolan a Leng, 1972).

Zo známych stoichiometrických vzťahov je možné kalkuláciou stanoviť konečné produkty fermentácie v Rusitecu (Czerkawski, 1986) — využitie glukózy, produkciu vodíka a adenosin-trifosfátu (ATP). Ako je vidieť z výsledkov uvedených v tab. III dodaním extraktov k experimentálnym diétam sa zvýšila produkcia vodíka, ATP a využitie glukózy oproti kontrolnej diéte. Stanovili sme aj účinnosť mikrobiálnej proteosyntézy (Y_{ATP}), ktorá je uvádzaná v g. mol⁻¹ a predstavuje pomer produkcie mikrobiálnej biomasy k produkcii ATP vyjadrenej na 1 kg strávenej sušiny krmiva. Czerkawski (1986) uvádza priemernú hodnotu Y_{ATP} , t. j. 10,5 g. mol⁻¹ z pokusov uskutočnených v Rusitecu. My sme zistili nižšiu hodnotu Y_{ATP} , t. j. 9,19 pri fermentácii kontrolnej diéty, ktorá sa s dodaním extraktov v experimentálnych diétach významne nezmenila. Naše výsledky sú porovnateľné s výsledkami experimentu v Rusitecu, kde k senu bola pridávaná glukóza (Czerkawski a Breckenridge, 1979). Dodaním glukózy za dostatočného prívodu dusíka vo forme NH_4Cl sa znížila stráviteľnosť sušiny senu, stúpla produkcia plynov, UMK — kyseliny octovej, propionovej, n-maslovej a izovalérovej, produkcia mikrobiálnej sušiny effluentu. Účinnosť mikrobiálnej proteosyntézy sa nezmenila.

Záverom môžeme konštatovať, že metanolový extrakt UBP znížil stráviteľnosť sušiny celulózy v podmienkach *in vitro* (experiment I), avšak v Rusitecu tento vplyv sa tak výrazne neprejavil (experiment II).

Hoci došlo k zníženiu stráviteľnosti sušiny krmnej dávky vplyvom extraktov, neprejavilo sa u ostatných ukazovateľov bachorovej fermentácie a konečných produktov fermentácie v Rusitecu. Prejavil sa tu pravdepodobne vplyv redukujúcich látok, ktoré sa okrem fenolických látok v extraktach nachádzali. Nazdávame sa, že v budúcnosti bude potrebné sledovať vplyv čistých fenolických látok na trávenie celulóзовých materiálov v Rusitecu.

Literatúra

- BORNEMAN, W. S. — AKIN, D. E. — VAN ESELTINE, W. P.: Effect of phenolic monomers on ruminal bacteria. *Appl. Envir. Microbiol.*, 52, 1986, č. 6, s. 1331—1339.
- BRITTON, R.: Removal of the growth inhibitor (s) from acid and pressure hydrolyzed sawdust. *J. agric. fd. Chem.*, 26, 1978, č. 3, s. 759—763.
- CONWAY, E. J. — O'MALLEY, F.: Microdiffusion methods. Ammonia and urea using buffered absorbents. *Biochem. J.*, 36, 1942, s. 655—661.
- CZERKAWSKI, J. W. — CLAPPERTON, J. L.: Analysis of gas produced by metabolism of microorganisms. *Lab. Pract.*, 17, 1968, s. 994.
- CZERKAWSKI, J. W.: Some stoichiometric relations and their value in rumen studies. In: *Traces studies on non-protein nitrogen for ruminants II.*, IAEA, Vienna, Austria 1975.
- CZERKAWSKI, J. W.: The use of pivalic acid as a reference substance in measurements of production of volatile fatty acids by rumen microorganisms *in vitro*. *Brit. J. Nutr.*, 36, 1976, s. 311—315.
- CZERKAWSKI, J. W. — BRECKENRIDGE GRACE: Design and development of a long-term rumen simulation technique (Rusitec). *Brit. J. Nutr.*, 38, 1977, s. 371—384.
- CZERKAWSKI, J. W. — BRECKENRIDGE GRACE: Experiments with the long-term simulation technique (Rusitec): response to supplementation of basal rations. *Brit. J. Nutr.*, 42, 1979, s. 217—228.
- CZERKAWSKI, J. W.: An introduction to rumen studies. Oxford—New York—Toronto — Sydney — Frankfurt, Pergamon Press 1986.
- JUNG, H. G. — FAHEY, G. C. Jr.: Nutritional implications of phenolic monomers and lignin: a review. *J. anim. Sci.*, 57, 1983, č. 1, s. 206—219.
- JURD, L. — KING, A. D. — MIHARA, K. — STANLEY, N. L.: Antimicrobial properties of natural phenols and related compounds. *Appl. Microbiol.*, 21, 1971, s. 507—514.
- MELLENBERGER, E. W. — SATTER, L. D. — MILLETT, M. A. — BAKER, A. J.: An *in vitro* technique for estimating digestibility of treated and untreated wood. *J. anim. Sci.*, 30, 1970, s. 1005—1011.
- NOLAN, J. V. — LENG, R. A.: Dynamic aspects of ammonia and urea metabolism in sheep. *Brit. J. Nutr.*, 27, 1972, s. 177—194.

Došlo dňa 10. 8. 1989

ЯЛЧ, Д. — ЗЕЛЕНЯК, И. — БУЧКО, Я. — ВЕНДРАК, Т. — СИРОКА, П. (Институт физиологии скота при САН, Кошице; Институт лесоводства и деревоперерабатывающей промышленности, Зволень): Влияние метанолового экстракта опилок на переваривание клетчатки, сена и пшеничных отрубей в пробирке. *Veter. Med. (Praha)*, 35, 1990 (7) : 391-396.

В опыте прослеживали за влиянием экстракта обработанных буковых опилок (ОБО), полученного в результате экстракции 80 % метанолом, на переваривание клетчатки в пробирке, а также диеты из сена и пшеничных отрубей (80 : 20 %) в искусственном рубце (Руситек). В результате добавки 10, 25, 50, 75 и 100 мг экстракта в 0,25 г клетчатки значительно уменьшилась ее переваримость: с 94,5 до 92,9; 90,4; 85,2; 82,1 и 80,1 %. После добавки 0,6; 1,5 и 3,0 экстракта в 11 г ДМ диеты в Руситеке — с 49,6 до 41,8 %. Возросла продукция газов (CO_2 , H_2 , CH_4), всех летучих жирных кислот (ЛЖК), уксусной, пропионовой, п-масляной и изомасляной кислот, как и отдача глюкозы и продукция АТР. Под влиянием добавки экстрактов активность микробного протеосинтеза ($\text{Y}_{\text{АТР}}$) заметно не менялась. Метаноловый экстракт ОБО помимо фенолитических веществ (сирингальдегид и ванилин) содержал и редуцирующие вещества (сахариды), которые повлияли на ферментацию диеты в Руситеке.

метаноловый экстракт; обработанные буковые опилки; ферментация в пробирке; Руситек

JALČ, D. — ZELENÁK, I. — BUČKO, J. — VENDRÁK, T. — SIROKA, P. (Institute of Animal Physiology, Slovak Academy of Sciences, Košice; University of Forestry and Woodworking, Zvolen): The effects of methanol-extracted sawdust on the digestion of cellulose, hay and wheat bran *in vitro*. *Veter. Med. (Praha)*, 35, 1990 (7) : 391 — 396.

An experiment was treated to investigate the effects of an extract of conditioned beech sawdust (80% methanol extraction) on the *in vitro* digestion of cellulose and on the digestion of hay and wheat bran diet (80 to 20 %) in a artificial rumen (Rusitec). The addition of 10, 25, 50, 75 mg of extract to 0.25 g cellulose reduced significantly its digestibility from 94.5 to 92.9 %; 90.4; 85.2; 82.1 and 80.1 %, respectively. The addition of 0.6, 1.5 and 3.0 g of extract to 14 g diet DM in Rusitec decreased the digestibility from 49.6 to 41.8 %. Gas (CO_2 , H_2 , CH_4) production increased as well as the production of total volatile fatty acids: acetic, propionic, n-butyric and isobutyric, glucose utilization and ATP production were also better. The addition of extracts did not influence significantly the effectiveness of microbial proteosynthesis ($\text{Y}_{\text{АТР}}$). The methanol extract of conditioned beech sawdust contained reducing sugars (saccharides), besides the phenolic substances (syringaldehyde and vanillin); these sugars influenced diet fermentation in Rusitec.

methanol extract; conditioned beech sawdust; fermentation *in vitro*; Rusitec

JALČ, D. — ZELENÁK, I. — BUČKO, J. — VENDRÁK, T. — SIROKA, P. (Institut für Physiologie landwirtschaftlicher Nutztiere der Slowakischen Akademie der Wissenschaften, Košice; Hochschule für Forst- und Holzwirtschaft, Zvolen): Einfluß von Methanolextrakt aus Sägespänen auf die Verdauung von Zellulose, Heu und Weizenkleie *in vitro*. *Veter. Med. (Praha)*, 35, 1990 (7) : 391 — 386.

Im Versuch untersuchten wir den Einfluß des durch Extraktion mittels 80 % igem Methanol aus aufbereiteten Buchensägespänen (UBP) gewonnenen Extrakts auf die Verdauung von Zellulose *in vitro* und auf die Verdauung einer aus Heu und Weizenkleie (80 : 20 %) bestehenden Diät in künstlichem Pansen (Rusitec). Durch Beigabe von 10, 25, 50, 75 und 100 mg des Extrakts zu 0,25 g Zellulose verminderte sich signifikant deren Verdaulichkeit von 94,5 % auf 92,9; 90,4; 85,2; 82,1 und 80,1 %. Durch Beigabe von 0,6, 1,5 und 3,0 g des Extrakts zu 14 g der DM-Diät in Rusitec verminderte sich deren Verdaulichkeit von 49,6 auf 41,8 %. Es erhöhte sich die Produktion der Gase (CO_2 , H_2 , CH_4), der flüchtigen Gesamtfettsäuren (UMK), der Essig-, Propion-, n-Butter- und Isobuttersäure, die Glukoseverwertung sowie die ATP-Produktion. Unter dem Einfluß der Beigabe des Extrakts änderte sich die Wirksamkeit der mikrobiellen Proteosynthese ($\text{Y}_{\text{АТР}}$) unwesentlich. Das UBP-Methanolextrakt enthielt neben phenolischen Substanzen (Syringaldehyd und Vanillin) auch reduzierende Stoffe (Sacharide), die die Fermentation der Diät in Rusitec beeinflussten.

Methanolextrakt; aufbereitete Buchensägespäne; Fermentation *in vitro*; Rusitec

Adresy autorov:

MVDr. Dušan Jalč, CSc., MVDr. Imrich Zelenák, DrSc., MVDr. Tibor Vendrák, RNDr. Peter Siroka, Ústav fyziológie hospodárskych zvierat SAV, Duklianských hrdinov 1/B, 040 01 Košice

Prof. ing. Ján Bučko, DrSc., Vysoká škola lesnícka a drevárská, Marxova 24, 960 53 Zvolen

ELÚCIA BAKTÉRIÍ ADHEROVANÝCH NA EPITEL BACHORA OVIEC A ICH ELEKTRÓNOMIKROSKOPICKÝ DÔKAZ

J. Legáth, M. Timkovičová, J. Tomáš, P. Javorský, M. Belák

LEGÁTH, J. — TIMKOVIČOVÁ, M. — TOMÁŠ, J. — JAVORSKÝ, P. — BELÁK, M. (Vysoká škola veterinárska, Košice; Ústav fyziológie hospodárskych zvierat SAV, Košice): *Elúcia baktérií adherovaných na epitel bachora oviec a ich elektrónomikroskopický dôkaz*. Veter. Med. (Praha), 35, 1990 (7): 397—402.

Vpracovala sa metóda umožňujúca získať čistý koncentrát baktérií adherovaných na epitel bachora oviec a preskúšala sa na 24 vzorkách bachorovej steny, získaných po usmrtení 12 oviec. Čistota získaného eluátu baktérií bola overená transmisnou elektrónovou mikroskopiou a negatívnym farbením s následným elektrónomikroskopickým vyhodnotením. V eluáte okrem bakteriálnych buniek neboli pozorované zvyšky krmiva, epitelu alebo iných nežiadúcich nečistôt. Percento výťažnosti našej metódy bolo určené rastrovacou elektrónovou mikroskopiou a predstavovalo 93,3 %. Získal sa izolovaný čistý koncentrát zmesi bakteriálnych kultúr predtým adherovaných na epitel bachora, ktorý sa dá využiť pre morfológické a biochemické štúdium tejto zaujímavej skupiny bachorových baktérií.

adherentné baktérie; elúcia; výťažnosť

Trávenie exogénnych krmovínových bielkovín u prežúvavcov je spojené s významnými bakteriálnymi premenami v predžalúdkoch. Predpokladá sa, že proteín a dusíkaté látky ako aj celulóza krmnej dávky sa menia v bachore prežúvavcov na únikové masné kyseliny, amoniak a iné metabolity (Matei a Playne, 1984; Meyer a i., 1983). Tamminga (1979) udáva, že až 90 % exogénnych rastlinných bielkovín sa v bachore premieňa na iné dusíkaté zlúčeniny. Pokusy *in vitro* dokázali, že táto premena závisí od viacerých faktorov, hlavne od rozpustnosti exogénnej bielkoviny (Henderickx a Demeyer, 1967). Okrem degradácie dochádza v bachore i k mikrobiálnej syntéze aminokyselín a bielkovín, ktoré sú transportované do črevného traktu, kde sú degradované a po reabsorpcii utilizované makroorganizmom. Pritom predstavujú podstatnú časť prekursorov pre proteosyntézu v tkanivách mimo tráviaceho traktu.

Stála pasáž krmiva tráviacim traktom prežúvavcov vytvára dobré podmienky pre rast mikroorganizmov. Zo 100 gramov organickej substancie krmiva sa v bachore nasynetizuje 3 až 3,5 g amino dusíka, čo odpovedá 20 g čistého proteínu (Hagemaster a Kaufman, 1974).

Z bachorových mikroorganizmov v procese trávenia a utilizácie majú najdôležitejšiu úlohu baktérie. Tieto rozdelili Cheng a Costerton (1980) do troch skupín. Sú to: baktérie bachorovej tekutiny, baktérie asociované na čiastočky krmiva a baktérie adherované na epitel bachora (epimurálne).

Baktérie adherujú na povrch krmovínových čiastočiek a na epitel bachora troma navzájom sa kombinujúcimi spôsobmi, a to adhéziou fyzikálnou, chemickou pomocou glykokalyxu a biologickou pomocou fimbrí a flagell. Pri rozmnožovaní a raste na povrchu epitelu alebo pevných častiach krmiva v bachore vytvárajú baktérie mikrokolonie, charakteristické svojou produkciou glykokalyxu. Tento, okrem adhézie, má dôležitú

úlohu pri nepriaznivých nutričných podmienkach ako depot živín, pri ochrane baktérií pred účinkom antimikrobiálnych látok (Rogers, 1974), bakteriofágov (Cheng a i., 1979), priemyselných biocídov (Costerton a Geesey, 1979), povrchovo aktívnych látok (Govan, 1975), antibiotík (Govan a Fyfe, 1978) a kyselín (Cheng a i., 1972).

Baktérie adherované na epitel bachora sa podieľajú okrem procesu degradácie a syntézy bielkovín aj na tvorbe anaeróbneho prostredia v bachore, na produkcii ureázy (McLean a i., 1985), na ochrane epitelu pred patogénnymi zárodkami a na recykлизácii epitelu bachora (Dinsdale a i., 1980).

Cieľom predloženej práce bolo: 1. vypracovať taký elučný postup, pomocou ktorého by sme získali koncentrát nepoškodených baktérií predtým adherovaných na epitel bachora, u ktorých by bolo možné študovať ich fyziologické, biochemické alebo morfológické vlastnosti; 2. dokázať čistotu a percento elúcie pomocou elektrónovej mikroskopie.

MATERIÁL A METÓDY

Vzorky bachora o veľkosti 200 až 300 cm² boli odobrané po usmrtení od 12 ks oviec, plemena slovenské merino, o hmotnosti 28 až 38 kg. Ovce boli kŕmené nasledovnou diétou: 1 kg lúčneho sena, 0,46 kg melasového krmiva, ktoré obsahovalo melasu, mačkaný ovos, pšeničnú kŕmnu múku, pšeničné a ražné otruby a minerálne kŕmne prísady.

Baktérie adherované na epitel bachora boli eluované izotonickým pufovaným vodným roztokom (pH 7) o zložení: 5 g NaCl; 2,15 g CH₃COONa; 0,35 g NaH₂PO₄; 1,0 g Na₂HPO₄ a 0,1 g MgCl₂ v 1000 ml roztoku. Bachorovú stenu sme trikrát premyli v 500 ml izotonického roztoku pri 20 °C, frakcionovali (postrihali na malé časti) a eluovali 60 minút pri teplote 4 °C za stáleho pretrepávania. Získaný eluát sme prefiltrovali cez štyrikrát zloženú gázu a diferenciálnou centrifugáciou vyčistili. Čiastočky krmiva a epitelu sme odstránili centrifugáciou pri 200 g (10 minút) a baktérie zo supernatantu prvej centrifugácie sme nechali sedimentovať pri 17 000 g 10 minút. Sediment sme trikrát premyli elučným roztokom a po poslednej centrifugácii podrobili elektrónovo-mikroskopickej analýze.

Čistú bakteriálnu frakciu z eluátu sme spracovali sukcesívnym postupom negatívneho farbenia za použitia štandardného farbiva kyseliny fosfowolfrámovej (2% pri pH 7).

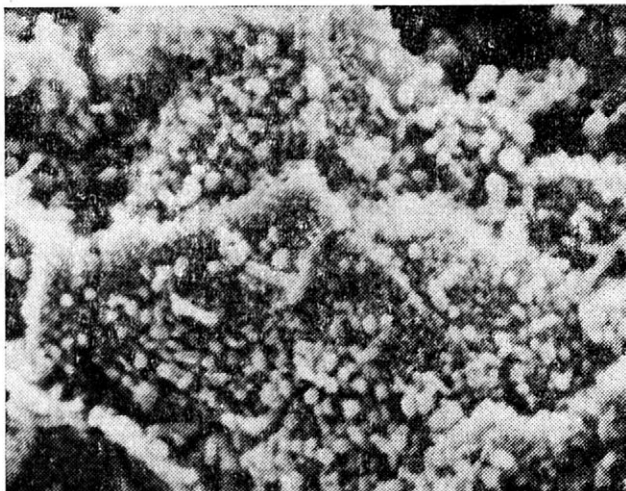
Pri spracovaní bachorovej bakteriálnej mikroflóry z eluátu pre transmisnú elektrónovú mikroskopiu boli k bakteriálnemu sedimentu pridané 2 ml fixačného roztoku 3% glutaraldehydu v 0,1 M kakodylátovom tlmivom roztoku (pH 7,2) a nechali stáť počas dvoch hodín pri teplote 4 °C. Potom baktérie boli dvakrát prepraté kakodylátovým tlmivým roztokom (0,1 M pH 7,2) a ďalej postfixované 1% oxidom osmičelým v R-K pufri (Ryder a Kellenberger, 1958) obsahujúcim 10 % tryptonu. Po preprati v R-K pufri boli baktérie zaliate do 2% agaru. Malé kocky o objeme 1 mm³ so zaliatým materiálom boli kontrastované 0,5% octanom uranylovým v R-K pufri a zaliate do Spurovho média. Ultratenké rezy zhotovené na ultramikrotóme LKB III, boli kombinovane kontrastované uranylacetátom (Watson, 1958) a citrátom olova (Reynolds, 1963) a vyhodnocované elektrónovým mikroskopom Tesla BS 613 pri urýchľovacom napätí 60 až 80 kV.

Súbežne boli pripravované vzorky bachora pre rastrovaciu elektrónovú mikroskopiu. Excízie odobrané z bachorovej steny pred elúciou — kontrola a po elúcii epimurálnych baktérií boli preprané v 0,1 M kakodylátovom tlmivom roztoku pri pH 7,2 a ďalej spracované modifikovanou metódou pre rastrovaciu elektrónovú mikroskopiu (Malick a Wilson, 1975). Spracovaný materiál sme prehliadali na rastrovacom elektrónovom mikroskope Tesla 300 pri urýchľovacom napätí 10 až 15 kV.

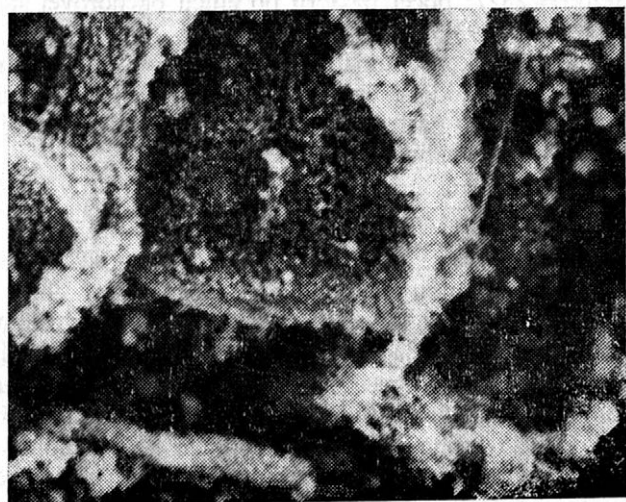
VÝSLEDKY

Z elektronogramov vzoriek neeluovanej bachorovej steny (kontroly) zhotovených rastrovacou elektrónovou mikroskopiou (obr. 1) a z elektronogramov vzoriek vyeluovanej bachorovej steny (obr. 2) zo všetkých 12 ks odporazených oviec je možné konštatovať, že po prepočte na jednu epiteliálnu bunku, elúcia epimurálnych baktérií predstavovala 93,3 % (počet epiteliálnych bachorových buniek, na ktorých boli spočítané baktérie v kontrole i v pokuse $n = 100$; počet baktérií z kontroly — pred elúciou bachorovej

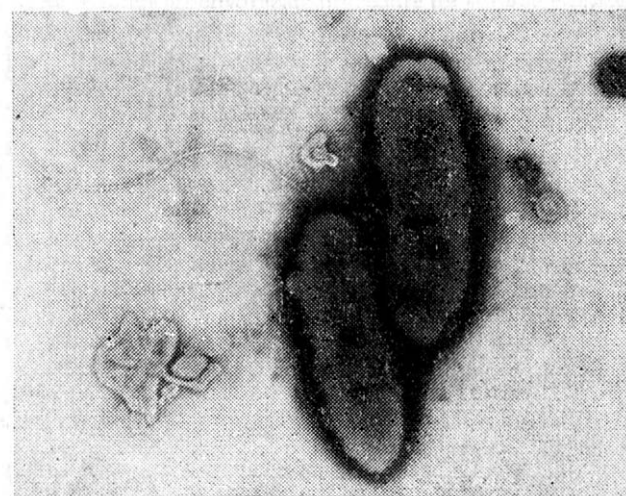
1. Baktérie adherované na epitel bachora (dorzálny vak); epiteliálne bunky, na ktorých sú adherované bachorové baktérie tyčinkovitého a kokovitého tvaru pred elúciou (spracované rastrovacou elektrónovou mikroskópiou, zv. 3200 $\times$) — Epithelium-adherent bacteria in the rumen (dorsal sac); epithelial cells with adherent rumen bacteria of rodlike and coccal shape before elution (scanning electron microscopy, enlarged 3200 $\times$)

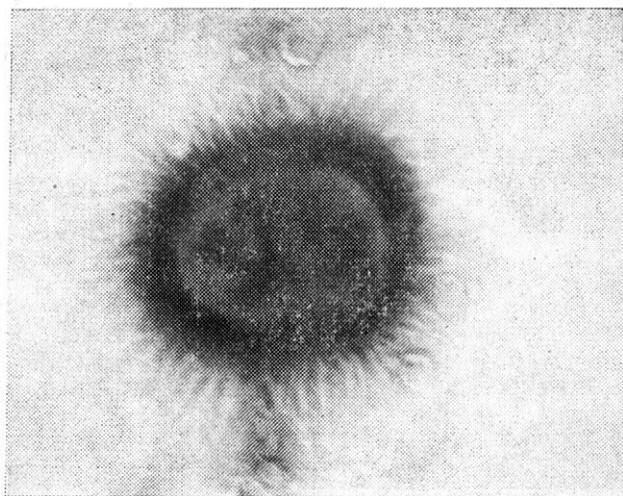


2. Epiteliálne bunky bachora po elúcii s ojedinelými sa vyskytujúcimi adherovanými bachorovými baktériami (spracované rastrovacou elektrónovou mikroskópiou, zv. 3700 $\times$) — Rumen epithelial cells, after elution, with scarcely occurring adherent rumen bacteria (scanning electron microscopy, enlarged 3700 $\times$)



3. Negatívne farbenie epimurálnej bachorovej baktérie; baktérie tyčinkovitého tvaru s nevýraznou mikrokapsulou, na povrchu ktorej sa nachádza exopolysacharid — glykokalyx s ojedinelými vybiehajúcimi flagelami (zv. 42 900 $\times$) — Negative staining of epimural rumen bacteria; bacteria of rodlike shape with undistinguished microcapsules; on their surface there is an exopolysaccharide — glyco-calyx with solitary flagella (enlarged 42 900 $\times$)





4. Negatívne farbenie epimurálnej bachorovej baktérie; baktéria oválneho tvaru s nezreteľnou mikrokapsulou, z ktorej po obvode do periferie vybiehajú husté a výrazné fimbrie (zv. 49 500 $\times$) — Negative staining of epimural rumen bacteria; oval-shaped bacteria with undistinguished microcapsules; dense and clearly distinguished fimbriae are radiating from the microcapsule periphery (enlarged 49 500 $\times$)

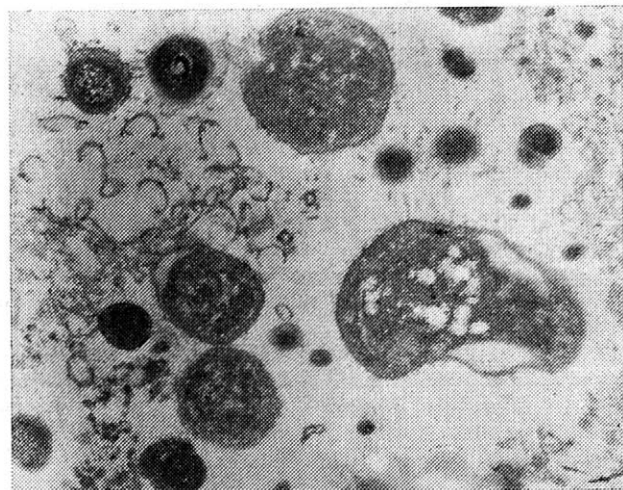
steny = 2527; počet baktérií po elúcii bachorovej steny = 153 ks, čo činí 6,7 %, t. j. výťažnosť = 93,3 %).

Z výsledkov jednoznačne vyplýva, že popísaným postupom (elúciou) sme získali čisté a nepoškodené epimurálne baktérie, čo dokazujú obr. 3, 4 a 5. Tento koncentrát baktérií možno následne použiť pre kvalitatívne, resp. kvantitatívne biochemické alebo morfológické analýzy.

DISKUSIA

Vypracovanou metódou sme získali čistý eluát baktérií pred tým adherovaných na epitel bachora, ktoré tvoria asi 1 až 3 % z celkového počtu bachorových baktérií. Tieto baktérie patria prevažne do skupiny gram pozitívnych zárodkov, ktoré sú schopné produkovať exopolysacharid — glykokalyx, umožňujúci baktériám sa adherovať na epiteliálne bachorové bunky a tam vytvárať mikrokolonie (Cheng a Costerton, 1980).

Okrem iného glykokalyx zohráva veľkú úlohu pri látkovej výmene bakteriálnej bunky s tým, že umožňuje kumuláciu niektorých živín a enzýmov na povrchu bakteriálnej bunky (Costerton, 1985).



5. Ultratenký rez koncentráta eluovaných epimurálnych bachorových baktérií (spracované transmisnou elektrónovou mikroskopiou, zv. 23 000 $\times$) — Ultra-thin section of the concentrate of eluted epimural rumen bacteria (transmission electron microscopy, enlarged 23 000 $\times$)

Uvedené funkcie bakteriálnej steny, ale aj celé bunky je možné sledovať len na nepoškodených mikroorganizmoch. Naša prezentovaná metóda na rozdiel od iných elučných postupov ako je uvoľňovanie natravovaním tripsínom a fenitolom (Cheng a i., 1979) umožňuje podobne ako metóda Javorského a i. (1983) získať nepoškodené bakteriálne bunky (93,3 % oproti 61 % prezentovaných v práci Javorský a i., 1983), ktoré je možné ďalej morfológicky alebo biochemicky analyzovať, študovať elektrónovou mikroskopiou.

Štúdium čistej nepoškodenej zmesi kultúr epimurálnych bachorových baktérií získaných našou popísanou metódou umožňuje bližšie objasňovať niektoré detaily zložitých procesov v bachorovom ekosystéme. Vysoká výťažnosť a čistota izolovaných epimurálnych baktérií umožňuje aj ich kvantifikáciu.

Literatúra

- COSTERTON, J. W.: The role of bacterial exopolysaccharides in nature and disease. *Dev. ind. Microbiol.*, 26, 1985, s. 249–261.
- COSTERTON, J. W. – GEESEY, G. G.: Microbial contamination of surfaces. In: *Surface contamination*. Ed. K. L. Mittal. Plenum Publishing Corp., New York 1979, s. 211–221.
- DINSDALE, D. – CHENG, K. J. – WALLACE, R. J. – GOODLAD, R. A.: Digestion of epithelial tissue of the rumen wall by adherent bacteria infused and conventionally fed sheep. *Appl. environ. Microbiol.*, 39, 1980, s. 1059–1066.
- GOVAN, J. R. W.: Mucoid strains of *Pseudomonas aeruginosa*: the influence of culture medium on the stability of mucus production. *J. med. Microbiol.*, 8, 1975, s. 513–522.
- GOVAN, J. R. W. – FYFE, J. A. M.: Mucoid *Pseudomonas aeruginosa* and cystic fibrosis: resistance of the mucoid from to carbenicillin, flucloxacillin, and tobramycin and the isolation of mucoid variants *in vitro*. *J. antimicrob. Chemother.*, 4, 1978, s. 233–240.
- HAGEMAISTER, H. – KAUFMAN, W.: Effect of dietary nitrogen on utilization of proteins or amino acids in intestines of dairy cows. *Kieles Milchwirtschaftliche Forschungsberichte*, 26, 1974, s. 119–120.
- HENDERICKX, H. K. – DEMEYER, D. I.: Ammonia production by rumen microbes *in vitro*. *Naturwissenschaften*, 14, 1967, s. 369–375.
- CHENG, K. J. – COSTERTON, J. W.: Adherent rumen bacteria – their role in the digestion of plant material, urea and epithelial cells. In: *Digestive physiology and metabolism in ruminants*. Ed. Ruckebusch Y., Thirend P., MTP Press Ltd., England 1980, s. 227–250.
- CHENG, K. J. – DAY, D. F. – COSTERTON, J. W. – INGRAM, J. M.: Alkaline phosphatase subunits in the culture filtrate of *Pseudomonas aeruginosa*. *Can. J. Biochem.*, 50, 1972, s. 268–276.
- CHENG, K. J. – McCOWAN, R. P. – COSTERTON, J. W.: Adherent epithelial bacteria in ruminants and their roles in digestive tract function. *J. clin. Nutr.*, 32, 1979, s. 139–148.
- JAVORSKÝ, P. – KMET, V. – HAVASSY, I. – KOČIŠOVÁ, E. – RYEOŠOVÁ, E.: Elution of adherent bacteria from the ovine rumen wall. *Biológia*, 38, 1983, s. 221–226.
- MALICK, L. E. – WILSON, R. B.: Modified thiocarbonylhydrazide procedure for scanning electron microscopy: routine use for normal, pathological, or experimental tissues. *Stain Technol.*, 50, 1975, s. 265–269.
- MATEI, C. H. – PLAYNE, M. J.: Production of volatile fatty acids from bagasse by rumen bacteria. *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, 20, 1984, s. 170–175.
- MC LEAN, R. J. C. – CHENG, K. J. – GOULD, W. D. – COSTERTON, J. W.: Cytochemical localization of urease in a rumen *Staphylococcus* sp. by electron microscopy. *Appl. Environ. Microbiol.*, 49, 1985, s. 253–255.
- MEYER, J. – WOLLIN, M. J. – MILLER, T. L.: Interactions in cellulose fermentation. *Federation Proceedings* 42, 1983, s. 109–113.
- REYNOLDS, E. S.: The use of lead citrate at high pH as an electronopaque stain in electron microscopy. *J. Cell Biol.*, 19, 1963, s. 208–212.
- ROGERS, A. H.: Bacteriocin production and susceptibility among strains of *Streptococcus mutans* grown in the presence of sucrose. *Antimicrob. Agents Chemother.*, 6, 1974, s. 547–550.
- RYTER, A. – KELLENBERGER, E.: Étude au microscope électronique de plasma contenant de l'acide dioxiribonucleic. I. Les nucléotides des bactéries en croissance active. *Z. Naturforsch.*, 13b, 1958, s. 597–605.
- TAMMINGA, S.: Nitrogen degradation in the forestomachs of ruminants. *J. anim. Sci.*, 49, 1979, s. 1615–1630.
- WATSON, W. L.: Staining of tissue sections for electron microscopy with heavy metals. *J. Biophys. Biochem. Cytol.*, 4, 1958, s. 475–478.

Došlo dňa 2. 5. 1989

ЛЕГАТ, Я. — ТИМКОВИЧОВА, М. — ТОМАШ, Я. — ЯВОРСКИ, П. — БЕЛАК, М. (Институт ветеринарии, Кошице; Институт физиологии скота при САН, Кошице): Элюирование бактерий, адгерирующих на эпителии рубца у овец и их электроново-микроскопическое доказательство. *Veter. Med. (Praha)*, 35, 1990 (7): 397-402.

Разработанный метод позволяет получать чистый концентрат из бактерий, адгерирующих на упомянутом эпителии. Он испытан на 24 образцах рубцовой стенки от 12 овец. Чистоту полученного элюата бактерий проверяли с помощью трансмиссионной электронмикроскопии и негативного окрашивания с последующей электроново-микроскопической оценкой. В элюате помимо бактериальных клеток не отмечены ни остатки кормов, ни эпителия или других нежелательных примесей. Процент выхода по нашему методу обусловлен растрелектронмикроскопией и составил 93,3 %. Мы получили изолированный чистый концентрат смеси из бактериальных культур, предварительно адгерирующих на эпителии рубца, который послужил для морфологических и биохимических исследований этой интересной группы рубцовых бактерий.

адгерентные бактерии; элюирование; выход

LEGÁTH, J. — TIMKOVIČOVÁ, M. — JAVORSKÝ, P. — BELÁK, M. (University of Veterinary Medicine, Košice; Institute of Farm Animal Physiology, Slovak Academy of Sciences, Košice): *Elution of epithelium-adherent bacteria in sheep rumen and their electron-microscopic proof*. *Veter. Med. (Praha)*, 35, 1990 (7): 397-402.

A method of preparing the pure concentrate of epithelium-adherent bacteria in sheep rumen was worked out and it was tested in 24 samples of the rumen wall, obtained from 12 slaughtered sheep. The purity of the bacterial eluate was checked by transmission electron microscopy and negative staining, followed by electron-microscopic evaluation. Besides bacterial cells no residues of feed, epithelium and other undesirable impurities were found out in the eluate. The percent yield of this method was determined by scanning electron microscopy and it made 93.3 %. An isolated pure concentrate of the mixture of bacterial cultures, previously adhered to the rumen epithelium, was prepared which can be used for morphological and biochemical studies of this interesting group of rumen bacteria.

adherent bacteria; elution; yield

LEGÁTH, J. — TIMKOVIČOVÁ, M. — TOMÁŠ, J. — JAVORSKÝ, P. — BELÁK, M. (Veterinärmedizinische Hochschule, Košice; Institut für Physiologie landwirtschaftlicher Nutztiere der Slowakischen Akademie der Wissenschaften, Košice): *Elution von auf das Pansenepithel von Schafen adhärennten Bakterien und deren elektronenmikroskopischer Nachweis*. *Veter. Med. (Praha)*, 25, 1990 (7): 397-402.

Ausgearbeitet wurde eine Methode, die das Gewinnen eines reinen Konzentrats von auf Schaf-pansenepithel adhärennten Bakterien ermöglicht. Die Methode wurde an 24, nach der Tötung von 12 Schafen gewonnenen Proben der Pansenwand überprüft. Die Reinheit des gewonnenen Bakterieneluats wurde mittels Transmission-Elektronenmikroskopie und negativer Färbung mit nachfolgender elektronenmikroskopischer Bewertung überprüft. Im Eluat wurden außer Bakterienzellen keine Futter- oder Epithelreste sowie keine anderen unerwünschten Unreinheiten beobachtet. Das Ausbeuteprozent unserer Methode wurde mittels Raster-Elektronenmikroskopie bestimmt und stellte 93,3 % dar. Es wurde ein isoliertes reines Konzentrat eines Gemisches von Bakterienkulturen gewonnen, die vorher auf das Pansenepithel adhärennt waren. Dieses Konzentrat kann für morphologische und biochemische Studien dieser interessanten Gruppe der Pansenbakterien angewandt werden.

adhärennte Bakterien; Elution; Ausbeute

Adresy autorov:

MVDr. Jaroslav Legáth, MVDr. Mária Timkovičová, prof. MVDr. Ján Tomáš, DrSc., prof. MVDr. Milan Belák, DrSc., Vysoká škola veterinárnska, Komenského 73, 041 81 Košice
RNDr. Peter Javorský, CSc., Ústav fyziológie hospodárskych zvierat, Dukelských hrdinov 1/B, 040 01 Košice

POSTMORTÁLNY METABOLIZMUS GLYKOGÉNU SVALOV ZDRAVÝCH OŠÍPANÝCH A OŠÍPANÝCH POSTIHNUTÝCH SYNDRÓMOM MALIGNEJ HYPERTERMIE

P. Uhrín

UHRÍN, P. (Výskumný ústav živočišnej výroby, Nitra): *Postmortálny metabolizmus glykogénu svalov zdravých ošípaných a ošípaných postihnutých syndrómom malignej hypertermie*. Veter. Med. (Praha), 35, 1990 (7): 403—409.

V práci sme sledovali priebeh glykolýzy *post mortem* u ošípaných zdravých a ošípaných postihnutých syndrómom malignej hypertermie. Glykolýza vo svaloch ošípaných náchylných na tento syndróm je časovo posunutá, začína skôr ako vo svaloch zvierat rezistentných voči tomuto syndrómu. Svedčia o tom nižšie hodnoty glykogénu, vyššie hodnoty laktátu ako aj nižšie pH už v čase 15 minút po zabití tejto skupiny zvierat. Vo svaloch ošípaných postihnutých syndrómom malignej hypertermie záťaž pred porážkou urýchľuje priebeh glykolýzy. Prejavuje sa to predovšetkým rýchlejšim zvýšením obsahu laktátu a rýchlejšim poklesom pH vo všetkých sledovaných časoch. U ošípaných nenáchylných na tento syndróm sme významnejšie zrýchlenie priebehu glykolýzy po záťaži nezistili. K deplécii glykogénu dochádza u oboch skupín zvierat vo všetkých troch typoch svalových vlákien, najväčší úbytok sme však pozorovali v bielych vláknach.

ošípané; syndróm malignej hypertermie; svalové vlákna; glykolýza *post mortem*

Syndróm malignej hypertermie (SMH) ošípaných je hereditárna porucha, ktorá sa prejavuje pri celkovej anestéze halotanom (2-bromo-2-chloro-1,1,1-trifluoretan) alebo po podaní depolarizačného relaxantu sukcinylcholínu. Prejavuje sa rigiditou kostrových svalov, predovšetkým svalov končatín, zrýchlením srdcovej činnosti, jeho arytmiou, dýchacími ťažkosťami a končí smrťou v dôsledku insuficiencie srdca, obličiek, prípadne poškodením mozgu (Sybesma a Eikelenboom, 1969; Mc Loughlin, 1977; Kalow, 1978; Harriman, 1988). Také isté príznaky možno pozorovať aj v priebehu stresového syndrómu ošípaných (PSS — porcine stres syndrom). Mitchell a Heffron (1980) a Tarasov (1982) vo svojich súborných prácach popisujú pri PSS ochabnutie svalstva chvosta, dýchacie ťažkosti, zrýchlenie dýchania a srdcovej činnosti, najprv blednutie, potom sčervenenie a nakoniec cyanózu kože. Pritom sa prudko zvyšuje teplota tela, dostavuje sa stuhlosť svalov a kolaps. Zvierat hynie v šoku.

Pri 60 až 70 % prasiat náchylných na stres vzniká po ich zabití mäso PSE (Tarasov, 1982). Podobne je tomu aj pri mäse naprostej väčšiny zvierat postihnutých syndrómom malignej hypertermie.

Medzi jednotlivými syndrómami existuje bezprostredný vzťah v smere PSS → SMH → PSE. Syndróm malignej hypertermie i stresový syndróm sprevádzajú poruchy metabolizmu, centrálného i periférneho nervového systému, zmeny hladiny hormónov a iné zmeny. Pozornosť sa sústreďuje najmä na svalovú sústavu, lebo len svalstvo je schopné v krátkej dobe vyprodukovať veľké množstvo tepla, laktátu a sérovej kreatinkinázy. Tento myogénny aspekt sa spája so vzostupom koncentrácie Ca^{2+} v sarkoplazme.

Glykogén v kostrovom svalu predstavuje významný zdroj energie, ktorá sa v procese glykolýzy uvoľňuje jeho rozkladom. Embdenovou - Meyerhofovou cestou. Úloha glykogénu ako dôležitého zdroja energie je známa už dávnejšie (Hultman, 1967; Sherman, 1983). V procese glykolýzy sa vytvára laktát, tvorba ktorého má za následok pokles pH.

Pretože tieto procesy sú veľmi dôležité pre vývoj kvality mäsa najmä počas jeho premien v postmortálnom období, pristúpili sme k sledovaniu priebehu glykolýzy vo svaloch ošipaných postihnutých syndrómom malignej hypertermie a u ošipaných zdravých. Tiež sme sledovali, ako vplýva záťaž pred porážkou na priebeh glykolýzy vo svaloch oboch skupín zvierat.

MATERIÁL A METÓDA

V práci sme použili osem ošipaných, ktoré pri halotanovej anestéze reagovali malignou hypertermiou (H^+). Z nich sme päť ošipaných porážali po šetrnom zaobchádzaní a oddychu (H^+n) a tri ošipané sme vystavili záťaži (H^+s).

Ako kontrolu sme použili 11 ošipaných rezistentných voči malignej hypertermii, ktoré pri testovaní halotanovou anestézou reagovali negatívne (H^-), tri z nich sme pred porážkou vystavili záťaži (H^-s), osem sme porážali po šetrnom zaobchádzaní a oddychu (H^-n).

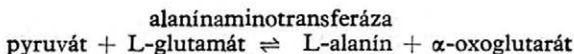
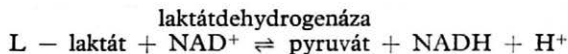
Záťaž u oboch skupín spočívala v nešetrnom naháňaní na porážkovú linku a v trojnásobnom elektrickom šoku napätím 220 V v trvaní 0,5 sekundy.

Vzorky pre analýzy sme odoberali z *m. longissimus thoracis* a analyzovali sme ich v časoch 15, 75 minút a 6 hodín *post mortem*. K pokusom sme použili krížencov F_2 generácie plemien landrase $\times$ durok. Zvieratá sme porážali vo veku 180 dní pri priemernej živej hmotnosti 100 až 110 kg. Ošipané boli kŕmené štandardným krmivom.

Pre stanovenie typov svalových vlákien sme použili reakciu pre dôkaz sukcinátdehydrogenázy (SDH; sukcinát: akceptor oxidoreduktáza, E.C.1.3.99.1). Princíp reakcie je založený na redukcii tetrazoliových solí, ktoré sú rozpustné vo vode a málo zafarbené. Pri ich redukcii vzniká nerozpustný farebný formazán.

Pre dôkaz glykogénu sme použili PAS reakciu (Vacek, 1974). Obsah glykogénu vo svaloch sme stanovili podľa metodiky, ktorú vypracoval Korec (1967).

Metodika stanovenia laktátu je založená na kolorimetrickom stanovení produktov nasledovných reakcií:



Pre stanovenie sme použili test "Test-Combination Lactate fully enzymatic" fy Boehringer.

pH sme merali digitálnym pH metrom fy Radelkis s kontaktnou kombinovanou argentchloridovou a sklenou elektródou fy Ingold. Vzorku svalu sme narezali malým rezom do hĺbky asi 1,5 cm a v tomto mieste sme vsunuli do reznej rany elektródu tak, aby bola v dokonalom kontakte s tkanivom. pH sme merali na rozdiel od vyššie uvedených časových intervalov častejšie, t.j. 15, 35, 55, 75, 105 minút, 6 a 24 hodín *post mortem*, v každom časovom intervale paralelne na dvoch miestach.

Z nameraných hodnôt v jednotlivých experimentoch sme vypočítali stredné hodnoty, smerodajnú odchýlku a variačný koeficient v percentách. Stredné hodnoty sme porovnávali párovým *t*-testom.

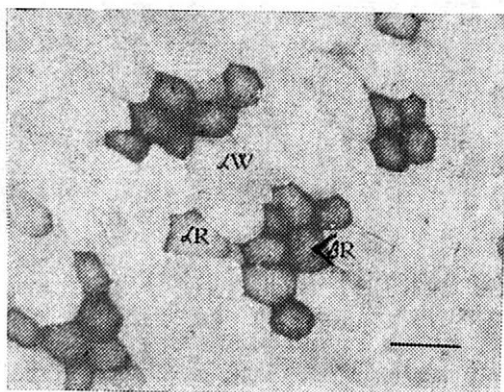
VÝSLEDKY

Výsledky histochemického stanovenia typov svalových vlákien pomocou reakcie na sukcinátdehydrogenázu v *m. longissimus thoracis* (MLT) uvádzame na obr. 1. Tento sval pozostáva zo všetkých troch typov svalových vlákien. Ich distribúcia pozorovaná na priečnom reze je pravidelná tak, že na periférii snopcov sú vlákna biele, v centre snopcov sú vlákna červené, resp. intermediárne. Pri analýze ich zastúpenia sme zistili, že v našich pokusných skupinách sa výrazne nelíšia (tab. I). Ošipané, ktoré reagovali na halotanovú anestéziu malignou hypertermiou majú v priemere rovnako hrubé svalové vlákna ($87,8 \pm 3,6 \mu\text{m}$) ako ošipané s negatívnou reakciou ($87,0 \pm 6,1 \mu\text{m}$).

I. Zastúpenie počtu a podiel plochy jednotlivých typov svalových vlákien na priereze MLT ošipáných H⁻ a H⁺ — The number and the area of individual types of muscular fibres in the MLT cross-section in H⁻ and H⁺ pigs

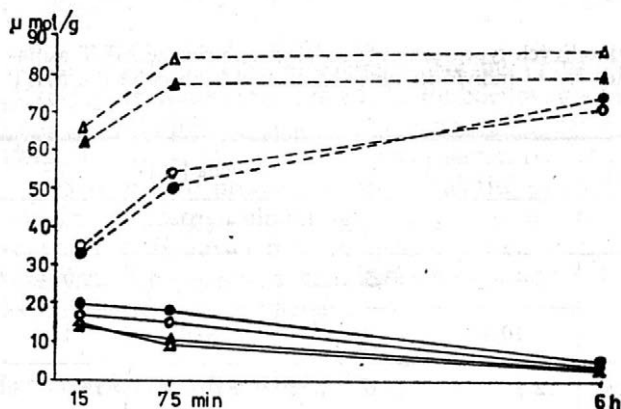
Skupina		Počet [%]			Plocha [%]		
		βR	αR	αW	βR	αR	αW
H ⁻	$\bar{x} \pm s$	17,0 $\pm$ 6,4	10,6 $\pm$ 3,4	72,4 $\pm$ 7,8	13,5 $\pm$ 6,3	9,5 $\pm$ 4,0	77,0 $\pm$ 8,4
	v	37,4	32,7	10,4	46,9	42,0	11,0
H ⁺	$\bar{x} \pm s$	17,6 $\pm$ 3,8	9,9 $\pm$ 2,6	72,5 $\pm$ 4,6	15,0 $\pm$ 2,8	9,1 $\pm$ 2,1	75,9 $\pm$ 3,6
	v	21,6	25,0	6,3	18,7	23,1	4,7

1. Priechy prierez MLT; αW - biele, αR - intermediárne, βR - červené vlákna; úsečka = 100 μm (SDH) — MLT in cross-section; αW - white, αR - intermediary, βR - red fibres; line segment = 100 μm (SDH)



II. Zmeny obsahu glykogénu v $\mu mol \cdot g^{-1}$ čerstvého svalu ošipáných v MLT *post mortem* — *Post mortem* changes in the glycogen content in μmol per g fresh muscle of pigs — MLT

Skupina		Čas		
		15 min	75 min	6 h
H ⁻ bez záťaže	$\bar{x} \pm s$	19,46 $\pm$ 3,12	18,02 $\pm$ 1,81	5,50 $\pm$ 1,59
	v	16,03	10,04	28,91
H ⁻ po záťaži	$\bar{x} \pm s$	17,26 $\pm$ 1,47	15,60 $\pm$ 2,54	4,06 $\pm$ 1,98
	v	8,52	16,28	48,77
H ⁺ bez záťaže	$\bar{x} \pm s$	14,33 $\pm$ 2,71	10,87 $\pm$ 2,52	5,33 $\pm$ 1,17
	v	18,91	23,18	21,95
H ⁺ po záťaži	$\bar{x} \pm s$	14,56 $\pm$ 3,42	9,58 $\pm$ 2,28	3,85 $\pm$ 0,76
	v	23,49	23,80	19,74

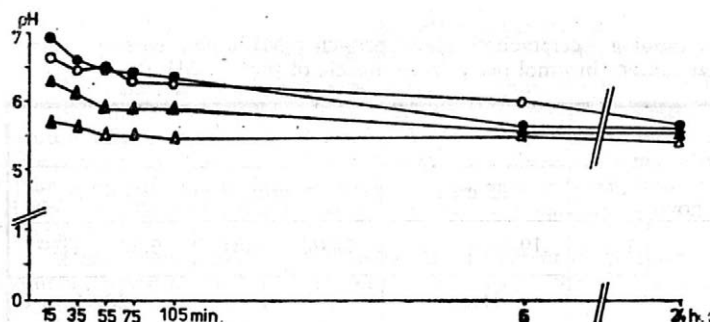


2. Zmeny obsahu glykogénu a laktátu v MLT *post mortem* — *Post mortem* changes in the contents of glycogen and lactate in MLT

H-n ●—● glykogén, ●---● laktát; H+n ▲—▲ glykogén, ▲---▲ laktát; H-s ○—○ glykogén, ○---○ laktát; H+s △—△ glykogén, △---△ laktát (platí i pro obr. 4)



3. Priečný prierez MLT. PAS reakcia; deplécia glykogénu v bielych vláknach (šípka), v červených vláknach (dvojitá šípka); úsečka = 100 μm — MLT in cross-section. PAS reaction; glycogen depletion in white fibres (arrow), in red fibres (double arrow); line segment = 100 μm



4. Zmeny pH v MLT prašiat v priebehu 24 hodín *post mortem* — *Post mortem* changes in MLT of pigs during 24 hours

Výsledky stanovenia glykogénu a laktátu uvádzame v tab. II a na obr. 2. Ako vidno v tab. II hodnoty glykogénu v čase 15 minút *post mortem* u ošípaných skupiny H⁺ sú nižšie než hodnoty glykogénu oboch skupín H⁻. Štatisticky významný rozdiel pozorujeme medzi skupinami H⁺ a H⁻ bez záťaže. Počas šiestich hodín *post mortem* dochádza u všetkých skupín k výraznému poklesu hodnôt glykogénu. Jeho hodnoty v tomto čase dosahujú asi 25 % z hodnôt, ktoré sme zistili v čase 15 minút *post mortem* a sú približne rovnaké u všetkých sledovaných skupín.

K deplécii glykogénu dochádza vo všetkých troch typoch svalových vlákien. Ako sme to mohli pozorovať pri hodnotení PAS reakcie (obr. 3), väčšie zásoby glykogénu ostávajú v červených a intermediárnych vláknach, kým z bielych vlákien sa glykogén stráca už

Skupina		Čas		
		15 min	75 min	6 h
H ⁻ bez záťaže	$\bar{x} \pm s$	30,36 $\pm$ 5,48	50,13 $\pm$ 12,08	74,71 $\pm$ 12,47
	<i>v</i>	18,06	24,09	16,69
H ⁻ po záťaži	$\bar{x} \pm s$	34,99 $\pm$ 9,91	54,61 $\pm$ 10,80	72,00 $\pm$ 14,21
	<i>v</i>	28,32	19,78	19,74
H ⁺ bez záťaže	$\bar{x} \pm s$	61,96 $\pm$ 20,06	77,26 $\pm$ 6,15	79,47 $\pm$ 12,14
	<i>v</i>	32,36	7,96	15,28
H ⁺ po záťaži	$\bar{x} \pm s$	66,21 $\pm$ 11,17	84,99 $\pm$ 9,27	86,87 $\pm$ 12,09
	<i>v</i>	16,87	10,91	13,92

za 15 minút po zabití. Nie je to však pravidlom, lebo vo svaloch jednotlivých zvierat existuje pomerne veľká variabilita. Ani intenzita reakcie v jednotlivých vláknach toho istého typu nie je rovnaká. Tak môžeme vidieť vedľa seba napr. biele vlákna, kde v jednom došlo k úplnej deplécii glykogénu a PAS reakcia je negatívna, ale v susednom vlákne je intermediárna.

Vo svaloch zvierat senzitívnych voči halotanu sme pozorovali vo väčšine prípadov depléciu glykogénu v bielych vláknach, potom vo vláknach intermediárnych, kým v červených boli zásoby glykogénu väčšie. Vo svaloch zvierat rezistentných voči halotanu sa častejšie vyskytovala intenzívnejšia reakcia v bielych vláknach. Záťaž pred porážkou depléciu glykogénu v bielych a intermediárnych vláknach zvýšila.

Z výsledkov stanovenia laktátu, uvedených v tab. III a obr. 2 vyplýva, že v čase 15 minút *post mortem* obsahujú svaly ošipáných náchylných na syndróm malignej hypertermie asi dvojnásobné množstvo laktátu v porovnaní s ošipánymi s negatívnou reakciou na halotan.

Hodnoty pH, ktoré uvádzame na obr. 4 v čase 15 minút *post mortem* sú najvyššie u skupiny H⁻ bez záťaže, potom klesajú v poradí H⁻ po záťaži, H⁺ bez záťaže a H⁺ po záťaži. Záťaž nevyplýva štatisticky významne na hodnoty pH v rámci skupín s negatívnou reakciou na halotan. K štatisticky významnému poklesu však dochádza vo svaloch zvierat H⁺ po záťaži v porovnaní so zvieratami H⁺ bez záťaže. Štatisticky významný pokles pozorujeme aj pri porovnaní zvierat H⁻ bez záťaže a H⁺ bez záťaže.

Vo svaloch ošipáných náchylných na syndróm malignej hypertermie dochádza teda k rýchlejšiemu poklesu hodnot pH. Záťaž rýchlosť poklesu ešte zvyšuje.

pH všetkých skupín dosahuje v čase 24 hodín *post mortem* približne rovnaké hodnoty.

DISKUSIA

Z výsledkov práce vyplýva, že glykolýza prebieha rýchlejšie u ošipáných náchylných na syndróm malignej hypertermie než u zdravých ošipáných. Pozorujeme tu rýchlejší pokles hodnot glykogénu, rýchlejší nárast hodnot laktátu a tiež s tým súvisiaci rýchlejší

pokles hodnot pH. K podobným záverom dospeli Kastenschmidt a i. (1968), ktorí napr. už v čase tri minúty *post mortem* stanovili vo svalu ošipaných zdravých 30 až 40 μmol laktátu v grame čerstvého svalu, kdežto u ošipaných náchylných na syndróm malignej hypertermie hodnoty laktátu v tomto čase dosahovali 60 μmol v grame svalu. Rýchlejšie pokles u ošipaných postihnutých syndrómom malignej hypertermie popisujú aj Bendall a i. (1963), ktorí zistili až dvojnásobne vyššiu rýchlosť poklesu pH u ošipaných postihnutých týmto syndrómom.

Záťaž, ktorej boli vystavené ošipané bezprostredne pred porážkou, urýchľuje priebeh glykolýzy u ošipaných postihnutých syndrómom malignej hypertermie, u ošipaných zdravých sme zrýchlenie priebehu glykolýzy nepozorovali. K aktivácii procesu glykolýzy u ošipaných postihnutých syndrómom malignej hypertermie dochádza v dôsledku zvýšeného uvoľňovania iónov Ca^{2+} zo sarkoplazmatického retikula, v dôsledku čoho dochádza ku kontrakciám svalov, tvorbe tepla za súčasnej aktivácie fosforylázy b kinázy (Mitchell a Heffron, 1980), ktorá stimuluje proces glykolýzy.

V poslednom období bola vypracovaná teória (Cheah, 1984; Cheah a i., 1986), podľa ktorej možno zvýšenú hladinu Ca^{2+} pripočítať vyššej aktivite fosfolipázy A_2 . Tento enzým v mitochondriách zodpovedá za zvýšené uvoľňovanie mitochondriálneho Ca^{2+} . Zvýšené vylučovanie Ca^{2+} z mitochondrií a zvýšená tvorba a vylučovanie mastných kyselín tvoriacich sa z mitochondriálnych fosfolipidov vyvolávajú vyplavenie sarkoplazmatického Ca^{2+} do cytoplazmy. Tieto ióny sa uvoľňujú buď v dôsledku Ca^{2+} indukovaného uvoľňovania, alebo indukciou mastnými kyselinami, ktoré inhibujú schopnosť sarkoplazmatického retikula viazať Ca^{2+} zo sarkoplazmy. Za zvýšenie aktivity fosfolipázy A_2 zodpovedá vyššia tvorba kalmódulínu, ktorú možno pozorovať v mitochondriách svalov postihnutých jedincov.

Literatúra

- BENDALL, J. R. — HALLUND, O. — WISMER-PEDERSEN, J.: Post-mortem changes in the muscles of Landrace pigs. *J. Fd Sci.*, 28, 1963, s. 156—162.
- CHEAH, K. S.: Skeletal muscle mitochondria and phospholipase A_2 in malignant hyperthermia. In: *Biochem. Soc. Transactions*, 606th Meeting, Cork, on 27—30 Sept. 1983, 1984, 12, s. 358—360.
- CHEAH, K. S. — CHEAH, A. M. — WARING, J. C.: Phospholipase A_2 activity, calmodulin, Ca^{2+} and meat quality in young and adult halothane-sensitive and halothane-insensitive British Landrace pigs. *Meat Sci.*, 17, 1986, s. 37—53.
- HARRIMAN, D. G. F.: Malignant hyperthermia myopathy — a critical review. *Brit. J. Anaesth.*, 60, 1988, s. 309—316.
- HULTMAN, E.: Physiological role of muscle glycogen in man, with special reference to exercise. *Circulation Res.*, 20/21, 1967, s. 1—99, s. 1—114.
- KALOW, W.: Malignant hyperthermia. *Hum. Genet.*, 1978, s. 69—70.
- KASTENSCHMIDT, L. L. — HOEKSTRA, W. G. — BRISKEY, E. J.: Glycolytic intermediate and co-factors in „fast and slow-glycolyzing muscle“ of the pig. *J. Fd Sci.*, 33, 1968, s. 151 až 158.
- KOREC, R.: Experimental diabetes mellitus in the rat. In: Publishing House of the Slovak Academy of Sciences, Bratislava 1967.
- McLOUGHLIN, J. V.: Malignant hyperthermia in pig: aetiology, therapy and implications. *Veter. Sci., Commun.*, 1, 1977, s. 153—160.
- MITCHELL, G. — HEFFRON, J. J.: Porcine stress syndrome: A mitochondrial defect? *S. Afr. J. Sci.*, 76, 1980, s. 546—551.
- SHERMAN, W.: Carbohydrates, muscle glycogen, and muscle glycogen supercompensation. In: WILLIAMS: *Ergogenic acids in sport*. Human Kinetics Publishers, Champaign 1983, s. 3—26.
- SYBESMA, W. — EIKELBOOM, G.: Malignant hyperthermia syndrome in pigs. *Netherlands J. Veter. Sci.*, 2, 1969, s. 155—160.
- TARASOV, I. I.: Stresovej syndrom u svinie. *Seř. Choz. za Rubež.*, 4, 1982, s. 47—49.
- VACEK, Z.: *Histológia a histologická technika*. Martin, Osveta 1974.

Došlo dňa 3. 7. 1989

УГРИН, П. (Научно-исследовательский институт животноводства, Нитра): *Послесмертный метаболизм гликогена мышц у здоровых и пораженных синдромом злокачественной гипертермии свиней*. Veter. Med. (Praha), 35, 1990 (7): 403-409.

Прослеживали за ходом гликолиза после смерти свиней как здоровых, так и пораженных этим синдромом. Глюкоз у последних смещен во времени и начинается раньше, чем в мышцах устойчивых животных. Об этом свидетельствуют пониженные уровни гликогена и pH, повышенные значения лактата через 15 мин. после забоя этой группы. В мышцах пораженных синдромом свиней нагрузка перед забоем ускоряет ход гликолиза. Это проявляется, главным образом, ускоренным ростом содержания лактата и ускоренным понижением pH во все прослеживаемые отрезки времени. У устойчивых свиней заметного ускорения гликолиза не отмечено. Дегликолизация наблюдается в обеих группах во всех трех типах мышечных волокон, а наибольшая убыль — в белых волокнах.

свинья; синдром злокачественной гипертермии; мышечные волокна; посмертный гликолиз

UHRÍN, P. (Research Institute of Animal Production, Nitra): *Post-mortal metabolism of glycogen in the muscles of healthy pigs and pigs with malignant hyperthermia syndrome*. Veter. Med. (Praha), 35, 1990 (7): 403–409.

Post mortem glycolysis patterns were investigated in healthy pigs and in pigs with malignant hyperthermia syndrome (MHS). The beginning of glycolysis in the muscles of MHS-sensitive pigs is shifted, it is earlier than in the muscles of MHS-resistant animals. This earlier beginning is documented by lower glycogen values, higher lactate values, and also by the lower pH value as soon as 15 minutes after the slaughter of animals in this group. In the muscles of pigs with malignant hyperthermia syndrome the process of glycolysis is accelerated by the pre-slaughter stress. This is demonstrated first of all by a faster increase in the lactate content and by a faster decrease in the pH value in all periods of investigation. No discernible acceleration in the glycolysis pattern following the stress was observed in the MHS-resistant pigs. Glycogen depletion occurred in both groups of animals in all three types of muscles, the highest loss was recorded in white fibres.

pigs; malignant hyperthermia syndrome; muscular fibres; *post mortem* glycolysis

UHRÍN, P. (Forschungsinstitut für Tierproduktion, Nitra): *Postmortaler Glykogenstoffwechsel der Muskeln gesunder und durch das Syndrom der malignen Hyperthermie betroffener Schweine*. Veter. Med. (Praha), 35, 1990 (7): 403–409.

In der Arbeit untersuchten wir den Verlauf der *post mortem*-Glykolyse bei gesunden und durch das Syndrom der malignen Hyperthermie betroffenen Schweinen. Die Glykolyse ist in Muskeln der zu diesem Syndrom anfälligen Schweine zeitlich verschoben, d.h. sie beginnt früher als in Muskeln der gegenüber diesem Syndrom resistenten Tiere. Dies bezeugen die niedrigeren Glykogenwerte, höhere Laktatwerte sowie ein niedrigerer pH-Wert bereits binnen 15 Minuten nach der Schlachtung in der Gruppe dieser Tiere. In Muskeln der durch das Syndrom der malignen Hyperthermie betroffenen Schweine beschleunigt eine Belastung vor dem Schlachten den Verlauf der Glykolyse. Dies kommt vor allem durch eine raschere Erhöhung des Laktatgehalts und rascheren Rückgang des pH zu allen untersuchten Zeitpunkten zum Ausdruck. Bei den zu diesem Syndrom nicht anfälligen Schweinen konnten wir eine markantere Beschleunigung des Glykolyseverlaufs nach einer Belastung nicht verzeichnen. Zu einer Glykogendepletion kommt es bei den beiden Tiergruppen in allen drei Typen der Muskelfasern, die höchste Abnahme war jedoch in den weißen Muskelfasern zu beobachten.

Schweine; Syndrom der malignen Hyperthermie; Muskelfasern; Glykolyse *post mortem*

Adresa autora:

Ing. Pavel Uhrín, Výskumný ústav živočíšnej výroby, Hlohovská 2, 949 92 Nitra

NABÍDKA REPROGRAFICKÝCH SLUŽEB

Ústřední zemědělská knihovna (ÚZLK) ÚVTIZ poskytuje xerokopie článků zveřejněných v bibliografické a referátové službě AGROINDEX i kopie článků z knih a časopisů, které jsou ve fondu ÚZLK.

Cena jedné xerokopie (včetně knihovnické práce) je 2 Kčs.

Požadavky na kopie článků posílejte na formulářích Objednávka reprografické práce, které je možno objednat v Technickém ústředí knihoven ve Slavkově u Brna pod číslem TÚK 138—0.

Objednávky posílejte na adresu:

ÚZLK—ÚVTIZ
OVRMS
Slezská 7
120 56 Praha 2

REZIDUA INHIBIČNÍCH LÁTEK VE TKÁNÍCH JATEČNÝCH ZVÍŘAT – POROVNÁNÍ MIKROBIOLOGICKÝCH METOD AGAROVÉ DIFÚZE

J. Hrdlička

HRDLIČKA, J. (Státní veterinární ústav, Jihlava): *Rezidua inhibičních látek ve tkáních jatečných zvířat – porovnání mikrobiologických metod agarové difúze*. Veter. Med. (Praha), 35, 1990 (7) : 411–418.

Byly porovnány tři mikrobiologické metody agarové difúze pro zjišťování reziduí inhibičních látek: Metoda s kmenem *Bacillus subtilis* ATCC 6633 (*B. s.* 6633), metoda s kmenem *Bacillus stearothermophilus v. calidolactis* C 953 (*B. s. v. c.* 953) a čtyřplotnová metoda. Srovnávanými metodami byly stanoveny minimální inhibiční koncentrace pro standardní roztoky antibiotik a sulfadimidinu. Ve vzorcích tkání léčených a nutně poražených jatečných zvířat byly detekovány inhibiční látky souběžně třemi srovnávanými metodami. V indikovaných případech byla provedena identifikace inhibiční látky elektroforézou a chemickými metodami. Ze zjištěných výsledků vyplývá: 1. Metoda s *B. s.* 6633 je nejméně citlivá na rezidua inhibičních látek. 2. K detekci reziduí většiny sledovaných antibiotik jsou metody s *B. s. v. c.* 953 a čtyřplotnová metoda zastupitelné. V případě reziduí penicilinu je vhodnější metoda s *B. s. v. c.* 953, pro tetracyklinová antibiotika je to čtyřplotnová metoda. 3. Rezidua sulfadimidinu detekuje pouze čtyřplotnová metoda. 4. Čtyřplotnová metoda umožňuje orientační skupinovou identifikaci antibiotik a sulfonamidů. 5. Pro zjišťování reziduí chloramphenicolu je detekční limit mikrobiologických metod nedostačující a je nutno použít fyzikálně chemické metody.

rezidua inhibičních látek; srovnání mikrobiologických metod

Ve veterinární medicíně jsou široce používány látky s antimikrobiálním účinkem. Vzhledem ke zdravotním rizikům u konzumenta, negativnímu dopadu na životní prostředí i technologickým problémům ve výrobě je stále nutné zvyšovat účinnost kontroly surovin a potravin živočišného původu na přítomnost těchto látek.

Přehled fyzikálně chemických a biologických metod zjišťování antibiotik uvádí Ploczeková (1983). Z biologických metod se v laboratorní praxi nejčastěji uplatňují mikrobiologické metody agarové difúze, používají se různé testovací bakteriální kmeny při různých podmínkách a postupech. Údaje o citlivosti jednotlivých metod k reziduům antibakteriálních látek publikovali Pičmanová aj. (1974), Fabiansson a Rutegard (1979), Nouws (1981), Ács a Simonffy (1984), De Zutter aj. (1985), Tritschler aj. (1987), Nouws aj. (1988) a další.

Cílem práce bylo srovnání tří mikrobiologických metod:

1. metoda s testacím kmenem *Bacillus subtilis* ATCC 6633,
2. metoda s testacím kmenem *Bacillus stearothermophilus v. calidolactis* C 953,
3. čtyřplotnová metoda.

Dále to bylo zjištění detekční citlivosti metod ke standardům antibakteriálních látek i k reziduům těchto látek ve tkáních jatečných zvířat. Na základě získaných výsledků byly vyvozeny závěry pro použití jednotlivých metod v laboratorní praxi.

MATERIÁL A METODY

Pro stanovení minimálních inhibičních koncentrací MIC byly použity standardní roztoky antimikrobiálních látek:

Benzylpenicilan draselný (PNC)
Streptomycin sulfát (STM)
Dihydrostreptomycin sulfát (DH-STM)
Erythromycin (ERY)
Tylosin base (TYL)
Neomycin sulfát (NEO)

Chloramphenicol (CHL)
Chlortetracyklin chlorid (CTC)
Oxytetracyklin base (OTC)
Monensin (M)
Sulfadimidin (SU)

PNC — n. p. Spofa, TYL — VÚBVL Jílové u Prahy, SU — ÚSKVBL Brno, CHL — fy Sigma USA, M — Eli Lilly and comp. USA, ostatní antibiotika — národní referenční standardy IHE Praha. Ředění standardních roztoků ve fosfátových pufrách, popř. v destilované vodě uvádí Fugate (1974) a Urbášková aj. (1985).

Testační bakteriální kmeny:

Bacillus subtilis ATCC 6633 (*B.s.* 6633)
Bacillus stearothermophilus v. *calidolactis*
C 953 (*B.s.v.c.* 953)

Bacillus subtilis BGA (*B.s.* BGA)
Micrococcus luteus ATCC 9341 (*M. l.* 9341)
Bakteriální kmeny byly získány z IHE Praha.

Mikrobiologické metody agarové difúze:

Metoda s kmenem *B. s.* 6633 a metoda s kmenem *B. s. v. c.* 953 byla použita podle publikace Prozařimní doplňky veterinárních laboratorních vyšetřovacích metodik, 1982. Čtyřplotnou metodu popisují Bogaerts a Wolf (1970).

POSTUP STANOVENÍ MIC

Pro každou antibakteriální látku byla sestavena řada šesti až osmi ředění, aby alespoň dvě nejnižší byly pod předpokládanou hodnotou MIC. Do čerstvě připravených testačních ploten bylo umístěno pět kovových válečků (nerez ocel, vnější průměr 9 mm), do každého bylo napipetováno 0,1 ml roztoku. Pro jedno ředění bylo použito 20 válečků. Po odpovídající inkubaci byly změřeny inhibiční zóny. Z takto získaných 20 hodnot pro každé ředění byly vypočteny aritmetické průměry. Za MIC byla vzata taková koncentrace, která vytvořila inhibiční zónu 2 mm a více. Pro každé stanovení byla provedena negativní kontrola s rozpouštědlem.

K praktickému ověření citlivosti metod na antibakteriální látky byly použity vybrané vzorky tkání léčených a nutně poražených jatečných zvířat — svalovina a ledvina, případně játra. Vzorky byly vyšetřeny souběžně srovnávanými metodami.

Při pozitivním nálezu byla inhibiční látka identifikována metodou elektroforézy v gelu (Tao a Poumeyrol, 1985), k autobiografické detekci byl použit nejcitlivější testační kmen s odpovídajícím pH živné půdy.

V případně anamnestických údajů signalizujících výskyt reziduí chloramphenicolu byla k jeho průkazu použita spektrofotometrická metoda (Nouws, 1978).

Rezidua sulfonamidů byla potvrzena chromatografickou metodou HPLC (Honzlová, 1987), tato metoda současně stanovila také rezidua chloramphenicolu.

VÝSLEDKY

Výsledky stanovení MIC standardních roztoků antibakteriálních látek obsahuje tab. I. Tab. II srovnává výsledky vyšetření vzorků tkání léčených a nutně poražených jatečných zvířat. V tab. III jsou uvedeny výsledky vyšetření vybraných pozitivních vzorků mikrobiologickými metodami a elektroforetická identifikace antibakteriální látky. Výsledky vyšetření při deklarovaném použití CHL mikrobiologickými metodami, elektroforézou a chemickými metodami shrnuje tab. IV.

DISKUSE

Srovnávanými metodami byly stanoveny MIC sledovaných antibakteriálních látek (tab. I). Z tabulky vyplývá malá detekční citlivost metody s kmenem *B. s.* 6633 ke všem sledovaným antibiotikům, metoda nedetekuje sulfadimidin.

Srovnatelné literární údaje pro metodu s *B. s.* 6633 nejsou k dispozici. Orientační citlivost tohoto kmene uvádí Kaššová (1973), MIC při detekci inhibičních látek, tzv.

I. Minimální inhibiční koncentrace (v $\mu\text{g} \cdot \text{ml}^{-1}$), u PNC v m. j. $\cdot \text{ml}^{-1}$) — Minimum inhibitory concentrations (in $\mu\text{g} \cdot \text{ml}^{-1}$, in PNC in i. u. per ml)

	<i>B. subtilis</i> 6633	<i>B. stearothermophilus</i> v. <i>calidolactis</i> C 953	Čtyřplotnová metoda			
			P ₁	P ₂	P ₃	P ₄
PNC	+ 1,0	0,007	0,03	0,060	0,015	0,030
STM	4,0	1,000	4,00	1,000	+ 8,000	1,000
DH-STM	8,0	0,500	4,00	1,000	+ 8,000	1,000
ERY	2,0	0,250	0,50	0,125	0,015	0,125
TYL	+ 8,0	1,000	8,00	4,000	0,500	4,000
NEO	+ 8,0	0,500	8,00	2,000	8,000	4,000
CHL	+ 10,0	+ 10,000	10,00	5,000	10,000	5,000
CTC	0,5	2,000	0,03	0,060	0,500	0,060
OTC	2,0	4,000	0,25	0,500	2,000	0,250
M	+ 8,0	2,000	4,00	1,000	+ 8,000	4,000
SU	+200,0	+200,000	100,000	100,000	+200,000	1,000

P₁ — *B. s.* BGA, pH 6

P₂ — *B. s.* BGA, pH 8

P₃ — M. l. 9341, pH 8

P₄ — *B. s.* BGA, pH 7,2 + trimethoprim

+ MIC je větší než hodnota uvedená

„Arla microtestem“ (metodiky IDF, 1984), jsou uvedeny pro mléko. Vysoká citlivost tohoto kmene metodami STOP a LAST testů (Tritschler aj., 1987) je výsledkem odlišné metodiky i způsobu vyšetřování tkání jatečných zvířat.

Z tab. I je zřejmá extrémní detekční citlivost metody s *B. s. v. c.* 953 k reziduům penicilinu, sulfadimidin není detekován. Relativně menší citlivost k tetracyklinovým antibiotikům, ve srovnání s čtyřplotnovou metodou, je patrně vlivem pH živné půdy (Fabiansson a Rutegard, 1979; Haapoja aj., 1984). Pro testační kmen *B. s. v. c.* 953 uvádějí MIC Fabiansson a Rutegard (1979), přehled výsledků z různých pramenů uvádí Pičmanová aj. (1974) — v tomto případě se jedná o výsledky stanovené ředěním antibiotika v mléku:

	Fabiansson a Rutegard			Pičmanová		
	pH 6	pH 7,4				
PNC	0,001	0,002	0,006	0,1	0,002	0,002
STM	—	—	2,5	0,15	1,0	4,0
DH-STM	6,0	0,6	—	—	—	—
ERY	—	—	2,0	—	—	—
TYL	0,06	0,06	—	—	—	—
NEO	1,0	0,1	+5,0	0,5	30,0	3,0
CHL	1–10	4,0	+5,0	0,15	10,0	5,0
CTC	0,06	2,0	5,0	0,15	0,3	0,2
OTC	6,0	6,0	+5,0	0,15	0,3	0,2
SU	10–100	10–100	—	—	—	—

Hodnoty MIC uvedeny v $\mu\text{g} \cdot \text{ml}^{-1}$, u PNC v m. j. $\cdot \text{ml}^{-1}$

+ MIC je větší než hodnota uvedená

— údaj neuveden

Vzhledem k odlišným metodám stanovení MIC je srovnání s citovanými údaji pouze orientační.

Tab. I uvádí dále hodnoty MIC stanovené čtyřplotnovou metodou. Na PNC je nejcitlivější testační kmen *M. l.* 9341 (P_3) a *B. s.* BGA při pH živné půdy 6,0 (P_1). Pro skupinu aminoglykosidových antibiotik je to *B. s.* BGA s pH 8,0 (P_2), makrolidová antibiotika výrazně inhibují testovaný kmen *M. l.* 9341 (P_3). Na skupinu tetracyklinových antibiotik je nejvhodnější kmen *B. s.* BGA s pH 6,0. Zjištěné hodnoty pH pro optimální aktivitu antibiotik odpovídají údajům, které publikoval De Zutter aj. (1985). Testační plotna s *B. s.* BGA při pH živné půdy 7,2 s obsahem trimethoprimu (P_4) jako jediná detekuje sulfadimidin. Přídavek trimethoprimu nemění nebo zvyšuje detekční citlivost testačního kmene k antibiotikům (Bogaerts aj., 1981).

Srovnatelné výsledky stanovení MIC čtyřplotnovou metodou uvádí Ács a Simonfy (1984), De Zutter aj. (1985) a Nouws (1981):

	Ács a Simonfy		De Zutter aj.		Nouws
PNC	0,03	P_2, P_3	0,1	P_1, P_3	0,006
STM	0,3	P_2	1,5	P_2	0,25
DH-STM	—	—	0,4	P_2	0,25
ERY	—	—	0,03	P_3	0,2
TYL	0,07	P_3	0,5	P_3	0,1
NEO	1,25	P_2, P_4	0,3	P_2	0,1
CHL	—	—	12,5	P_1, P_2, P_4	5,0
CTC	—	—	—	—	0,05
OTC	0,3	P_1, P_4	1,0	P_1	0,25
M	0,07	P_1	—	—	—
SU	0,3–1,2	P_4	—	—	0,3

Hodnoty MIC uvedeny v $\mu\text{g} \cdot \text{ml}^{-1}$, u PNC v m. j. $\cdot \text{ml}^{-1}$

Nouws udává v $\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$, u PNC v m. j. $\cdot \text{g}^{-1}$; za hodnotami uvedena nejcitlivější plotna, Nouws neuvádí

— údaj neuveden

MIC pro sulfadimidin čtyřplotnovou metodou uvádějí Van Schothorst aj. (1978) — $0,5 \mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$ (P_4).

Přestože metodika čtyřplotnové metody je standardizována, jsou rozdílné výsledky MIC ve srovnání s literárními údaji. Příčinu je možno spatřovat v odlišné biologické aktivitě standardů antibakteriálních látek, v rozdílném způsobu přípravy jejich roztoků, v různých metodách vlastního stanovení MIC i v jiném způsobu interpretace výsledků. I přes rozdílnost hodnot MIC vzhledem k citovaným údajům, dochází ke shodě v druhu testační plotny nejcitlivější na jednotlivé antibakteriální látky. Tohoto faktu je možné využít pro orientační skupinovou identifikaci antibiotik a sulfonamidů (kromě případů použití kombinace několika antibakteriálních látek).

Z tab. I vyplývá, že mikrobiologické metody nejsou vhodné pro detekci reziduí chloramphenicolu. Pro zvýšení detekční citlivosti je možné použít mikrobiologickou metodu s účinkem beta-glukuronidázy (Bogaerts aj., 1984; Korkeala a Mäki-Petäys, 1984) nebo některou z fyzikálně chemických metod.

Dále bylo provedeno vyšetření reziduí inhibičních látek ve vzorcích tkání léčených a nutně poražených zvířat souběžně třemi porovnávanými metodami. Z tab. II je zřejmá nejmenší záchytnost metodou s *B. s.* 6633, nejvyšší počet pozitivních nálezů vykazovala čtyřplotnová metoda.

Výsledky uvedené v tab. III potvrzují předpoklady získané stanovením MIC

II. Výsledky vyšetření vzorků tkání léčených a nutně poražených jatečných zvířat — The results of examination of tissue samples of medicated and emergency-slaughtered animals

	Vyšetřeno celkem vzorků	Pozitivní výsledek	Negativní výsledek
<i>B. subtilis</i> 6633	93 (100 %)	25 (23,2 %)	68 (76,8 %)
<i>B. stearothermophilus</i> v. <i>calidolactis</i> 953	93 (100 %)	58 (62,3 %)	35 (37,7 %)
Čtyřplotnová metoda	93 (100 %)	63 (67,7 %)	30 (32,3 %)

antibakteriálních látek. Metoda s kmenem *B. s.* 6633 nedostatečně detekuje všechny sledované antibakteriální látky, nejlépe detekuje rezidua PNC, popř. kombinaci PNC a STM. Pro zjišťování reziduí tetracyklinových antibiotik je vhodnější čtyřplotnová metoda. K detekci ostatních sledovaných antibiotik jsou metody s kmenem *B. s. v. c.* 953 a čtyřplotnová metoda zastupitelné. Z 12 vzorků pozitivních pouze metodou s *B. s. v. c.* 953 bylo devět vzorků elektroforeticky negativních, tzn. nebyla prokázána rezidua antibiotik. Tento výsledek potvrzuje citlivost kmene *B. s. v. c.* 953 na neantibiotické inhibiční látky (Van Os aj., 1975; Haapoja a Korkeala, 1984; Tritschler aj., 1987).

Tab. IV dokumentuje výsledky získané vyšetřením vzorků, kde byl podle anamnézy použit chloramphenicol. Z výsledků vyplývá pouze relativní citlivost metody s *B. s. v. c.* 953 i čtyřplotnové metody na rezidua chloramphenicolu, metoda s kmenem *B. s.* 6633 je nevhodná. Znovu byla potvrzena značná citlivost metody s kmenem *B. s. v. c.* 953 na PNC, popř. v kombinaci se STM. Dva případy stanovení reziduí sulfadimidinu chemickými metodami dokládají schopnost čtyřplotnové metody detekovat rezidua sulfonamidů.

III. Výsledky vyšetření vybraných pozitivních vzorků — velikosti inhibičních zón [mm] a elektroforetická identifikace — The results of examination of selected positive samples — the sizes of inhibitory zones [mm] and electrophoretic identification

Číslo vzorku	<i>B. subtilis</i> 6633	<i>B. stearothermo- philus</i> v. <i>calidolactis</i> 953	Čtyřplotnová metoda				Elektroforéza
			P ₁	P ₂	P ₃	P ₄	
1	+	9	3	4	5	10	PNC
2	+	14	10	9	15	4	PNC
3	+	22	16	15	20	15	PNC
4	—	8	5	5	8	4	PNC
5	—	8	3	3	0	3	STM
6	—	8–12	5	6	2	5	STM
7	—	6–8	5	11	5	9	STM
8	—	20	12	13	17	13	PNC + STM
9	+	8	6	10	20	8	ERY
10	—	6	8	3–7	0	8	tetracykliny
11	+	18	11	9	14	8	TYL
12	—	3–5	8	4	0	8	CHL

+ pozitivní výsledek vyšetření
— negativní výsledek vyšetření

IV. Výsledky vyšetření vzorků tkání při deklarovaném použití chloramphenicolu — velikosti inhibičních zón [mm], výsledek elektroforézy a stanovení chemickými metodami [mg.kg⁻¹] — The results of examination of tissue samples at the declared use of chloramphenicol — the sizes of inhibitory zones [mm], the result of electrophoresis and detections by chemical methods [mg per kg]

Číslo vzorku	<i>B. subtilis</i> 6633	<i>B. stearothermophilus</i> v. <i>calidolactis</i> 953	Čtyřplotnová metoda				Elektroforéza	SP CHL	HPLC SU + CHL	
			P ₁	P ₂	P ₃	P ₄				
1	—	15	4	0	10	7	PNC	—	/	
2	+	12	10	10	20	13	PNC + STM	—	/	
3	—	6	0	7	0	3	/	—	/	
4	+	20	9	15	10	15	PNC + STM	15,0	/	
5	—	3	1	2	0	2	—	2,5	/	
6	—	3	5	3	0	6	PNC + STM	15,5	/	
7	—	4	3	3	4	3	/	5,2	/	
8	—	10	8	15	7	12	/	7,1	/	
9	—	5	0	0	0	0	/	1,7	/	
10	—	4	4	3	3	2	—	6,8	/	
11	—	3	3	3	0	3	/	—	/	
12	—	3	8	4	0	8	CHL	4,9	/	
13	—	0	3	0	7	18	/	—	2,15	0,19
14	—	0	0	0	0	5	/	—	1,09	0,00
15	—	/	0	9	0	6	/	20,0	/	

SP CHL — spektrofotometrické stanovení CHL

HPLC SU + CHL — chromatografická metoda stanovení SU a CHL

/ vyšetření nebylo provedeno

— negativní výsledek vyšetření

+ pozitivní výsledek vyšetření

Poděkování

Autor děkuje ing. Aleně Honzlové z SVÚ Jihlava za vyšetření vzorků metodou HPLC a za technickou spolupráci prom. biochemičce Jaroslavy Jeřábkové z SVÚ Jihlava.

Literatura

- ACS, G. — SIMONFY, Z.: Testing organs and tissues from slaughter animals for antibiotics, sulfonamides and for other antimicrobial compounds. *Magy. állatorv. Lap.*, 39, 1984, s. 585—590.
- BOGAERTS, R. — WOLF, F.: A standardized method for detection of residues of anti-bacterial substances in fresh meat. *Fleischwirtschaft*, 60, 1980, č. 4, s. 672—674.
- BOGAERTS, R. — DE GROODT, J. M. — DE VOS, D.: An ultrasensitive microbiological method for the semiquantitative detection of low-level sulfonamides. *J. Fd Sci.*, 46, 1981, s. 158 až 160.
- BOGAERTS, R. — DE VOS, D. — DE GROODT, J. M.: Chloramphenicol residues in the urine of slaughter animals. *Fleischwirtschaft*, 64, 1984, č. 2, s. 185—186.
- DE ZUTTER, L. — KOENEN-DIERICK, K. — VAN HOOFF, J.: Detection of antimicrobial residues in slaughtered animals. II. Sensitivity of some detection methods to different antibiotics. *Vlaams diergeneesk. Tijdschr.*, 110, 1985, č. 6, s. 445—454.
- FABIANSSON, S. — RUTEGARD, A.: A modified method for the detection of antibiotic residues in slaughter animals. *Acta veter. scand.*, 20, 1979, s. 477—491.
- FUGATE, H. G.: Detection of antibiotic residues in animals tissues. USA, SS APHIS USDA, 1974.
- HAPOJA, A. — KORKEALA, H.: Antimicrobial residues in milk, Comparison of different agar diffusion methods. *Acta veter. scand.*, 25, 1984, s. 250—259.
- HONZLOVÁ, A.: Stanovení reziduí sulfonamidů metodou vysokoúčinné kapalinové chromatografie. *Zpr. Ústř. st. veter. Úst.*, 1987, č. 4, s. 29—30.
- KAŠŠOVÁ, S.: Preskúšanie použitia *B. stearothermophilus* v. *calidolactis* pro zisťovanie inhibičných látok v orgánoch jatečných zvierat. *Veterinárství*, 23, 1973, č. 7, s. 300—301.
- KORKEALA, H. — MÄKI-PETÄYS, O.: Detection of chloramphenicol residues in pigs with different agar diffusion methods. *Acta veter. scand.*, 25, 1984, s. 352—364.
- NOUWS, J.F.M. — ZIV, G.: A study of chloramphenicol distribution and residues in dairy cows. *Vlaams diergeneesk. Tijdschr.*, 103, 1978, č. 14, s. 725—735.
- NOUWS, J. F. M.: Tolerances and detection of antimicrobial residues in slaughtered animals. *Arch. Lebensm. Hyg.*, 32, 1981, s. 97—140.
- NOUWS, J. F. M. — BROEX, N. J. G. — DEN HARTOG, J.M.P., et al.: The New Netherlands Kidney Test, II. Sensitivity of the test system. *Tijdschr. Diergeneesk.*, 103, 1988, č. 5, s. 247—253.
- PIČMANOVÁ, B. — ČERNÁ, E. — HAVLOVÁ, J.: Provéření metody s *B. stearothermophilus* v. *calidolactis* a testu s TTC ke stanovení některých antibiotik. *Prům. Potrav.*, 25, 1974, č. 11, s. 351—352.
- PLOCZEKOVÁ, C.: Metódy stanovenia hladín antibiotik v telesných tekutinách. *Českoslov. Epidem.*, 32, 1983, č. 5, s. 295—304.
- TAO, S. H. — POUMEYROL, M.: Méthodes de détection des antibiotiques dans les viandes électrophorèse. *Recu. Med. vétér.*, 161, 1985, č. 5, s. 457—463.
- TRITSCHLER, J. P. — DUBÉ, R. T. — OLIVER, S. P.: Microbiological screening tests to detect antibiotics residue in cull dairy cows. *J. Fd Protect.*, 50, 1987, č. 2, s. 95—96.
- URBAŠKOVÁ, P. a kol.: Vyšetření pro antimikrobiální terapii. Praha, Avicenum 1985.
- VAN OS, J. L. — LAMERIS, S. A. — DOODEWAARD, J. et al.: Diffusion test for the determination of residues antibiotics in milk. *Netherl. Melk-en Zuiveltijdschrift*, 29, 1975, s. 16—34.
- VAN SCHOTHORST, M. — VAN LEUSDEN, F. M. — NOUWS, J. F. M.: Antibiotic residues — Regulations, tolerances and detection in EEC. *J. Assoc. off. analyt. Chem.*, 61, 1978, č. 5, s. 1209—1213.
- Milk and milk products — Detection of inhibitors, IDF, Report of Group E 47 — Antibiotics, E - Doc 190, Praha, 1984.
- Prozatímní doplňky veterinárních laboratorních vyšetřovacích metodik. Pardubice, SVS OVO 1982.

Došlo dne 2. 6. 1989

ГРДЛИЧКА, Й. (Государственное ветеринарное управление, Йиглава): Остатки ингибирующих веществ в тканях боенских животных — сравнение микробиологических методов агаровой диффузии. *Veter. Med. (Praha)*, 35, 1990 (7) : 411-418.

Tri упомянутых метода сравнивали в целях обнаружения остатков ингибирующих веществ: метод со штаммом *Bacillus subtilis* ATCC 6633 (B. s. 6633); со штаммом *Bacillus stearothermophilus* v. *calidolactis* C 953 (B. s. v. c. 953); четырехплиточный

метод. С их помощью определили минимальные ингибиционные концентрации для стандартных растворов антибиотиков и сульфадимидина. В образцах ткани лечившихся и вынужденно забитых животных детектировали ингибиторы всеми тремя методами. В определенных случаях ингибиторы идентифицировали с помощью электрофореза и химических методов. Из результатов вытекает: 1. Метод с *B. s. 6633* наименее чувствителен к остаткам ингибиторов. 2. Для детектирования остатков большинства прослеживаемых антибиотиков методы *B. s. v. c. 953* и 4-плиточный заменимы. В случае остатков пенициллина более подходящ метод с *B. s. v. c. 953*, для тетрациклиновых антибиотиков — 4-плиточный метод. 3. Остатки сульфадимидина детектирует только 4-плиточный метод, который 4. позволяет проводить и ориентировочную групповую идентификацию антибиотиков и сульфонамидов. 5. Для определения остатков хлорамфеникола детекционный лимит микробиометодов недостаточен, ввиду чего надо пользоваться физико-химическими методами.

остатки ингибирующих веществ; сравнение микробиометодов

HRDLIČKA, J. (State Veterinary Institute, Jihlava): *The residues of inhibitory substances in the tissues of slaughter animals — comparison of microbiological methods of agar diffusion*. Veter. Med. (Praha), 35, 1990 (7) : 411—418.

Three microbiological methods of agar diffusion were compared which are used to detect the residues of inhibitory substances: method using the strain *Bacillus subtilis* ATCC 6633 (*B.s. 6633*), method using the strain *Bacillus stearothermophilus v. calidolactis* C 953 (*B. s. v. c. 953*), and four-plate method. Using the compared methods, minimum inhibitory concentrations were determined for standard solutions of antibiotics and sulphadimidine. Inhibitory substances were detected parallelly in the samples of the tissues of medicated and emergency-slaughtered animals, applying the three compared methods. In indicated cases inhibitory substances were identified by electrophoresis and chemical methods. The results indicate the following: 1) The *B.s. 6633* method is the least sensitive of all to the residues of inhibitory substances. 2) For the purposes of detection of most antibiotics under investigation, the *B.s.v.c. 953* method and the four-plate method are replaceable. The *B. s. v. c. 953* method is more suitable for the detection of penicillin residues, in the case of tetracycline antibiotics it is the four-plate method. 3) Sulphadimidine residues can be detected only by the four-plate method. 4) The four-plate method enables to make the preliminary group identification of antibiotics and sulphonamides. 5) The detection limit of microbiological methods is not sufficiently sensitive to determine chloramphenicol residues; that is why the physico-chemical methods must be used.

residues of inhibitory substances; comparison of microbiological methods

HRDLIČKA, J. (Staatliches Veterinärinstitut, Jihlava): *Residuen von Inhibitionsstoffen in Geweben der Schlachttiere — Vergleich mikrobiologischer Methoden der Agar-Diffusion*. Veter. Med. (Praha), 35, 1990 (7): 411—418.

Es wurden drei mikrobiologische Methoden der Agar-Diffusion zur Ermittlung von Inhibitionsstoffresiduen verglichen: die Methode mit dem Stamm *Bacillus subtilis* ATCC 6633 (*B.s. 6633*), die Methode mit dem Stamm *Bacillus stearothermophilus v. calidolactis* C 953 (*B.s.v. c. 953*) und die Vier-Platten-Methode. Anhand von Vergleichsmethoden wurden die minimalen Inhibitionskonzentrationen für Standardlösungen der Antibiotika und des Sulfadimidins bestimmt. In Gewebeproben von behandelten und notgeschlachteten Tieren wurden die Inhibitionsstoffe parallel durch drei Vergleichsmethoden erfasst. In den indizierten Fällen wurde die Identifikation des Inhibitionsstoffs mittels Elektrophorese und chemischer Methoden durchgeführt. Aus den ermittelten Ergebnissen geht folgendes hervor: 1. Die Methode mit *B.s. 6633* ist zu den Residuen der Inhibitionsstoffe am wenigsten sensibel. 2. Zur Detektion von Residuen der meisten der getesteten Antibiotika sind die Methode mit *B.s.v.c. 953* und die Vier-Platten-Methode vertretbar. Im Falle von Penizillin-Residuen ist die Methode mit *B.s.v.c. 953* besser geeignet, für Antibiotika der Tetrazyklinreihe ist es die Vier-Platten-Methode. 3. Sulfadimidin-Residuen vermag nur die Vier-Platten-Methode zu erfassen. 4. Die Vier-Platten-Methode macht eine orientierende Gruppen-Identifikation der Antibiotika und Sulfonamide möglich. 5. Zur Ermittlung von Chloramphenicol-Residuen ist das Detektionslimit der mikrobiologischen Methoden unzureichend, und es müssen physikalisch-chemische Methoden angewandt werden.

Residuen von Inhibitionsstoffen; Vergleich mikrobiologischer Methoden

Adresa autora:

MVDr. Josef Hrdlička, Státní veterinární ústav, Rantířovská 93, 586 05 Jihlava

HISTOLOGICKÝ A SUBMIKROSKOPICKÝ OBRAZ DIFERENCIÁCIE SEMENNÍKOV (*Ovis aries*) Z VÝVOJOVÉHO ASPEKTU

V. Cigánková

CIGÁNKOVÁ, V. (Vysoká škola veterinárská, Košice): *Histologický a submikroskopický obraz diferenciácie semenníkov (*Ovis aries*) z vývojového aspektu*. Veter. Med. (Praha), 35, 1990 (7) : 419–425.

Naše štúdium sme zamerali na ranné vývojové štádium sexuálnej diferenciácie u embrya ovce. Sledovali sme vývoj a diferenciáciu indiferentnej gonády na semenníky. Doterajšie poznatky v tejto oblasti sú neúplné a týkajú sa prevažne laboratórnych zvierat a človeka. Embryá umele inseminovaných oviec plemena slovenské merino sme získavali laparotómiou na 26., 28., 30., 35., 37., 40. a 45. deň intrauterinného vývoja. Materiál sme spracovali pre svetelnú a transmisnú elektrónovú mikroskopiu. Opísali sme morfológický obraz jednotlivých zložiek fetálnych semenníkov v študovanom období intrauterinného vývoja s osobitným zameraním na tie morfológické zložky, ktoré úzko súvisia s ich funkčnou aktivitou počas vývoja. Výsledky našej práce prispievajú k rozšíreniu teoretických základov z veterinárnej embryológie, fyziológie, endokrinológie a andrológie.

indiferentná gonáda; vývoj a diferenciácia semenníkov; morfológia

Štúdiu morfológie semenníkov z vývojového aspektu sa u hospodárskych zvierat zatiaľ nevenovala väčšia pozornosť. K úspešnému zvládnutiu problémov reprodukcie je potrebné dokonale poznať štruktúru a vývoj pohlavných žliaz za fyziologických podmienok. Poznatky v tejto oblasti sú neúplné a týkajú sa prevažne laboratórnych zvierat a človeka. Objektom pozorovania testikulárnej organogenézy boli myši (Russo a De Rosas, 1971), potkany (Merchant, 1976; Marge a Jost, 1980; Jost a i., 1981), morčatá (Black a Christensen, 1969; Pelliniemi a Lauteala, 1981), králiky (Gondos a Conner, 1973), ošípané (Bielańska-Osuchowska, 1965, 1966) a ľudia (Pelliniemi a Niemi, 1969). Vývojom gonád u embrya sa zaoberali Zamboni a Upadhyay (1982) len okrajovo v súvislosti s úlohou mezonefros na vývoj fetálnych semenníkov. Jantošovičová a Hájovská (1975) a Jantošovičová (1978) študovali vývoj urogenitálneho aparátu embrya ovce na úrovni svetelnej mikroskopie. Takmer sto rokov je známe, že semenníky sa diferencujú z indiferentnej gonády oveľa skôr ako vaječníky. U embryí oviec k premene indiferentnej gonády na semenníky dochádza na 28. až 29. deň intrauterinného vývoja (Zamboni a Upadhyay, 1982).

Naše štúdium sme zamerali na ranné vývojové štádia sexuálnej diferenciácie u embrya ovce.

MATERIÁL A METÓDA

Embryá umele inseminovaných oviec plemena slovenské merino sme získavali laparotómiou na 26., 28., 30., 35., 37., 40. a 45. deň intrauterinného vývoja. Celkovo sme vyšetrili 16 embryí. Materiál sme spracovali pre svetelnú a transmisnú elektrónovú mikroskopiu.

Pre svetelnú mikroskopiu sme použili celé embryá, ktoré sme fixovali v Buinovom roztoku a spracovali bežnou histologickou technikou. Sériové rezy z embryí zaliatých do parafínu sme zhotovili na rotačnom mikrotóme a ofarbili hematoxylin-eozínom.

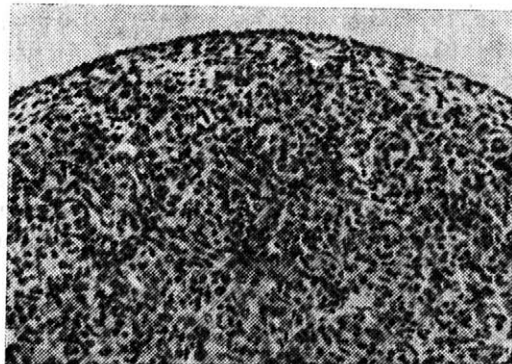
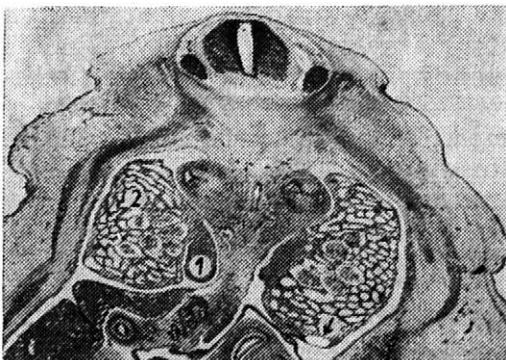
Pre elektrónovomikroskopické vyšetrenie sme odoberali celé gonády, ktoré sa nachádzali na strope telovej dutiny. Vzorky sme fixovali v 25 g.l^{-1} glutaraldehyde a postfixovali v $10 \text{ g.l}^{-1} \text{ OsO}_4$ v $0,15 \text{ mol.l}^{-1}$ fosfátovom tlmivom roztoku (pH 7,3 až 7,6). Doba fixácie v každom roztoku bola dve hodiny. Fixované vzorky sa premýli v $0,15 \text{ mol.l}^{-1}$ fosfátovom tlmivom roztoku (pH 7,3 až 7,6), odvodnili v acetóne a propylénoxide a zaliati do Durcupanu ACM (Fluka). Ultratenké rezy sme rezali na ultramikrotóme TESLA BS 490 a kontrastovali dvojfázovo uranylacetátom a citrátom olovnatým (Reynolds, 1963). Ofarbené rezy sme vyšetrovali a fotografovali na elektrónovom mikroskope JEM 1 200 EX na negatívny materiál ORWO EU 2.

VÝSLEDKY

Na 26. deň intrauterinného vývoja indiferentné gonády nevykazujú morfológické známky diferenciácie.

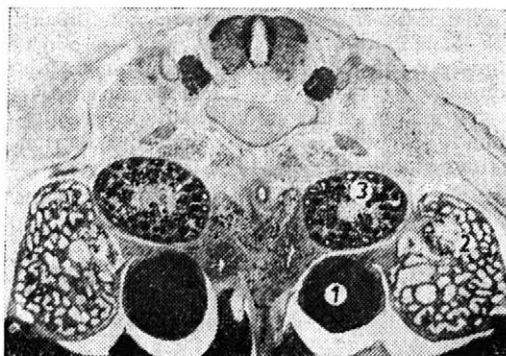
K diferenciácii indiferentnej gonády na semenníky dochádza na 28. deň intrauterinného vývoja (obr. 1). Základ gonády se nachádza v blízkosti mezonefros, ktoré pozostávajú z glomerulov, sekretorických kanálikov a Wolffových vývodov. Mezonefros u embrya ovce dosahujú značné rozmery. Vývod mezonefrosu, čiže Wolffov vývod, sa nachádza na lateromediálnej strane mezonefrosu. Diferencujúca sa gonáda (obr. 2) pozostáva z buniek tzv. gonadálneho blastému, ktorý je ešte pred sexuálnou diferenciáciou osídľovaný migrujúcimi bunkami extragonadálneho pôvodu, ktoré sa mitoticky delia. Na povrchu gonády sa nachádza zárodočný epitel.

Na 35. až 40. deň intrauterinného vývoja sú gonády diferencované na semenníky (obr. 3), alebo vaječníky. Mezonefros podliehajú postupnej regresii, súčasne sa vytvárajú metanefros, ktoré sú uložené dorzálnie nad zanikajúcimi mezonefros. V semenníkoch sa dajú dobre rozoznať semenotvorné povrazce (obr. 4). Vytváranie semenotvorných povrazcov však neprebíha v celej gonáde naraz. Tieto sa najprv začínajú utvárať v tej časti semenníka, ktorá susedí s mezonefros. Mezenchymálne bunky gonadálneho blastému sa diferencujú na bunky spojovacieho tkaniva, ktoré je uložené medzi semenotvornými povrazcami a povrchovo uloženej súvislej vrstvy tunica albuginea. V interstíciu medzi semenotvornými povrazcami sa nachádzajú diferencujúce sa Leydigove bunky, krvné a lymfatické kapiláry. Naše elektrónovomikroskopické štúdium gonád na

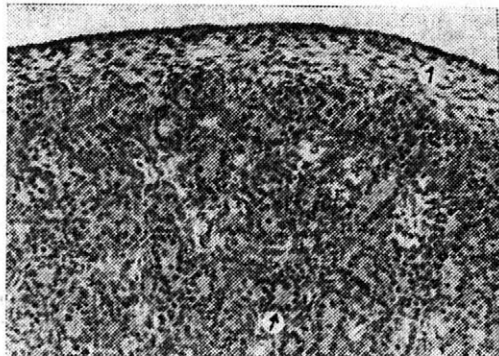


1. Prierez en.bryom ovce na 28. deň intrauterinného vývoja; 1 - gonáda, 2 - mezonefros, šípka - Wolffov vývod (zv.: objektív 4, okulár 3,2) - Ovine embryo in cross-section on day 28 of intrauterine development; 1 - gonad, 2 - mesonephros, arrow - Wolffian duct (enlarged: lens 4, eyepiece 3.2)

2. Prierez časťou gonády na 28. deň intrauterinného vývoja (zv.: objektív 10, okulár 3,2) - A part of gonad in cross-section on day 28 of intrauterine development (enlarged: lens 10, eyepiece 3.2)

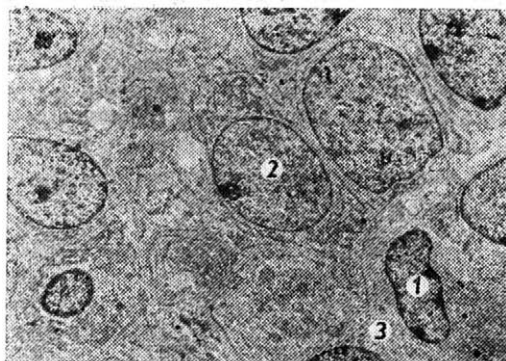


3. Prierez embryom ovce na 40. deň intrauterinného vývoja; 1 - semenník, 2 - mezonefros s obrovským glomerulom, ktorý podlieha regresii, 3 - metanefros (zv.: objektiv 4, okulár 3,2) — Ovine embryo on day 40 of intrauterine development; 1 - testicle, 2 - mesonephros with a big glomerule which undergoes regression, 3 - metanephros (enlarged: lens 4, eyepiece 3.2)

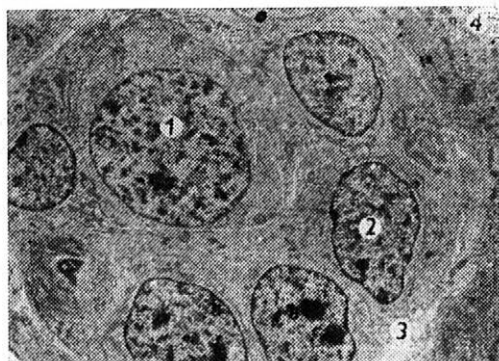


4. Prierez semenníkom na 35. deň intrauterinného vývoja; 1 - tunica albuginea, šípka - semenotvorný provazec (zv.: objektiv 10, okulár 3,2) — Testicle in cross-section on day 35 of intrauterine development; 1 - tunica albuginea, arrow — spermatic cord (enlarged: lens 10, eyepiece 3.2)

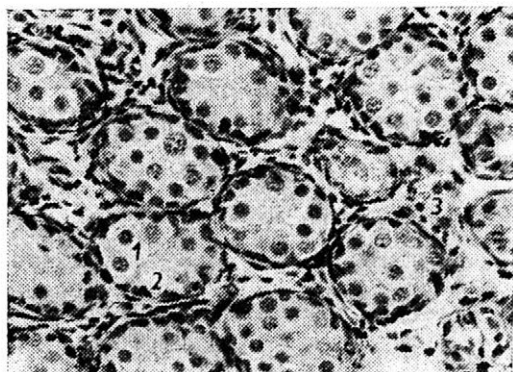
30. deň intrauterinného vývoja nám umožnili získať detailnejšie poznatky o bunkovom zložení diferencujúcich sa semenníkov (obr. 5). Gonády pozostávajú z buniek gonadálneho blastému a buniek extragonadálneho pôvodu. Mezenchýmové bunky všeobecne patria medzi značne peimorfné bunky s výraznou schopnosťou metamorfózy. Tieto bunky sa diferencujú na Leydigove bunky, väzivové bunky interstícia, bunky vytvárajúce bunkové zložky steny semenotvorných povrazcov a na bunky *tunica albuginea*. Extragonadálneho pôvodu sú zárodočné bunky — gonocyty a Sertoliho bunky, ktoré osídľujú gonádu ešte pred sexuálnou diferenciáciou. Bunky gonadálneho blastému, ako aj bunky extragonadálneho pôvodu sa intenzívne mitoticky delia. Nie sú ešte zoskupené do po-



5. Elektronogram zhotovený na 30. deň intrauterinného vývoja; 1 - mezenchýmová bunka, 2 - prekursor Sertoliho bunky, 3 - bazálna membrána (zv. 5000×) — Electronmicrograph made on day 30 of intrauterine development; 1 - mesenchymal cell, 2 - Sertoli's cell precursor, 3 - basal membrane (enlarged 5000×)



6. Elektronogram semenotvorného povrazca zhotovený na 37. deň intrauterinného vývoja; 1 - zárodočná bunka (gonocyt), 2 - Sertoliho bunka, 3 - bazálna membrána, 4 - intersticiu (zv. 4200×) — Electronmicrograph of spermatic cord made on day 37 of intrauterine development; 1 - germ cell (gonocyte), 2 - Sertoli's cell, 3 - basal membrane, 4 - interstitium (enlarged 4200×)



7. Semenotvorné povrazce na pričnom priereze na 45. deň intrauterinného vývoja; 1 - zárodočné bunky, 2 - Sertoliho bunky, 3 - interstícium (zv.: objektív 40, okulár 8) — Spermatic cords in cross-section on day 45 of intrauterine development; 1 - germ cells, 2 - Sertoli cells, 3 - interstitium (enlarged: lens 40, eyepiece 8)

vrazcov, aj keď už sú tu určité náznaky vytvárania bazálnej membrány. Táto je často krátka a nekompletná. Považujeme ju však za prvý náznak gonádálnej povrazcovej formácie.

Na elektrónograme zhotovenom na 37. deň intrauterinného vývoja môžeme pozorovať detailnejšie štruktúru semenotvorného povrazca na pričnom priereze (obr. 6). Pozostáva z dvoch typov buniek. Prvým typom sú zárodočné bunky — gonocyty, ktoré sa nachádzajú uložené v strede semenotvorných povrazcov. Sú pomerne veľké, sférického tvaru s veľkým okrúhlym jadrom a jadriekom retikulárneho typu. Vykazujú vysoký nukleocytoplazmatický pomer. Bunkových organel je málo a sú uložené prevažne v blízkosti jadra. Sú to ojedinelé mitochondrie, cisterny agranulovaného endoplazmatického retikula, polyribosómy a mikrotubuly. Druhým typom sú Sertoliho bunky, ktoré obklopujú gonocyt zo všetkých strán. Tieto bunky ležia na bazálnej membráne a sú pretiahleho alebo hviezdicovitého tvaru. Ich jadro je oválne, jadričko je retikulárneho typu. Cytoplazma obsahuje cisterny granulovaného endoplazmatického retikula, mitochondrie, ribosómy a mikrotubuly. Bazálna membrána, ktorá je glykoproteínovej povahy tvorí okolo semenotvorného povrazca súvislú vrstvu. Zároveň s vytvorením kompletných semenotvorných povrazcov sme pozorovali utváranie pevných medzibunkových spojení — spojovacích komplexov. V období, keď dochádzalo k preskupovaniu buniek sme tieto nepozorovali.

Na 40. až 45. deň intrauterinného vývoja (obr. 7) tvorba semenotvorných povrazcov pokračovala. Zárodočné bunky aj Sertoliho bunky sa intenzívne mitoticky delili a ich počet značne vzrástol. Dochádzalo aj ku kompletizácii steny semenotvorných povrazcov jej bunkových a nebunkových súčastí. Bazálna membrána bola tvorená dvomi až tromi vrstvami — lamelami. Bunky, ktoré tvorili stenu semenotvorných povrazcov boli oploštené, vretenovitého tvaru, pomerne málo diferencované.

DISKUSIA

K premene indiferentnej gonády na semenníky dochádza u embryí oviec na 28. až 29. deň intrauterinného vývoja (Zamboni a Upadhyay, 1982). Vývoj indiferentnej gonády prebieha v úzkej súvislosti s mezonefros, ktoré u embrya ovce dosahujú značné rozmery. Tento úzky vzťah spočíva v tom, že podľa novších údajov prekurzory Sertoliho buniek fetálnych semenníkov sú mezonefrického pôvodu (Wartenberg, 1981; Zamboni a Upadhyay, 1982). Miestom ich vzniku je tzv. obrovský glomerulus, ktorý sa nachádza v kaudálnej polovici mezonefros. Migrujúce mezonefrické bunky kolonizujú indiferentnú gonádu. Aj zárodočné bunky majú extragonádálny pôvod. Vznikajú v entoderme žltkového vaku, odkiaľ migrujú cez stenu primitívneho čreva do dorzálneho

mezentéria a osídľujú gonádu ešte pred sexuálnou diferenciáciou (Chiquoine, 1954; Sapsford, 1962). Tieto primordiálne zárodočné bunky sa nazývajú gonocyty. Leydigove bunky sú derivátmi mezenchýmových buniek.

Sexuálna diferenciácie indiferentnej gonády prebieha pomerne rýchlo. Hlavným procesom, ktorý zasahuje do morfológie organogenézy semenníka pri jeho sexuálnej diferenciácii je segregácia a reasociácia buniek (Jantošovičová, 1978). Bunky gonadálneho blastému, ktoré tvoria akúsi dreňovú masu, ako aj bunky extragonadálneho pôvodu sa intenzívne mitoticky delia. Začínajú sa preskupovať a postupne vytvárajú semenotvorné povrazce. Určité náznaky tvorby týchto povrazcov sme sledovali už na 30. deň intrauterinného vývoja. Na organizácii buniek gonadálneho blastému do testikulárnych povrazcov sa podieľa tzv. H-Y antigén (Wachtel a i., 1975; Ohno a i., 1979). Imunologický dôkaz tohoto antigénu otvoril novú éru v oblasti gonadálnej embryológie. Významnú úlohu na vzájomnom preskupovaní buniek vo vyvíjajúcich sa gonádach zohrávajú mikrotubuly, ktoré boli prítomné v gonocytoch aj Sertoliho bunkách. Tieto obsahujú aktínu podobný meromysin, ktorý tvorí kontraktilný aparát (Toyama a i., 1979), vďaka ktorému si možno lepšie vysvetliť ich schopnosť aktívne sa pohybovať.

Sertoliho bunky zohrávajú dôležitú úlohu vo vývoji semenníkov. Syntetizujú látku, ktorá inhibuje vývoj Mülleroého kanálika, tzv. anti-Mülleroian hormone (Picard a i., 1978). Medzi Sertoliho bunkami a zárodočnými bunkami je úzky vzájomný vzťah. Podľa poznatkov, ktoré uverejnili French a Ritzen (1973) Sertoliho bunky produkujú tzv. Androgen binding protein. Táto bielkovina je schopná viazať testosterón a prenášať ho ku zárodočným bunkám, bez ktorého by ich ďalší vývoj a diferenciácia nemohla prebiehať. Naše elektrónovomikroskopické pozorovania Sertoliho buniek potvrdzujú proteosyntetickú aktivitu týchto buniek. Svedčí o tom hojný výskyt polyribozómov a cisterien granulovaného endoplazmatického retikula v cytoplazme týchto buniek. Je pozoruhodné, že Sertoliho bunky plodov oviec počas intrauterinného vývoja sa aktívne mitoticky delia. Ako ukázali naše predchádzajúce štúdie, mitotická aktivita je najintenzívnejšia v Sertoliho bunkách jahniat prvých dvadsať dní po narodení (Cigánková, 1983). Mitózy Sertoliho buniek pohlavne dospelých baranov zatiaľ pozorované neboli.

V našej práci sme venovali pozornosť aj vývoju steny semenotvorných povrazcov. Prvý náznak formovania semenotvorných povrazcov sme pozorovali už na 30. deň intrauterinného vývoja. Aj keď bunky ešte neboli zoskupené do povrazcov, elektrónovomikroskopické štúdie nám umožnili pozorovať výskyt bazálnej membrány, ktorá však bola krátka a nesúvislá. Na 30. až 35. deň intrauterinného vývoja bazálna membrána, ktorá je glykoproteínovej povahy, tvorila okolo semenotvorného povrazca súvislú vrstvičku. Na 40. až 45. deň intrauterinného vývoja dochádzalo k postupnému vytváraniu ďalších lamiel, takže bazálna membrána bola tvorená dvomi až tromi vrstvami. Zároveň dochádzalo aj ku kompletizácii bunkových súčastí steny semenotvorných povrazcov, ktoré boli štíhle, vretenovitého tvaru. Predpokladáme, že práve tieto fibroblastom podobné bunky mezenchýmálneho pôvodu sa podieľajú na tvorbe lamiel bazálnej membrány. U väčšiny živočíšnych druhov za fyziologických podmienok je bazálna membrána tvorená jedinou súvislou vrstvičkou. Vrstevnatosť bazálnej membrány je typická len u baranov a býkov (Vrzgulová, 1979; Wrobel a i., 1988).

Literatúra

- BIELAŇSKA-OSUCHOWSKA, Z.: Badania nad rozwojem gonad u zarodków świni domowej (*Sus scrofa*). Cześć I. Rozmieszczenie kwasow nukleinowych, bialek, polisacharydów i fosfatazy zasadowej w szacie różnicowania się płciowego zawiązków gonad. Folia morphol. (Warszawa), 24, 1965, s. 363–379.
- BIELAŇSKA-OSUCHOWSKA, Z.: Badania nad rozwojem gonad u zarodków świni domowej

- (*Sus scrofa*). Cześć II. Zawartość kwasu dezoksyrybonuklinowego w jądrach komórkowych w śśazie różnicowanie się płciowego gonad. *Folia morphol.* (Warszawa), 25, 1966, s. 21—50.
- BLACK, V. H. — CHRISTENSEN, A. K.: Differentiation of interstitial cells and Sertoli cells in fetal guinea pig testes. *Amer. J. Anat.*, 124, 1969, s. 211—238.
- CIGÁNKOVÁ, V.: Prenatálny a postnatálny vývoj Sertoliho buniek u baranov. *Veter. Med.* (Praha), 28, 1983, s. 613—620.
- FRENCH, F. S. — RITZEN, E. M.: Anrogen-binding protein in efferent duct fluid of rat testis. *J. Reprod. Fertil.*, 32, 1973, s. 479—483.
- GONDOS, B. — CONNER, L. A.: Ultrastructure of developing germ cells in the fetal rabbit testis. *Amer. J. Anat.*, 136, 1973, s. 23—42.
- CHIQUE, D. A.: The identification of origin and migration of the primordial germ cells in the mouse embryo. *Anat. Rec.*, 118, 1954, s. 135—145.
- JANTOŠOVIČOVÁ, J.: Ranné vývojové štádiá sexuálnej diferenciácie gonády a genitálneho traktu u embrya ovce. [Habilitationná práca.] Košice 1978. — Vysoká škola veterinárna.
- JANTOŠOVIČOVÁ, J. — HÁJOVSKÁ, B.: Príspevok k štúdiu vývoja urogenitálneho aparátu embrya ovce. *Folia veter.*, 19, 1975, s. 343—351.
- JOST, A. — MAGRE, S. — AGELOPOULOU, R.: Early stages of testicular differentiation in the rat. *Hum. Genet.*, 58, 1981, s. 59—63.
- MAGRE, S. — JOST, A.: The initial phases of testicular organogenesis in the rat: An electron microscopy study. *Arch. Anat. microsc. Morphol. expér.*, 69, 1980, s. 297—318.
- MERCHANT, H.: The onset of testicular differentiation in the rat: Ultrastructural study. *Amer. Anat.*, 145, 1976, s. 319—330.
- OHNO, S. — NAGAI, Y. — CICCARESE, S. — IWATA, H.: Testis organizing H-Y antigen and the primary sex-determining mechanism of mammals. *Recent Prog. Horm. Res.*, 35, 1979, s. 449—476.
- PELLINIEMI, L. J. — NIEMI, M.: Fine structure of human foetal testis: I. The interstitial tissue. *Z. Zellforsch. mikrosk. Anal.*, 99, 1969, s. 507—522.
- PELLINIEMI, L. J. — LAUTEALA, L.: Development of sexual dimorphism in the embryonic gonad. *Hum. Genet.*, 58, 1981, s. 64—67.
- PICARD, J. Y. — TRAN, D. — JOSSO, N.: Biosynthesis of labelled anti-müllerian hormone by fetal testes: Evidence for the glykoprotein nature of the hormone and for its disulfide-bonded structure. *Molec. cell. Endocrinol.*, 12, 1978, s. 17—30.
- REYNOLDS, E. S.: The use of lead citrate at high pH as an electron opaque stain in electron microscopy. *J. Cell Biol.*, 17, 1963, s. 208—212.
- RUSSO, J. — DE ROSAS, J. C.: Differentiation of the Leydig cell of the mouse testis during the fetal period: An ultrastructural study. *Amer. J. Anat.*, 130, 1971, s. 461—480.
- SAPSFORD, C. S.: The development of the testis of the Merino ram, with special reference to the origin of the adult stem cells. *Austral. J. agric. Sci.*, 13, 1962, s. 483—502.
- TOYAMA, Y. — OBINATA, T. — NOLTZER, N.: Crystalloids of actin-like filaments in the Sertoli cell of the swine testis. *Anat. Rec.*, 195, 1979, s. 47—62.
- VRZGULOVA, M.: Changes in lamina propria of the seminiferous tubules after ischaemia in the testis of Rams. *Zool. Jb. Abt. Anat.*, 101, 1979, s. 407—424.
- WACHTEL, S. S. — OHNO, S. — KOO, G. C. — BOYSE, E. A.: Possible role for H-Y antigen in the primary determination of sex. *Nature*, 257, 1975, s. 235—236.
- WARTENBERG, H.: The influence of the mesonephric blastema on gonadal development and sexual differentiation. In: BYSKOV, A. G. — PETERS, H. (eds.): Development and function of reproductive organs. *Int. Congr. Ser. No 559. Excerpta Medica, Amsterdam, Oxford, Princeton*, 1981, s. 3—12.
- WROBEL, K. H. — DOSTAL, S. — SCHIMMEL, M.: Postnatal development of the tubular lamina propria and the intertubular tissue in the bovine testis. *Cell Tissue Res.*, 252, 1988, s. 639 až 653.
- ZAMBONI, L. — UPADHYAY, S.: The contribution of the mesonephros to the development of the sheep fetal testis. *Amer. J. Anat.*, 165, 1982, s. 339—356.

Došlo dňa 3. 8. 1989

ЦИГАНКОВА, В. (Институт ветеринарии, Кошице): Гистологическая и субмикроскопическая картина дифференциации семенников (*Ovis aries*) в аспекте эволюции. *Veter. Med.* (Praha), 35, 1990 (7): 419-425.

Мы направили разработки на ранние стадии процесса дифференциации пола у зародышей овец, прослеживая ее у индифферентной гонады на семенниках. Имеющиеся в данной области сведения неполные и касаются, главное, лабораторных животных или человека. Мы получали эмбрионы искусственно осемененных овец словацкий

меринос с помощью лапаротомии на 26-й, 28-й, 30-й, 35-й, 37-й, 40-й и 45-й дни внутри-маточного развития. Материал обрабатывался для световой и трансмиссионной электрон-микроскопии. Мы описали морфологическую картину компонентов фетальных семен-ников в изучаемый период с особым учетом тех компонентов, которые тесно связаны с их функциональной активностью в процессе развития. Наши результаты помогут расширить теоретические основы в ветеринарной эмбриологии, физиологии, эндокри-нологии и андрологии.

индифферентная гонада; развитие и дифференциации семенников; морфология

CIGÁNKOVÁ, V. (University of Veterinary Medicine, Košice): *A histological and submicroscopic picture of testicle differentiation in rams (Ovis aries) from developmental aspects*. Veter. Med. (Praha), 35, 1990 (7) : 419–425.

Our studies were focused at an early developmental stage of sexual differentiation in the ovine embryo. The development and differentiation of indifferent gonad into testicles was investigated. The comprehensive knowledge in this sphere is lacking and applies mainly to laboratory animals and man. The embryos of artificially inseminated ewes of the Slovak Merino breed were recovered by laparotomy on days 26, 28, 30, 35, 37, 40 and 45 of intrauterine development. The material was prepared for an examination by light and transmission electron microscopy. The morphological picture of individual components of foetal testicles was described in the investigated period of in-trauterine development; special attention was paid to those morphological components which are closely related with their functional activity in the course of development. The results of this study will contribute to the enrichment of theoretical principles of veterinary embryology, physiology, endocrinology and andrology.

indifferent gonad; development and differentiation of testicles; morphology

CIGÁNKOVÁ, V. (Veterinärmedizinische Hochschule, Košice): *Histologisches und submikrosko-pisches Bild der Samendrüsendifferenzierung bei Schafen (Ovis aries) vom Aspekt der Entwicklung*. Veter. Med. (Praha), 35, 1990 (7): 419–425.

Unser Studium war auf das zeitige Entwicklungsstadium der sexuellen Differenzierung bei Scha-fembryonen orientiert. Wir studierten die Entwicklung und die Differenzierung der indifferenten Gonade zu Samendrüsen. Die bisherigen Erkenntnisse auf diesem Gebiet sind unvollständig und betreffen vorwiegend Labortiere und den Menschen. Embryonen künstlich besamter Mutter-schafe der Rasse Slowakisches Merino-Schaf wurden mittels Laparotomie am 26., 28., 30., 35., 37., 40. und 44. und 45. Tag der intrauterinen Entwicklung gewonnen. Das Material wurde für Licht- und Transmissions-Elektronen-mikroskopie verarbeitet. Beschrieben wurde das morphologische Bild der einzelnen Komponenten der fetalen Samendrüsen während der studierten Periode der intrauterinen Entwicklung, mit besonderer Orientierung auf jene morphologischen Komponenten, die mit ihrer Funktionsaktivität während der Entwicklung zusammenhängen. Die Ergebnisse un-serer Arbeit tragen zur Erweiterung der theoretischen Grundlagen der Veterinärembryologie, -physiologie, -endokrinologie und -androgologie bei.

indifferente Gonade; Entwicklung und Differenzierung der Samendrüsen; Morphologie

Adresa autorky:

MVDr. Viera Cigánková, CSc., Vysoká škola veterinárská, Komenského 73, 041 81 Košice

Od července letošního roku vychází

NOVÝ ČTRNÁCTIDENÍK

pod názvem

BULLETIN EHS

(zemědělství, výživa)

Cílem Bulletinu EHS je průběžně poskytovat informace z literárních zdrojů (časopisů, periodik i neperiodik) v oblasti zemědělství a potravinářství. Rozsah informací je podáván v podobě vybraných překladů či výtahů z článků a ustanovení základního významu a formou anotací z literatury o EHS dostupné ve fondu Ústřední zemědělské a lesnické knihovny ÚVTIZ.

Buletin EHS operativně informuje o základním ekonomicko-politickém i technickém dění v členských zemích EHS i v centrále v Bruselu.

Podstatnou částí bulletinu je též pravidelný oddíl Z obsahu deníku EHS, který obsahuje překlad obsahu deníku Journal officiel des Communautés européennes, jak jeho řady L (Législation), tak řady C (Communications et informations).

Časopis vychází 1 × za 14 dní, v roce 1990 vyjde 12 čísel.

Cena jednoho čísla je 14 Kčs.

Prostřednictvím Bulletinu EHS chceme přispět k větší informovanosti pracovníků všech sfér národního hospodářství zabývajících se problematikou vztahů mezi ČSFR a zeměmi EHS.

Objednávky zasílejte na adresu:

Ústav vědeckotechnických informací pro zemědělství
Slezská 7, 120 56 Praha - oddělení odbytu a propagace

METABOLISMUS MINERÁLIÍ U PSŮ V PRŮBĚHU VÝCVIKOVÉ A PRACOVNÍ ZÁTĚŽE

J. Konrád, M. Cupák, J. Hrušovský, S. Husák, K. Šmíd

KONRÁD, J. — CUPÁK, M. — HRUŠOVSKÝ, J. — HUSÁK, S. — ŠMÍD, K. (Vysoká škola veterinární, Brno: *Metabolismus minerálií u psů v průběhu výcvikové a pracovní zátěže*. Veter. Med. (Praha), 35, 1990 (7) : 427—435.

Byly studovány hladiny základních minerálních prvků (Na, K, Mg, Ca, P, Cl) u služebních psů v průběhu dlouhodobého základního výcviku, dvou věkových kategorií a vliv různé pracovní zátěže (psi hlídkoví, prověřovací, strážní) na dynamiku hladin těchto prvků. V průběhu dlouhodobého výcviku prokázaly výrazné změny v dynamice jednotlivých minerálií, signalizující nástup svalové insuficience a únavy v průběhu výcviku, stejně jako adaptačních procesů na psychickou a fyzickou zátěž (Na, K, Mg). Zvýšené hladiny Ca a P na počátku a v době intenzivního výcviku s nebezpečím demineralizace kostí, signalizují nástup osteopatií, poruch v dráždivosti svalové a nervové buňky a nevyváženost krmné dávky. Dlouhodobá i kvalitativně odlišná pracovní zátěž dokládá u služebního psa uspokojivý adaptační proces se stabilizací vnitřního prostředí v oblasti metabolismu minerálií. Dosažené výsledky je možno zařadit do testů výcvikové a pracovní zátěže služebního psa.

klinická biochemie; metabolismus minerálií; fyziologie výcviku; pracovní zátěž; kynologie

Metabolismus minerálií patří mezi základní složky, charakterizující určitý obraz biochemismu vnitřního prostředí organismu. Ve veterinární medicíně je mu věnována značná pozornost především ve vztahu k poruchám látkového metabolismu, v návaznosti na výživu a s ní spojené určité deficiencie jednotlivých minerálních složek.

V dostupné literatuře jsme se nesetkali se zkušenostmi, které by se zabývaly metabolismem minerálií v průběhu výcvikové nebo pracovní zátěže psů. U sportovců je známo, že dlouhodobá zátěž vyvolává nejmarkantnější změny v hladině draslíku. S jeho počáteční elevací a pozdější depresí, ve vazbě na glykolýzu a pozdější fosforylační děje (Handzo aj., 1980). Přitom současný nižší obsah chlóru je výsledkem jeho přesunu mezi erytrocytem a plazmou a sodíku jeho přesunem do svalových buněk (Macek a Vávra, 1980).

Této problematice je věnována pozornost především u sportovních koní. V literatuře se však nacházejí značné rozdíly v hodnotách minerálních prvků v krvi a v potu koní, kdy jsou zjišťovány po intenzivní zátěži mnohonásobně zvýšené hodnoty elektrolytů vápníku, sodíku a draslíku v potu (Soliman a Nadim, 1967). Odlišné hodnoty však uvádí u dostihových koní Tschen (1973). Rozdíly jsou rovněž zjišťovány mezi věkem zvířat, kdy u mladších jedinců jsou vyšší a s postupem věku a tréninkové adaptace se snižují (Jeffcott, 1974; Ekman a j., 1977; Hanák, 1983).

MATERIÁL A METODY

Výzkumu se podrobilo 30 psů ve věku do dvou let (osm jedinců) a od dvou do pěti let (22 jedinců). Tyto dvě skupiny psů prodělávaly dlouhodobý výcvik v délce trvání 130 dnů, v období od 13. května do 20. září. Celkem bylo odebráno osm krevních vzorků, vždy v intervalu 14 dnů, první

před zahájením výcviku sloužil jako kontrola. Na obr. 1 až 6, které zachycují výsledky této skupiny psů, čísla uvedená na spodní ose grafů (20, 40, ... 120) značí dny výcviku.

Pro studium pracovní zátěže bylo vybráno 29 psů s průměrnou věkovou hranicí 5,4 roku (2 až 10). Jako psi hlídkoví pracovalo 16 psů (skupina 1), devět psů jako psi prověřovací (skupina 2) a čtyři psi jako strážní (skupina 3). Jako kontrola bylo 30 psů bez jakékoliv pracovní zátěže a trénovanosti (skupina 0).

Pro dlouhodobé sledování, v trvání sedmi měsíců v období od 13. dubna do 18. listopadu, byli vybráni ze skupiny 29 psů tři, vykonávající prověřovací službu (skupina B₁) a čtyři hlídkoví psi (skupina C₁). Také u těchto psů byly 14denní intervaly mezi odběry krevních vzorků.

Výživa psů zařazených do výzkumu byla zajišťována podle receptury krmné dávky pro služební psy plemene NO ve složení (v gramech): krmné odpadové maso 1000, příkrm (těstoviny, ovesné vločky, šroty, suchary) 400, brambory 200, zelenina 100, vitaminózní a minerální směs 10, sůl 15.

Makroklimatické podmínky v prostoru, kde se prováděl výcvik psů, byly charakterizovány teplotou mezi 16 až 18 °C s převahou deštivého počasí, u skupiny psů s pracovní zátěží se denní teplota pohybovala v rozmezí 20 až 24 °C s převahou slunného počasí.

Charakteristika výcvikové a různých druhů pracovní zátěže je podrobně rozvedena v předěšlých pracích (Konrád aj., 1988a, b).

Hladiny minerálních látek sodíku, draslíku, vápníku, hořčíku a chloridy v plazmě byly určovány metodou atomové absorpční spektrofotometrie na přístroji Atomspek fy Hilger-Watts. Anorganický fosfor a chloridy byly určovány pomocí souprav Biotestu Lachema.

Výsledky jsou zpracovány v tabulkové a grafické úpravě u těch ukazatelů, u nichž se statistické vyhodnocení ukázalo jako průkazné ($P < 0,05$ nebo vysoce průkazné $P < 0,01$).

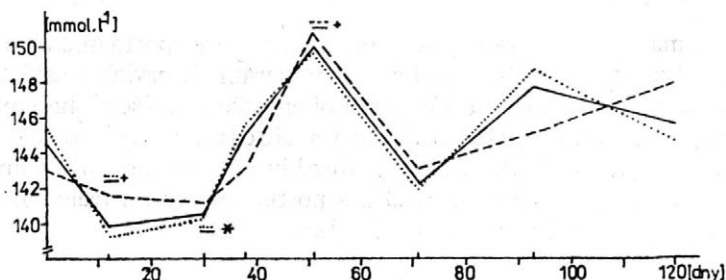
VÝSLEDKY

Ve výsledcích uvádíme hodnoty sodíku, draslíku, hořčíku, vápníku, anorganického fosforu a chloridů v průběhu dlouhodobého výcviku a za různých forem pracovní zátěže služebních psů.

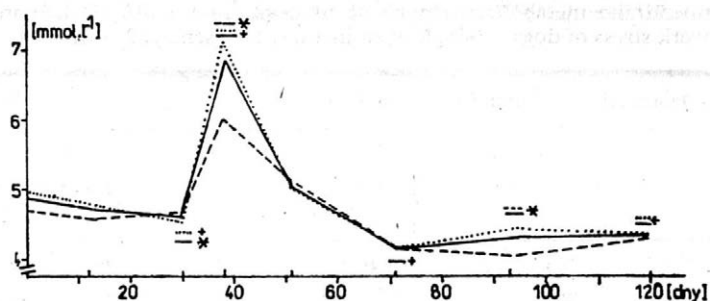
DLOUHODOBÝ VÝCVIK

Sodík (Na) vykazuje v průběhu 120 dnů snížené hodnoty v prvních 14 dnech až jednoho měsíce, u starších psů statisticky průkazné ($P < 0,01$ až $0,05$). Nesignifikantní pokles vykazují i psi mladší kategorie. Vzestup hladiny Na se zjišťuje od 30. dne výcviku, přitom u skupiny mladších psů dosahuje křivka v 50. dnu výcviku vůbec maxima (150,71 mmol.l⁻¹). V dalším období jsou hladiny nesignifikantní kolem normálu (obr. 1).

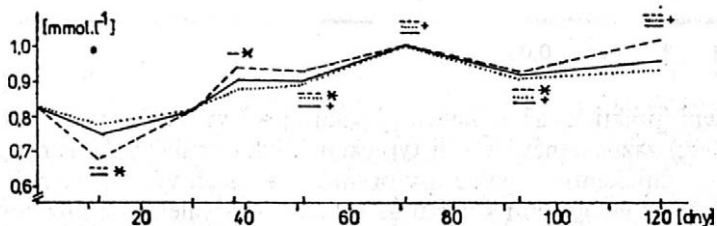
Draslík (K) podává značně charakteristickou křivku. Po poklesu hladiny signifikantně u starších psů, následuje u obou věkových kategorií prudký vzestup (skupina do dvou let věku $P < 0,05$, psi starší $P < 0,01$). Od 40. dne výcviku se hladina K trvale snižuje tak, že 50. den se blíží normálním hodnotám a od 70. dne je u obou skupin zaznamenáno



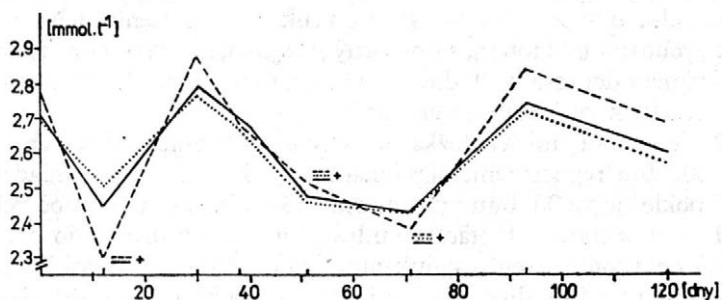
1. Hladiny sodíku v průběhu dlouhodobého výcviku psů; psi ve věku: — — — — do 2 let, 2 až 5 let, ————— více než 5 let, + = $P < 0,01$, * = $P < 0,05$ (platí pro obr. 1 až 6) — Sodium contents during the long-term training of dogs; dogs at the age of: — — — — less than 2 years, 2 to 5 years, ————— more than 5 years, + = $P < 0,01$, * = $P < 0,05$ (applies to Figs. 1 to 6)



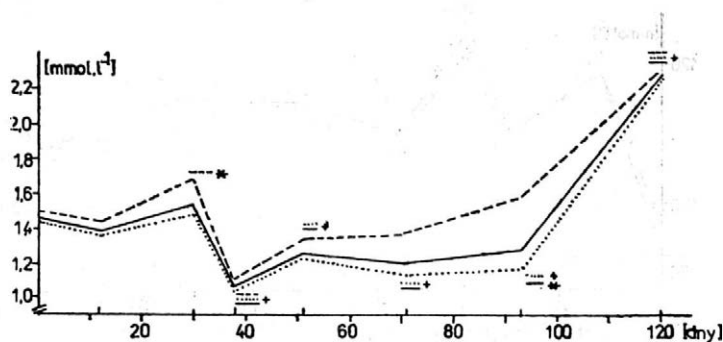
2. Hladiny draslíku v průběhu dlouhodobého výcviku psů — Potassium contents during the long-term training of dogs



3. Hladiny hořčíku v průběhu dlouhodobého výcviku psů — Magnesium contents during the long-term training of dogs



4. Hladiny vápníku v průběhu dlouhodobého výcviku psů — Calcium contents during the long-term training of dogs



5. Hladiny anorganického fosforu v průběhu dlouhodobého výcviku psů — Inorganic phosphorus contents during the long-term training of dogs

	Hodnota	Skupina psů				
		0		1		2
		$\bar{x}$	s	$\bar{x}$	s	$\bar{x}$
Minerální metabolismus	Na	146,16	6,73	147,25	8,07	150,50
	K	4,73	0,41	5,86	0,53	5,96
	Mg	0,74	0,20	0,82	0,07	0,77
	Ca	2,54	0,35	2,82	0,04	2,69
	P	1,63	0,47	1,31	0,20	1,35

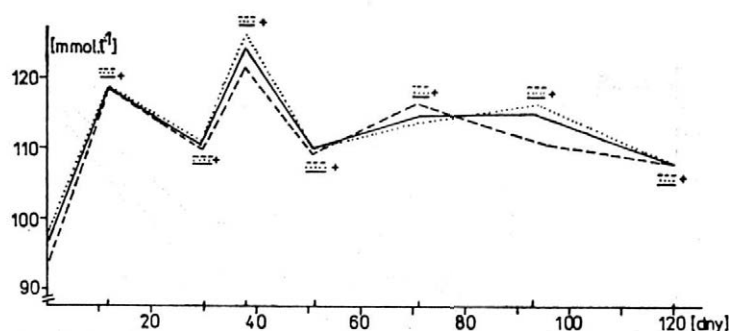
+ = $P < 0,01$ * = $P < 0,05$

průkazné snížení (prakticky až do konce výcviku), ještě výraznější u starších psů (obr. 2).

Hořčík (Mg) zaznamenává velmi typickou křivku průběhu během celého výcviku. Po počátečním signifikantním poklesu v prvních 14 dnech výcviku dochází k vyrovnání na výchozí hodnoty ve 30. dnu s postupnou tendencí trvalého signifikantního vzestupu u obou věkových kategorií ($P < 0,05$ a $P < 0,01$). Nejvyšší hodnoty vůbec byly zaznamenány u mladších psů při odběru krve v 70. a pak 120. dnu výcviku (1,03 a 1,02 mmol. l^{-1}) — (obr. 3).

Vápník (Ca) vykazuje až do 70. dne výcviku značné kolísání s nápadným poklesem v prvních 14 dnech a u mladších psů s vysoce průkazným snížením jeho hladiny. Následuje vrácení k výchozím hodnotám, s opětovným statisticky vysoce průkazným poklesem v 50. dnu s maximem deprese v 70. dnu výcviku, a to u obou věkových kategorií. Následuje návrat prakticky k výchozím hodnotám (obr. 4).

Fosfor (P), jeho anorganická složka, nevykazuje v prvních 14 dnech žádné zvláštní odchylky. Ke 30. dnu registrujeme signifikantní zvýšení hladiny u mladších psů. Následný prudký pokles je ve 38. dnu vysoce statisticky významný pro obě věkové skupiny psů ($P < 0,01$) a na těchto hodnotách se udržuje u starších psů až do 93. dne výcviku. U mladších psů není toto snížení signifikantní. Po tomto termínu odběru dochází k nápadnému vzestupu a ve 120. dnu výcviku je vysoce průkazné pro obě věkové kategorie psů ($P < 0,01$) — (obr. 5).



6. Hladiny chloridů v průběhu dlouhodobého výcviku psů — Chloride contents during the long-term training of dogs

			Vzájemné porovnání — průkaznost					
3			1:2		1:3		2:3	
s	$\bar{x}$	s	r	P	r	P	r	P
4,41	154,20	7,63	-3,25	—	-7,00	—	-3,70	—
0,28	5,20	0,29	-0,10	—	0,66	+	0,76	+
0,18	0,76	0,15	0,05	—	0,06	—	0,01	—
0,24	2,47	0,02	0,13	+	0,35	*	0,22	+
0,24	1,09	0,12	-0,04	—	0,22	—	0,26	—

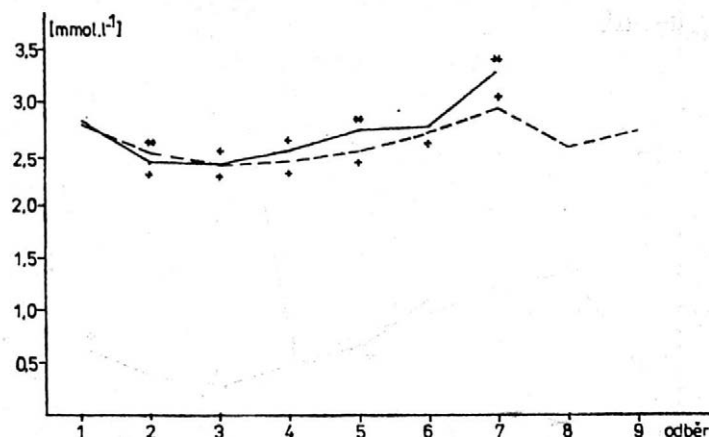
Chloridy prezentují v průběhu celého výcviku nejcharakterističtější křivku. Již od prvních dnů výcviku dochází k jejich podstatnému zvýšení s průkazností ($P < 0,01$) ve 14. dnu u obou věkových kategorií. Přechodné snížení ve 30. dnu, avšak stále ve zvýšené průkaznosti, následuje další prudké zvýšení ve 38. dnu s maximem $125,04 \text{ mmol.l}^{-1}$ u starších a $121,50 \text{ mmol.l}^{-1}$ u mladších psů. Průkazně zvýšené hladiny Cl zůstávají až do posledního odběru krevních vzorků, tj. do 120. dne výcviku (obr. 6).

PRACOVNÍ ZÁTĚŽ

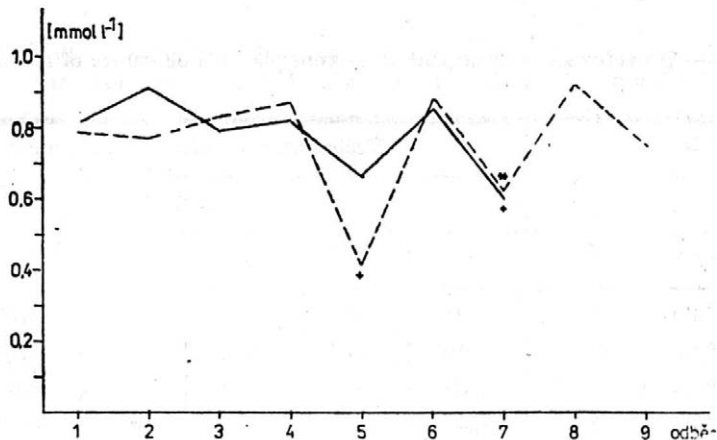
Tato část výzkumu měla za úkol vyhodnotit vliv různé pracovní zátěže — psi hlídkoví (skupina 1), prověřovací (skupina 2) a psi strážní (skupina 3), kteří jsou na příslušnou pracovní náplň i psychické zatížení plně adaptováni, mezi sebou navzájem a se skupinou kontrolní (0).

Statistické hodnocení

Získané výsledky se týkají hodnot minerálního metabolismu u příslušných psů, s různým pracovním zatížením, při jednorázovém vyšetření (tab. I).



7. Hladiny vápníku v průběhu dlouhodobého odlišného pracovního zatížení; ——— psi prověřovací (B₁), - - - - psi hlídkoví (C₁), + = $P < 0,01$, * = $P < 0,05$ (platí pro obr. 7 až 9) — Calcium contents during the long-term different work stress; ——— tracker dogs (B₁), - - - - sentry dogs (C₁), + = $P < 0,01$, * = $P < 0,05$ (applied to Figs. 7 to 9)



8. Hladiny hořčíku v průběhu dlouhodobého odlišného pracovního zatížení — Magnesium contents during the long-term different work stress

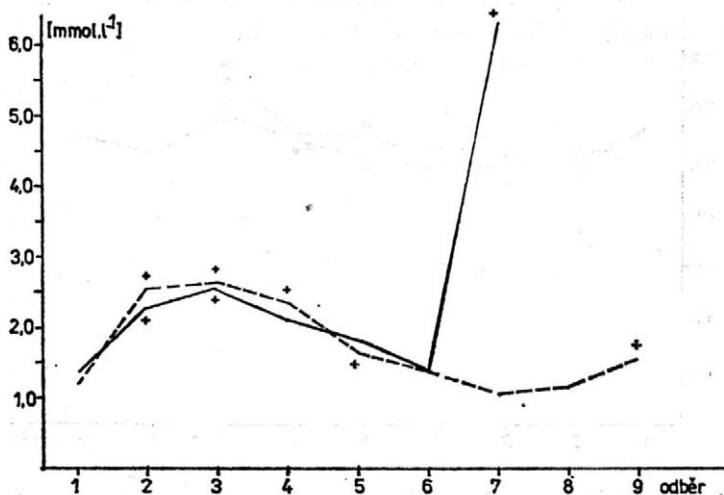
Draslík vykazuje vysoce průkazné rozdíly mezi psy skupiny 1 a 3 a mezi psy skupiny 2 a 3. Vždy se jedná o nižší hodnoty K u skupiny 3, která v průměru dosahuje pouze 5,20 mmol.l⁻¹. Přitom však ale i tato hodnota je vyšší než průměrná hodnota draslíku u kontrolní skupiny 0.

Vápník zaznamenal nejvyšší hladiny u psů skupiny 1, která je vůči skupině 2 vysoce statisticky průkazná ($P < 0,01$) a vůči skupině 3 průkazná ($P < 0,05$). Vysoce průkazné jsou i hladiny Ca mezi skupinou psů 2 a 3 ($P < 0,01$).

Hladiny sodíku, hořčíku a anorganického fosforu neprokázaly při vzájemném porovnání všech tří skupin signifikantní rozdíly. Hladina chloridů nebyla zjišťována.

Dlouhodobé sledování

Cílem sedmiměsíčního sledování čtyř psů hlídkových (C₁) se středně těžkou fyzickou zátěží a tří psů prověřovacích (B₁), zařazených pracovní mezi těžké až velmi těžké fyzické a psychické zátěže, bylo prověřit tento dlouhodobý vliv odlišné pracovní zátěže



9. Hladiny anorganického fosforu v průběhu dlouhodobého odlišného pracovního zatížení — Inorganic phosphorus contents during the long-term different work stress

na minerální metabolismus. Přitom se jednalo u obou skupin psů na dlouhodobě adaptovanou zátěž. Krevní vzorky byly odebrány devětkrát u skupiny C₁ a sedmkrát u skupiny B₁. Výsledky jsou zpracovány graficky.

Sodík vykazuje nejstabilnější hodnoty s tím, že pouze u skupiny B₁ při pátém odběru bylo zaznamenáno signifikantní snížení na 140,33 mmol.l⁻¹ ($P < 0,05$).

Draslík zaznamenal nápadnější kolísání především u skupiny psů C₁, zatímco skupina B₁ vykazuje statistické snížení pouze u pátého odběru.

Vápník potvrzuje u obou skupin signifikantní snížení, zvláště u skupiny C₁, kde se od sedmého odběru hladina opět zvyšuje (obr. 7).

Hořčík prokázal statistický pokles pouze při pátém a sedmém odběru u skupiny C₁ a při sedmém odběru u skupiny B₁ (obr. 8).

Fosfor potvrdil výrazný vzestup v prvních dvou měsících u skupiny C₁. U skupiny B₁ v prvním a pak s nejvyšší naměřenou hodnotou při sedmém odběru (6,34 mmol.l⁻¹) — (obr. 9).

DISKUSE

Minerální metabolismus má významnou roli při řízení řady fyziologických funkcí v organismu a jeho sledování má proto i plné opodstatnění při studiu výcvikové a pracovní zátěže na organismus psa, což dosvědčují i zjištěné závažné změny v naší studii. Změny koncentrace minerálií odrážejí snahu organismu po vyrovnání osmolarity extracelulárního a intracelulárního prostoru.

Sodík vykazující na počátku výcvikového období pokles, koresponduje u lidí s údaji, které uvádí Handzo (1980), kdy se společně s chloridy přesouvá z plazmy do intracelulárního prostoru k vyrovnání osmotických změn. Sodík také při katabolické činnosti vstupuje s vodou do buněk za směnu s draslíkem. Tím se i vysvětluje nápadný vzestup draslíku kolem 40. dne výcviku. Je to dáno i intenzitou glykolýzy a úbytkem glykogenu ve svalových buňkách s nástupem svalové slabosti a únavy. Jeho další pokles je vysvětlován fosforylačními ději při obnovování glykogenu v průběhu dlouhodobého výcviku. Pokles hodnot vápníku v úvodní fázi až do poloviny výcviku se zdůvodňuje jeho zvýšenou potřebou u neadaptovaného organismu, kdy se uvolňuje z kostní tkáně na základě zvýšené sekrece parathormonu a je čerpán i z plazmy. Také u vápníku jako u sodíku nutno brát jeho vyšší hodnoty u psů v porovnání s koňmi, jejich výrazným přestupem do potu koní (Soliman a Nadim, 1967), stejně jako u lidí (Macek a Vávra, 1980).

Podobné zkušenosti dokládá i metabolismus fosforu a jeho vzájemný vztah k vápníku. Pokud není hrazen jeho požadavek při zvýšené fyzické námaze z potravy, dochází k jeho uvolňování z kostní tkáně, jak je patrné z jeho dynamiky v poslední fázi výcviku. Jeho vyplavování společně s vápníkem může mít negativní dopad na demineralizaci kostí, s nástupem patologických procesů v kosterním svalstvu, a tím i narušení pracovního nebo výcvikového výkonu. Tyto otázky vyžadují ještě dalších studií, podobně jako u lidí, kdy ukládání vápníku při zvýšené koncentraci v extracelulární tekutině v měkkých tkáních způsobuje řadu sportovních úrazů a mikrotraumat (Macek a Vávra, 1980).

Podobnou pozornost je nutno věnovat i dynamice hořčíku, kdy jeho trvalý vzestup je ve shodě s údaji, které uvádějí Wittke aj. (1974), stejně jako negativní korelace mezi draslíkem a chlórem u koní, kterou cituje Roy (1974).

Chlór jako hlavní anion extracelulární tekutiny se přesouvá při zvyšování kyselých složek v erytrocytu, jak je tomu při fyzické zátěži, do plazmy. Tím se také vysvětluje prakticky po celou dobu výcviku signifikantní zvýšení. I zde je nutno brát jeho nedostatečné ztráty potem, jak je tomu u koní (Hanák, 1983).

Při hodnocení tří skupin psů s rozdílnou pracovní zátěží ve vztahu k minerálnímu metabolismu, při jejich dlouhodobé adaptaci na takovou zátěž, nezaznamenali jsme

zvlášť významné odchylky. Nižší hodnoty byly prokázány pouze u skupiny 3 v hladině draslíku a vápníku. Přitom se jedná o skupinu s nejnižší pracovní zátěží. Naproti tomu v porovnání se skupinou psů netrénovaných (bez výcviku), vykazují psi uvedených tří rozdílných pracovních zátěží zvýšené hodnoty (kromě fosforu) u všech sledovaných minerálních prvků — Na, K, Mg, Ca. Tyto poznatky korespondují rovněž s poznatky u lidí (Macek a Vávra, 1980).

Dlouhodobé sledování (sedm měsíců) dvou skupin psů s odlišnou pracovní zátěží, vykazovalo snížení hodnot vápníku v prvních dvou třetinách sledovaného období a s obráceným poměrem u fosforu s počátečním vzestupem v první třetině (B₁) až první polovině (C₁) sledovaného období. Ukazuje se, že by se současně měly provádět i rozborů krmné dávky.

Souhrnně lze konstatovat, že sledování metabolismu minerálií v průběhu dlouhodobého výcviku i za různých pracovních zátěží dává vyšetřujícímu solidní obraz o probíhajících procesech vnitřního prostředí v této oblasti, se signalizací nástupu svalové insuficience a únavy v průběhu výcviku, stejně jako normalizačních (adaptačních) úprav ve svalstvu. Zvýšená potřeba vápníku a anorganického fosforu na počátku a v době intenzivního výcviku s nebezpečím demineralizace kostí signalizuje nástup osteopatií, poruch v dráždivosti svalové a nervové buňky a nevyváženost výživy. Dlouhodobá pracovní zátěž i kvalitativně odlišného charakteru dokládá u služebního psa uspokojivý adaptační proces se stabilizací vnitřního prostředí. Dosažené výsledky je tedy možné zařadit do testů výcvikové a pracovní zátěže.

Literatura

- EKMÁN, L. — PERSSON, S. — ULLBERG, L.: The levels of some constituents in standarder horses during their first year of life. Amer. Ass. Eq. Pract., 1977, s. 289—296.
HANDZO, P. aj.: Tělovýchovné lékařství. Praha, Avicenum 1980.
HANÁK, J.: Fyziologie treninku sportovních a dostihových koní. Praha, Turf klub SSM 1983.
JEFFCOTT, L.: Haematology in relation to performance and potential. J. S. Afr. Veter. Ass., 45, 1974, s. 279—286.
KONRÁD, S. — CUPÁK, M. — HRUŠOVSKÝ, J. — HUSÁK, S. — ŠMÍD, K.: Enzymová aktivita pod vlivem výcvikové zátěže služebního psa. Veter. Med. (Praha), 33, 1988a, s. 185—191.
KONRÁD, J. — CUPÁK, M. — HRUŠOVSKÝ, J. — HUSÁK, S. — ŠMÍD, K.: Vliv výcvikové a pracovní zátěže na bílkovinný metabolismus psa. Veter. Med. (Praha), 33, 1988b, s. 347—356.
MÁČEK, M. — VÁVRA, J.: Fyziologie a patofyziologie tělesné zátěže. Praha, Avicenum 1980.
ROY, J.: Etude sur quelques chevaux en bonne santé des variations journalières et horaires des principaux électrolytes du plasma. These École Nat. Veter., Lyon, 1974.
SOLIMAN, M. — NADIM, M.: Calcium, sodium and potassium level in serum and sweat of healthy horses after strenuous exercise. Zbl. Veter. Med. A., 14, 1957, s. 53—56.
TSCHEN, T.: Das Verhalten der Mineralstoffe Natrium und Kalium im Blutserum von Aportpferden vor und nach körperlicher Leistung. Diss., KMU-Sekt. Tierprod. und Veter. Med., Leipzig, 1973.
WITKE, G. — FRANKE, D. — KRZYWANIEK, H.: Elektrolytkonzentration und Osmolarität des Blutplasmas von Trabrennpferden nach Wettkampfbelastung. Berl.-Münch. Tierärztl. Wschr., 87, 1974, s. 425—428.

Došlo dne 28. 3. 1989

КОНРАД, Я. — ЦУПАК, М. — ГРУШОВСКИ, Й. — ГУСАК, С. — ШМИД, К. (Институт ветеринарии, Брно): Метаболизм минеральных веществ у собак в ходе дрессировки и натаски. Veter. Med. (Praha), 35, 1990 (7) : 427-435.

Определяли уровни основных минеральных веществ (Na, K, Mg, Ca, P, Cl) у служебных собак в ходе длительной дрессировки, двух категорий возраста, как и влияние разной натаски (сторожевые, проверочные, патрульные) на динамику уровней этих элементов. В ходе длительной дрессировки отмечены заметные изменения в их динамике, сигнализирующие начало мышечной недостаточности и усталости, как адаптивных процессов на психическую и физическую нагрузку (Na, K, Mg). Повышенные уровни Ca и P в начале и на протяжении интенсивной дрессировки связаны с де-

минерализацией костей, ведущей к началу остеопатии, расстройствам в раздражимости мышечных и нервных клеток, чему может способствовать и несбалансированность кормового рациона. Длительная и разноколичественная натаска показывает у служебной собаки удовлетворительный адаптивный процесс с упрочением внутренней среды в области метаболизма минеральных веществ. Эти результаты можно включить в тесты по дрессировке и натаске служебных собак.

клиническая биохимия; метаболизм минеральных веществ; физиология дрессировки; натаска; кинология

KONRÁD, J. — CUPÁK, M. — HRUŠOVSKÝ, J. — HUSÁK, S. — ŠMÍD, K. (University of Veterinary Medicine, Brno: *Minerals metabolism in dogs during their training and work stress*. Veter. Med. (Praha), 35, 1990 (7) : 427—435.

The contents of basic mineral elements (Na, K, Mg, Ca, P, Cl) were investigated in service dogs during their long-term basic training; the dogs belonged to two age categories, and the influence of different work stress (sentry, tracker, watch dogs) on the changes in the contents of these elements was also studied. Great changes in the dynamics of individual elements were demonstrated during the long-term training, signalling the beginning of muscular insufficiency and fatigue in the course of training, as well as the onset of adaptation processes to the psychic and physical stress (Na, K, Mg). The increased contents of Ca and P at the beginning and during the intensive training with a risk of bone demineralization, indicate the beginning of osteopathy, disorders of muscular and nervous irritability and unbalanced feed rations. The satisfactory adaptation process with the stabilized internal environment in the sphere of minerals metabolism is documented in service dogs by the long-term and qualitatively different work stress. The results of our studies can be included into the tests of training and work stress in service dogs.

clinical biochemistry; minerals metabolism; training physiology; work stress; cynology

KONRÁD, J. — CUPÁK, M. — HRUŠOVSKÝ, J. — HUSÁK, S. — ŠMÍD, K. (Veterinärmedizinische Hochschule, Brno: *Mineralienstoffwechsel bei Hunden während der Abrichtungs- und Arbeitsbelastung*. Veter. Med. (Praha), 35, 1990 (7) : 427—435.

Wir studierten das Niveau mineralischer Grundelemente (Na, K, Mg, Ca, P, Cl) bei Diensthunden (Patrouille-, Such- und Wachhunde) im Verlauf langfristiger Grundabrichtung, bei zwei Alterskategorien der Hunde, sowie den Einfluß verschiedener Arbeitsbelastung auf die Dynamik des Niveaus dieser Elemente. Im Verlauf des langfristigen Abrichtungsprozesses brachten die Ergebnisse markante Veränderungen in der Dynamik der einzelnen Mineralien an den Tag, die das Aufkommen einer Muskelsuffizienz und der Ermüdung während der Dressur signalisierten, sowie Veränderungen der Adaptationsprozesse auf die psychische und physische Belastung (Na, K, Mg). Erhöhte Ca- und P-Spiegel am Anfang und zur Zeit der intensiven Dressur mit der Gefahr einer das Entstehen von Osteopathie signalisieren die Demineralisation der Knochen, Störungen der Reizbarkeit der Muskel- und Nervenzellen und Unausgeglichenheit der Fütteration. Eine langfristige und qualitativ unterschiedliche Arbeitsbelastung bekräftigt beim Diensthund einen befriedigenden Adaptationsprozeß mit einer Stabilisation des inneren Milieus auf dem Gebiet des Mineralienstoffwechsels. Die gewonnenen Ergebnisse können in die Tests der Abrichtungs- und Arbeitsbelastung des Diensthundes eingereiht werden.

klinische Biochemie; Mineralienstoffwechsel; Dressur-Physiologie; Arbeitsbelastung; Kynologie

Adresy autorů:

Prof. MVDr. Jaroslav Konrád, DrSc., MVDr. Miloš Cupák, doc. MVDr. Stanislav Husák, CSc., doc. MVDr. Karel Šmíd, CSc., Vysoká škola veterinární, Palackého 1—3, 612 42 Brno
Prof. MVDr. Jozef Hrušovský, DrSc., Čínská 33, 160 00 Praha 6

Upozorňujeme čtenáře, že v čísle 8/90 časopisu

VETERINÁRNÍ MEDICÍNA

mají být uveřejněny tyto příspěvky:

J. Szakács, L. Chrastinová, J. Vančíšin, K. Klega: Fistuláž bachora u hovädzieho dobytku

I. Šimoník, J. Pavelka, E. Kudláč: Obsah toxických prvků — Cd, Pb, Hg, Cr, Cu, Zn — v krvi a placentě krav v době porodu a u narozených telat

S. Navrátil, Z. Knotek, M. Maňásková, I. Soukup, I. Soukupová: Prevence anestrie u prasnic po prvním a druhém porodu

J. Pleva, R. Hojer, R. Cabadaj, M. Baranová: Výskyt PSE a DFD mäsa ošípaných pri naliehavých zabitíach

P. Škrobánek, M. Ledec: Vplyv počtu spermií v inseminačnej dávke a doby uchovávaní na fertilizačnú schopnosť ejakulátu kohútov

J. Konrád, M. Cupák, J. Hrušovský, S. Husák, K. Šmíd: Hodnoty acidobazické rovnováhy krve psů v průběhu výcvikové a pracovní zátěže

V. Celer, V. Celer ml.: Supresivní účinek ionizujícího záření na imuno-produktivní buňky laboratorních myší

M. Zibrín, M. Belák, V. Cigánková, E. Tomajková, J. Kočíš: Jadierko Sertoliho buniek niektorých domácich a divožijúcich zvierat

P. Vladík, A. Prouza

VLADÍK, P. — PROUZA, A. (Státní veterinární ústav, České Budějovice): *Nález Yersinia ruckeri u pstruhů duhových v Československu*. Veter. Med. (Praha), 35, 1990 (7): 437—442.

Koncem roku 1988 jsme vyšetřili osm kusů Pd₁ a devět kusů Pd₂ z případů zvýšeného hynutí pstruhů v lokalitách N a D. Patomorfologický nález u uhynulých a utracených pstruhů odpovídal změnám, které se popisují u tzv. ERM (enteric redmouth) salmonidů. Počátkem roku jsme obdobný případ zaznamenali v lokalitě B, z které jsme vyšetřili 12 kusů Pd₂. V témže období jsme vyšetřili 15 kusů Pd₂ lokality M, které nevykazovaly podstatné patomorfologické změny. Z orgánů a střev pstruhů lokality N, střev pstruhů lokality D a orgánů pstruhů lokality B a M jsme izolovali celkem 16 bakteriálních kultur, které svými morfologickými a biochemickými vlastnostmi odpovídají popisu *Y. ruckeri* (Ross aj., 1966; Ewing aj., 1978). Patnáct kmenů nefermentujících sorbitol pocházelo z případů s klinickým a patomorfologickým nálezem, zatímco jediný kmen fermentující sorbitol byl izolován z bezsymptomatického nosiče. Z těchto nálezů vyplývá, že v našich podmínkách nelze vyloučit rozdíl ve virulenci sorbitol fermentujících a sorbitol nefermentujících kmenů pro pstruha duhového.

ERM pstruha duhového; izolace a identifikace 16 kmenů; virulence kmenů; sorbitol

Yersiniózu (enteric remouth, ERM) poprvé pozoroval v padesátých letech Rucker (cit. Roberts, 1978) u pstruhů duhových v Idahu. Onemocnění zpočátku omezené na relativně malou oblast severozápadu Spojených států a jižní Kanadu se stalo záhy v Severní Americe endemickým. Počátkem osmdesátých let byl jeho výskyt zaznamenán též v Evropě a Austrálii. V jihozápadní Francii jej popisují Lesel aj. (1983), Itálii Bush (1978 — cit. Austin a Allen-Austin, 1985), Německu Fuhrman aj. (1983), Velké Británii Roberts (1983), Dánsku Dalggaard aj. (1984 — cit. Cossarini-Dunier, 1986) a Austrálii Llewelyn (1980). V Československu toto onemocnění bylo diagnostikováno v roce 1988.

První podrobný popis etiologického původce podávají v roce 1966 Ross aj., kteří zárodek vzhledem k jeho fenotypickým vlastnostem považují za příslušníka čeledě *Enterobacteriaceae*. Jeho taxonomickou pozici v rámci čeledě však s jistotou neurčili a tak pro něj ponechali prozatímní označení RM baktérium. Ewing aj. (1978) doplnili charakteristiku zárodku o genotypickou studii. V ní prokázali pouze vzdálenou příbuznost s některými druhy čeledě *Enterobacteriaceae*. Domnívají se, že RM baktérium je jak fenotypicky, tak genotypicky nejbližší rod *Yersinia* a tak je doporučují zatím zařadit do tohoto rodu jako *Yersinia ruckeri*.

Sami jsme měli možnost studovat 16 bakteriálních kultur odpovídajících popisu *Y. ruckeri* izolovaných z tří případů klinického onemocnění pstruhů duhových a jednoho případu bez klinických změn.

Koncem listopadu a začátkem prosince 1988 jsme vyšetřili osm kusů Pd₁ a devět kusů Pd₂ z případů zvýšeného hynutí pstruhů v lokalitách N a D. Patomorfologický nález byl charakterizován jako sepse doprovázená nápadnými hemoragiemi v dutině ústní, při bázi prsních ploutví, v tuku a parenchymech. Obdobný případ jsme zaznamenali v únoru 1989 v lokalitě B, z které jsme vyšetřili 12 kusů Pd₂. V témže měsíci jsme vyšetřili 15 kusů Pd₂ lokality M, které nevykazovaly podstatnější patomorfologické změny. Rutinní bakteriologické vyšetření, tj. kultivaci parenchymatózních orgánů na KA, TSA a Endovu půdu, jsme doplnili kultivací orgánů a střev do Rappaport-Wautersova média s vyočkováním po 18 hodinách inkubace při 22 °C na Endovu půdu.

Z orgánů a střev pstruhů lokality N, střev pstruhů lokality D a orgánů pstruhů lokalit B a M jsme izolovali celkem 16 (9, 4, 2 a 1) kultur gramnegativních, fermentujících, oxydáza negativních tyčků, které jsme se pokusili blíže určit.

K identifikaci jsme zvolili biochemickou řadu, kterou doporučují Farmer aj. (1985) se standardními testy připravenými podle návodu, který uveřejnili Cowan a Steel (1965), popř. Mc Faddin (1976). Všechny jsme prováděli při inkubační teplotě 22 °C, odečítali za 24, 48 hodin a pátý den inkubace a hodnotili běžným způsobem.

VÝSLEDKY

Na KA jsme po 48 hodinách inkubace pozorovali nárůst drobných hladkých, kouřově šedých kolonií dosahujících v průměru 0,2 mm, na Endově půdě rostoucích jako drobné, laktózo negativní kolonie.

Mikroskopicky šlo o drobné gramnegativní nesporulující pohyblivé tyčky.

Všechny byly kataláza pozitivní, oxydáza negativní, redukovaly nitráty na nitrity a využívaly glukózu na O/F médiu fermentativně. Do 24 hodin inkubace zkvašovaly bez tvorby plynu glukózu, manitol, maltózu a trehalózu. Do pěti dnů inkubace jsme nepozorovali fermentaci laktózy, sacharózy, dulcitolu, salicinu, adonitolu, inositolu, arabinózy, raffinózy, rhamnózy a xylózy. Vztah k sorbitolu byl variabilní. Žádná z kultur netvořila indol a H₂S, nevyužívala citrát na Simmons citrátu či Na-malonát a nehydrolyzovala močovinu.

Trí z 16 kmenů tvořily acetoin. Dekarboxylázy lysinu a ornitinu byly pozitivní do 48 h inkubace, ADH a PDA zůstávají negativní i po pátém dnu inkubace. Všechny studované kmeny zkapalňovaly želatinu a tvořily beta-galaktosidázu.

Výsledky biochemických vlastností shrnuje tabulka I.

DISKUSE

Námi izolované kmeny představují biochemicky homogenní skupinu bakterií, které plně odpovídají popisu *Y. ruckeri* (Ross aj., 1966; Ewing aj., 1978). Bercovier a Mollaret (cit. Krieg a Holt Ed., 1984) v komentáři k rodu *Yersinia* však zdůrazňují, že tzv. *Y. ruckeri* je jak fenotypicky, tak genotypicky odlišná od ostatních yersinií a může v budoucnu představovat samostatný rod. To potvrzují Farmer aj. (1985), kteří upozorňují na pouze vzdálenou příbuznost *Y. ruckeri* s ostatními druhy a rody čeledě *Enterobacteriaceae* a tak otázka definitivního postavení zárodků v rámci čeledě zůstává stále otevřená.

Zatímco popisy základních charakteristik *Y. ruckeri* izolovaných v různých zemích jsou vcelku uniformní, otázka virulence jednotlivých sérovarů je živě diskutována. Zpočátku byla fermentace sorbitolu určitými kmeny spojována s antigenními typy a virulencí (O'Leary, 1977 — cit. Cipriano aj., 1987). Většina izolátů z tak zvaných „pravých“ epizootií ERM sorbitol nefermentovala. O nich je referováno jako o Hagermanově typu nebo též sérovaru I. (O'Leary 1977 — cit. Cipriano aj., 1987) popsal

Lokality					
	N	D	B	M	Ewing aj., 1978
Počet kmenů	9	4	2	1	
Test					
Indol	—	—	—	—	—
MRT	+	+	+	+	+
V-P	—	—1+	+	—	10+23—
Simons citrát	—	—	—	—	+
H ₂ S	—	—	—	—	—
Urea	—	—	—	—	—
PDA	—	—	—	—	—
LDC	+	+	+	+	+
ADH	—	—	—	—	—
ODC	+	+	+	+	+
Pohyb 36 °C	—	—	—	—	6+17—
Pohyb 22 °C	+	+	+	+	.
Gelatina	+	+	+	+	31+2—
Na-malonát	—	—	—	—	—
Glukóza	A	A	A	A	A
Laktóza	—	—	—	—	—
Sacharóza	—	—	—	—	—
Manitol	+	+	+	+	+
Dulcitol	—	—	—	—	—
Salicin	—	—	—	—	—
Adonitol	—	—	—	—	—
Inositol	—	—	—	—	—
Sorbitol	—	—	—	+	—
Arabinóza	—	—	—	—	—
Raffinóza	—	—	—	—	—
Rhamnóza	—	—	—	—	—
Maltóza	+	+	+	+	+
Xylóza	—	—	—	—	—
Trehalóza	+	+	+	+	+
Nitráty	+	+	+	+	+
Oxydáza	—	—	—	—	—
OMPG	+	+	+	+	+
KON	—	—	1+1—	—	4+19—

+ pozitivní za 24 h inkubace; — negativní do 7. dne inkubace; A tvorba kyseliny

antigenně odlišný typ, který sorbitol fermentoval a označil jej za sérovar II. Kmeny sérovaru II byly donedávna považovány za méně patogenní vzhledem k tomu, že byly nejčastěji izolovány z bezsymptomatických nosičů. Stevenson a Daley (1982) a Stevenson a Airdrie (1984), kteří se zabývali antigenní strukturou sorbitol pozitivních izolátů z Ontaria však zjistili, že sérologická diverzita sorbitol pozitivních kmenů je daleko větší než se původně soudilo. Popisují další sorbitol pozitivní sérovary a to sérovar IV a V, které sice zkříženě reagují se sérovarem I, ale ne se sérovarem II.

Sérovar I je až dosud nejčastěji izolován z případů epizootií ERM u pstruha duhového. Bullock aj. (1982 — cit. Cipriano aj., 1987) prokázali v experimentu menší patogenitu sérovaru II pro lososovitě. O'Leary aj. (1981 — cit. Daly aj., 1986) a Cipriano aj. (1987) však popsali epizootie ERM u *Onconchynchus tshawytscha* vyvolané sérovarem II. Proto se Cipriano aj. (1987) pokusili porovnat virulenci obou sérovarů. K pokusu zvolili sivena amerického. Výsledek byl překvapující, protože neprokázali rozdíl ve virulenci obou sérovarů pro tento druh a tak podpořili některé současné názory zatím nediskriminovat sérologické difference mezi kmeny sorbitol fermentujícími a kmeny sorbitol nefermentujícími.

Naše nálezy zatím spíše podporují závěry Bullocka aj. (1982 — cit. Cipriano aj., 1987). Kmeny sorbitol nefermentující jsme izolovali vždy z případů s klinickým průběhem onemocnění, zatím co jediný izolovaný kmen sorbitol fermentující z bezsymptomatického nosiče. Proto se domníváme, že virulenci našich izolátů pro pstruha duhového je nutno v budoucnu experimentálně ověřit.

Literatura

- AUSTIN, B. — ALLEN-AUSTIN, D.: A review of bacterial pathogens of fish. J. appl. Bact., 58, 1985, s. 483—506.
- CIPRIANO, R. C. — RUPPENTHAL, T. — SCHILL, W. B. — PYLE, S. W. — SHOOT, E. B.: Susceptibility of brook trout (*Salvelinus fontinalis*) to experimental infections with different serotypes of *Yersinia ruckeri*. Microbios Letters, 35, 1987, s. 27—31.
- COSSARINI-DUNIER, M.: Protection against enteric redmouth disease in rainbow trout, *Salmo gairdneri* Richardson, after vaccination with *Yersinia ruckeri* bacterin. J. Fish Dis., 9, 1986, s. 27—33.
- COWAN, S. T. — STEEL, K. J.: Manual for identification of medical bacteria. Cambridge, University Press. 1965, 217 s.
- DALY, J. G. — LINDVIK, B. — STEVENSON, M. W.: Serological heterogeneity of recent isolates of *Yersinia ruckeri* from Ontario and British Columbia. Dis. aquat. Org., 1, 1986, s. 151 až 153.
- EWING, W. H. — ROSS, A. J. — BRENNER, D. J. — FANNING, G. R.: *Yersinia ruckeri* sp. nov., the Redmouth (RM) Bacterium. Int. J. syst. Bact., 28, 1978, s. 37—44.
- FARMER, J. J. — DAVIS, B. R. — HICKMAN-BRENNER, F. W. — McWHORTER, A. — HUNTLEY-CARTER, G. P. — ASBURY, M. A. — RIDDLE, C. — WANTHEN-GRADY, H. G. — ELIAS, C. — FANNING, G. R. — STEIGERWALT, A. G. — O'HARA, C. M. — MORRIS, G. K. — SMITH, P. B. — BRENNER, D. J.: Biochemical identification of new species and biogroups of *Enterobacteriaceae* isolated from clinical specimens. J. clin. Microbiol., 21, 1985, s. 46—76.
- FUHRMANN, H. — BÖHM, K. H. — SCHLOTTFELDT, H. J.: An outbreak of enteric redmouth disease in West Germany. J. Fish Dis., 6, 1983, s. 309—311.
- KRIEG, N. R. — HOLT, J. G. (Ed.): Bergey's Manual of Systematic Bacteriology, Baltimore, The Williams and Wilkins. 1984.
- LESEL, R. — LESEL, M. — GAVINI, F. — VUILLAUME, A.: Outbreak of enteric redmouth disease in rainbow trout *Salmo gairdneri* Richardson in France. J. Fish Dis., 6, 1983, s. 385—387.
- LLEWELLYN, L. C.: A bacterium with similarities to the redmouth bacterium and *Serratia liquefaciens* (Grimes and Hennerty) causing mortalities in hatchery reared salmonids in Australia. J. Fish Dis., 3, 1980, s. 29—39.

Mac FADDIN, J. F.: Biochemical tests for identification of medical bacteria. Baltimore, The Williams and Wilkins., 1976, 312 s.

ROBERTS, M. S.: A report of an epizootic in hatchery reared rainbow trout, *Salmo gairdneri* Richardson, at an English trout farm caused by *Yersinia ruckeri*. J. Fish Dis., 6, 1983, s. 551–552.

ROBERTS, R. J.: Fish Pathology. Aberdeen, University Press. 1978, 318 s.

ROSS, A. J. — RUCKER, R. R. — EWING, W. H.: Description of a bacterium associated with redmouth disease of rainbow trout (*Salmo gairdneri*). Can. J. Microbiol., 12, 1966, s. 763–770.

STEVENSON, R. M. W. — DALEY, J. G.: Biochemical and serological characteristics of Ontario isolates of *Yersinia ruckeri*. Can. J. Fish Aquat. Sci., 39, 1982, s. 870–876.

STEVENSON, R. M. W. — AIRDRIE, D. W.: Serological variation among *Yersinia ruckeri* strains. J. Fish Dis., 7, 1984, s. 247–254.

Došlo dne 2. 6. 1989

ВЛАДИК, П. — ПРОУЗА, А. (Государственный ветеринарный институт, Ческе Буде-йовице): *Диагноз Yersinia ruckeri у радужной форели в Чехословакии*. Veter. Med. (Praha), 35, 1990 (7) : 437–442.

В конце 1988 г. мы исследовали восемь Pd₁ и девять Pd₂ в ходе повышенной гибели форели в местностях Н и Д. Патоморфологический диагноз отвечал изменениям, описанным у так наз. ERM (enteric redmouth) сальмонидов. В начале года подобный случай отмечался в местности Б, откуда мы обследовали 12 гол. Pd₂, а также 15 гол. Pd₂ из местности М, которые непоказывали заметных патоморфологических изменений. Из органов и кишечников форели из М, кишечников форели из Д и органов форели из Б и М изолировали в общей сумме 16 бактериальных культур, которые по своим морфологическим и биохимическим свойствам соответствовали описанию *Y. ruckeri*. 15 штаммов неферментирующих сорбитол происходили из случаев с клиническим и патоморфологическим диагнозом, тогда как 1 штамм ферментирующих сорбитол — из бессимптомного носителя. Как видно, в наших условиях нельзя исключить различия в вирулентности сорбитол обоих штаммов у радужной форели.

ERM радужной форели; изоляция и идентификация 16 штаммов; вирулентность штаммов; сорбитолы

VLADÍK, P. — PROUZA, A. (State Veterinary Institute, České Budějovice): *The finding of Yersinia ruckeri in rainbow trout in Czechoslovakia*. Veter. Med. (Praha), 35, 1990 (7) : 437–442.

At the end of 1988 eight rainbow trouts Pd₁ and nine rainbow trouts Pd₂ were investigated at localities N and D with the increased mortality of rainbow trout. The pathological finding in dead and killed trout corresponded to the changes which are described in the so-called ERM (enteric redmouth) salmonids. At the beginning of the year a similar case was found at locality B where 12 rainbow trouts Pd₂ were examined. In the same period 15 trouts Pd₂ at locality M were examined in which no large pathomorphological changes were observed. From the organs and intestines of locality N trout, from the intestines of locality D trout and the organs of locality B trout, in total 16 bacterial cultures were isolated, the morphological and biochemical characteristics of which correspond to the description of *Y. ruckeri* (Ross et al., Ewing et al., 1978). Fifteen sorbitol-nonfermenting strains came from the cases with clinical and pathomorphological findings while the only sorbitol-fermenting strain was isolated from a symptom-free carrier. These findings demonstrate that in the Czechoslovak conditions it is not possible to omit the difference in the virulence of sorbitol-fermenting and sorbitol-nonfermenting strains to rainbow trout.

ERM of rainbow trout; isolation and identification of 16 strains; strain virulence; sorbitol

VLADÍK, P. — PROUZA, A. (Staatliches Veterinärinstitut, České Budějovice): *Fund von Yersinia ruckeri bei Regenbogenforellen in der Tschechoslowakei*. Veter. Med. (Praha), 35, 1990 (7) : 437–442.

Gegen Ende des Jahres 1988 untersuchten wir acht Stück einjähriger Regenbogenforellen (RF₁) und neun Stück RF₂ u.zw. von Fällen vermehrter Verendungen in den Lokalitäten N und D. Der pathomorphologische Befund bei den verendeten und getöteten Fischen entsprach jenen Veränderungen, die bei sog. ERM (enteric redmouth) -Salmoniden beschrieben werden. Am Anfang des

Jahres verzeichneten wir einen ähnlichen Fall in der Lokalität B, von wo wir insgesamt 12 RF₂ untersuchten. In demselben Zeitraum untersuchten wir weitere 15 RF₂ aus der Lokalität M, die keine markanten pathomorphologischen Veränderungen aufwiesen. Aus Organen und aus dem Darm von Forellen der Lokalität N, aus dem Darm von Forellen der Lokalität D und aus Organen der Forellen der Lokalitäten B und M isolierten wir insgesamt 16 Bakterienkulturen, die durch ihre morphologischen und biochemischen Eigenschaften der Beschreibung der *Yersinia ruckeri* entsprachen (Ross et al., 1966; Ewing et al., 1978). Fünfzehn, Sorbitol nicht fermentierende Stämme stammten aus Fällen mit klinischem und pathomorphologischem Befund, während der einzige Sorbitol fermentierende Stamm aus einem symptomfreien Träger isoliert wurde. Aus diesen Befunden ergibt sich, daß unter unseren Bedingungen ein Unterschied in der Virulenz der Sorbitol fermentierenden und Sorbitol nichtfermentierenden Stämme bei der Regenbogenforelle nicht auszuschließen ist.

ERM der Regenbogenforelle; Isolation und Identifikation von 16 Stämmen; Virulenz der Stämme; Sorbitol

Adresa autorů:

MVDr. Petr Vladík, RNDr. Antonín Prouza, Státní veterinární ústav, Dolní ul. 2, 371 39 České Budějovice

VETERINÁRNE BÁZY DÁT A MOŽNOSTI ICH SPRÍSTUPŇOVANIA

Vedecká práca predstavuje výrazne spoločenskú aktivitu. Aj keď vedecký pracovník pracuje na univerzite alebo výskumnom ústave individuálne, svojimi experimentálnymi výsledkami reprezentuje problémy nielen vlastné, ale aj problémy predložené celou komunitou svojich vedeckých kolegov. Akokoľvek je výskumný program originálny, vždy je postavený na predchádzajúcej výskumnej práci iných vedeckých pracovníkov. Sir Isaak Newton zdôrazňoval: „Pokiaľ som videl ďalej, bolo to preto, že som stál na ramienach obrov“.

Základným médiom, pomocou ktorého vedecký pracovník študuje prácu druhých a cez ktoré transformuje svoju vlastnú prácu, je vedecký článok publikovaný v niektorom z vedeckých časopisov.

REFERÁTOVÉ ČASOPISY

V priebehu posledných dvoch storočí schopnosť vedeckých pracovníkov oboznamovať sa s výsledkami aktivity kolegov bola postupne narušovaná exponenciálnym rastom časopiseckej literatúry. Abstrahovanie časopisov sa zrodilo už v 19. storočí s cieľom pomôcť vedeckým pracovníkom oboznamovať sa s množstvom publikácií z celého sveta. Tak napr. Chemical Abstracts vznikol už v roku 1907 pôvodne v snahe vylepšiť profil americkej chemickej literatúry.

V našom storočí pokračoval nárast počtu referátových časopisov natoľko, že ich využívanie začalo byť problematické. Referátové časopisy sa rozrástli natoľko, že obsahovali viac než 100 000 abstraktov ročne, čo si ďalej vyžiadalo indexy kľúčových slov v každom výťlačku v snahe pomôcť vedeckým pracovníkom lokalizovať zaujímavý abstrakt.

MEDZINÁRODNÉ BÁZY DÁT

V sedemdesiatych a osemdesiatych rokoch dochádza v krajinách Západnej Európy a USA k rýchlemu rozvoju informačnej technológie a ku komputelizácii všetkých aspektov spoločenského života. Informačné produkty a služby sa stávajú tovarom. K rozvoju informačného priemyslu prispieva rozsiahle zavádzanie výpočtovej techniky telekomunikačných sietí, medzinárodných báz dát na magnetických páskach, do ktorých sa vstupuje telekomunikačnými linkami.

Okrem veľkých medzinárodných báz dát v rámci jednotlivých odvetví budujú sa aj lokálne bazy menej rozsiahleho charakteru, ktoré informujú o cestovnom poriadku, počasí, voľných miestach v hoteloch a pod.

V USA a Západnej Európe sú producentmi báz dát vládne organizácie, vedecké a technické spoločnosti, prípadne univerzity ale aj súkromné podniky.

V súčasných podmienkach delíme bazy dát na dve veľké skupiny:

- referenčné bazy dát
- bazy dát poskytujúce konkrétne informácie, ktoré môžu ďalej byť faktografické s úplným textom a zmiešané (textové aj číselné) informácie.

Zjavný je trend narastania faktografických báz dát ako aj báz dát s úplným textom. Perspektívne možno očakávať rozšírenie spracovávaní veterinárnych informácií takýmto spôsobom, čo by kompenzovalo nevyhovujúce zabezpečenie knižnou a časopiseckou zahraničnou odbornou literatúrou. Počet báz dát v poslednom období prudko stúpa čo ovplyvnilo vznik tzv. bázy dát o bázach dát (USA), ktorá pohotovo informuje o novovzniknutých bázach dát (Horváth, 1990).

Viacere firmy produkujúce bázy dát sa už v súčasnosti obmedzujú na využívanie kompaktných diskov s jednorázovým záznamom (CD-ROM). Neustále narastanie báz dát, zvýšený dopyt po informáciách rôzneho charakteru, ale hlavne zdokonaľovanie výpočtovej techniky a telekomunikačných prostriedkov malo za následok vznik a rýchly rozvoj interaktívnych dialógových informačných systémov, ktoré umožňujú každému záujemcovi dialógový prístup k viacerým bázam dát pomocou terminálov (Michnevič, 1989).

BÁZY DÁT A MOŽNOSTI ICH SPRÍSTUPŇOVANIA V ČSFR

V československej sústave VTEI sa začali informácie spracovávať pomocou výpočtovej techniky od konca šesťdesiatych rokov. Dialógové spracovanie je realizované však až od začiatku osemdesiatych rokov. Využívanie magnetopáskových služieb predstavuje najefektívnejší spôsob využitia výpočtovej techniky a u nás sa opeira o systém ÚTZ ÚVTEI o jej unifikované technické, programové a projektové prostriedky, čo si však vyžaduje budovanie počítačovej siete v uzlových bodoch a terminálovej siete (Vontorčík, 1986).

Začiatky automatizovaného spracovania rozsiahlych báz dát VTEI boli v ČSFR spojené s odvetvím chémie a spracovaním informácií z tejto oblasti. Preto aj dialógové spracovanie a sprístupňovanie informácií bolo popri strojárstve spojené práve s odvetvím chémie. Okrem toho medzi najviac využívané bázy patria informácie o patentoch a vynálezoch (Srb, 1988).

Veľký podiel na zavádzaní nových technológií do informačných služieb v rámci ČSFR najmä v súvislosti so šírením odborných informácií v oblasti rádioekológie, ale aj poľnohospodárstva a veterinárnej medicíny má Ústav jadrových informácií v Prahe, vďaka ktorému má aj naša ústredná knižnica a študijné a informačné stredisko (ÚKaŠIS) prepojenie na veľké medzinárodné systémy FAO vo Viedni (bázy AGRIS a INIS) už od roku 1987.

ÚTZ-ÚVTEI vystavuje niektoré domáce aj zahraničné bázy dát. Využívanie niektorých ďalších zahraničných magnetopáskových služieb v ČSFR je viazané na spoluprácu československého strediska automatizovanej výmeny informácií so zahraničnými počítačovými sieťami a bázami dát (SAVI) v Bratislave a Prahe. Sprístupňujú viacero zahraničných báz dát v režime on-line.

Pre oblasť veterinárnej medicíny a potravinárstva sa nachádzajú relevantné informácie v nasledujúcich domácich a zahraničných bázach:

AGRICOLA — (predtým CAIN) je budovaná Národnou poľnohospodárskou knižnicou USA, korešponduje tlačenému indexu „Bibliography of Agriculture“ a zahrňuje veterinárnu literatúru a vládne publikácie. Je vhodná pokiaľ sa vyžaduje súhrnný prieskum. Doporučuje sa však využívať ako dodatočný a nie sólový zdroj informácií. Je relatívne drahá.

AGRIS — Mezinárodná databáza dokumentografická, výberove obsahuje abstrakt, obsahuje všeobecné otázky poľnohospodárstva, ekonomiky poľnohospodárstva, ochrany prírody, potravinárstva, veterinárstva, rybárstva, znečisťovania prostredia a pod. Producentom je Food and Agriculture Organization of the United Nation (FAO), Roma, Italy.

BIOSIS — báza pokrýva obdobie od roku 1970 doposiaľ a korešponduje dvom tlačným výstupom: Biological Abstracts a Reports, Reviews and Meetings (BA/RRM). Pokrýva celosvetovú literatúru v biológii humánnej i veterinárnej medicíny, ale neobsahuje klinické prípady a články týkajúce sa starostlivosti o pacientov. Pre veterinárnych lekárov táto báza je doporučovaná v oblasti parazitológie, patológie, výživy a toxikológie. Obsahuje články z časopisov, konferenčné materiály, knihy a správy. Je tiež relatívne drahá.

CAB — producentom bázy založenej v roku 1972 je Commonwealth Agriculture Bureaux England. Signifikantne sa odlišuje od Medline, Biosis a Agricola a síce hlavne tým, že inkorporuje citácie z 30 referátových časopisov medzi nimi Index Veterinarius a Veterinary Bulletin. Tieto časopisy často abstrahujú rovnaké články takže niektoré vstupy v databáze sú duplicitné. Najväčšou výhodou CAB databázy je, že obsahuje články týkajúce sa starostlivosti o choré zvieratá. Nevýhodou bázy je, že články sú obyčajne publikované rok alebo aj viac predtým než sú zahrnuté do databázy.

CA — SEARCH — producentom bázy je Chemical Abstracts Service. Chemical Society Columbus, Ohio, USA. Jedná sa o bázu dokumentografického charakteru informačne pokrývajúcu oblasť farmakológie, biotechnológie, enzymológie ako aj biochémie a výživy rastlín a základné bibliografické informácie publikované v tlačenej forme Chemical Abstracts. Vznikla v roku 1967.

EMBASE — (predtým Excerpta Medica) vznikla v júni roku 1974. Producentom bázy je Excerpta Medica, Amsterdam, Holandsko a predstavuje jeden z hlavných zdrojov pre vyhľadávanie v biomedicínskej literatúre. Obsahuje abstrakty a citácie článkov z 4000 biomedicínskych časopisov publikovaných po celom svete. Sú v nej zahrnuté viaceré informácie pokrývajúce problematiku aj veterinárnej medicíny najmä z oblasti základného výskumu.

FSTA — Food Science and Technology Abstracts, báza vznikla roku 1969, producentom je International Food Information Service, Reading, Berkshire, Anglicko. Báza poskytuje informácie v oblasti výskumu a technológie potravín, tiež sú informačne poskytnuté aj ďalšie disciplíny ako poľnohospodárstvo, chémia, biochémia a ekonomika vo vzťahu k výskumu potravín. FSTA zabezpečuje indexovanie 1 200 časopisov z 50 krajín, patenty z 20 krajín a knihy v rôznych jazykoch.

INIS — International Nuclear Information System, producentom je International Atomic Energy Agency (IAEA), Wien, Rakúsko. Jedná sa o dokumentografickú bázu so záznamami obsahujúcimi referát. Je zameraná na využitie jadrovej energie rádioizotopov a ionizujúceho žiarenia aj v obore biológie, lekárstva a pod.

MEDLINE — (MEDLARS alebo LINE) je báze produkovaná National Library of Medicine, USA, ako jedna z hlavných zdrojov pre biomedicínsku literatúru. Korešponduje trom tlačným indexom: Index Medicus, Index to Dental Literature a International Nursing Index. Vznikla roku 1966 ako prvá on-line databáza v histórii vôbec a predstavuje najlepší zdroj pre klinické ale aj vedecké informácie. Viac než 2 500 publikácií zahrňuje 64 veterinárskych časopisov. Je relatívne lacná (Mad Neil, 1986; Zidek a. i., 1988).

Medzi ďalšie bázy, ktoré môžu byť užitočné pre veterinárnych lekárov možno zaradiť: Toxline, Dissertation Abstracts, Biobusiness, World Patent Index, Science Citation Index a pod.

Je treba uviesť, že počet databáz neustále rastie. Systém Dialog, ktorý v roku 1988 odkúpila firma Knight Ridder (USA) bol uvedený do prevádzky v roku 1972 s 8 bázami, v roku 1986 poskytoval informácie z 250 databáz, v roku 1988 to bolo už 320 báz dát. Systém je prístupný každý deň 24 hodín celý týždeň. Je možné využiť vstupy aj v sobotu a nedeľu. Podobne neustále rastie aj počet používateľov.

Ústredná knižnica a študijné a informačné stredisko na VŠV ako jeden z používateľov dialogových služieb zabezpečuje vlastným terminálom (on-line) vstup do báz AGRIS, CA SEARCH, EMBASE, FSTA a INIS. Okrem toho na základe objednávky cez Stredisko automatizovanej výmeny informácií (SAVI) zabezpečuje vypracovanie rešerší v bázach AGRICOLA, BIOSIS, CAB a MEDLINE. Každá rešerša je spracovaná v ÚKaŠIS a sú v nej vyznačené tie informačné dokumenty, ktoré sa nachádzajú vo fonde ÚKaŠIS.

ZÁVER

Vo vyspelých krajinách možno pozorovať zvýšený záujem o rozvoj informačného priemyslu, čo sa vysoko pozitívne odráža v prioritných výsledkoch vedeckého výskumu. Neustále rastie aj počet používateľov interaktívnych informačných systémov. Knižnice a informačné strediská organizujú školenia a kurzy pre svojich používateľov a ovládacie práce s počítačmi ako aj základy informatiky sú zaraďované do osnov stredných, prípadne vysokých škôl. Je treba zdôrazniť skutočnosť, že absolventi našich vysokých škôl nedostávajú počas ich štúdia dostatočné informácie o nových možnostiach získavania vedecko-technických informácií. Pokiaľ však máme skutočný záujem zaradiť sa medzi vyspelé krajiny, je nutné plne rešpektovať význam informácií pre každú oblasť rozvoja a vynaložiť všetky prostriedky na zjednodušenie vstupu a využívanie interaktívnych (dialógových) informačných systémov, ktoré umožňujú diaľkový prístup k veľkému počtu báz dát pomocou terminálov z rôznych pracovísk. Netreba pritom zabúdať na priebežné informovanie širokej vedeckej komunity, ale aj veterinárnych lekárov pôsobiacich v praxi o nových metódach získavania informácií, ktoré sú podmienené stále sa zdokonaľujúcou výpočtovou technikou. Túto úlohu by mal aspoň čiastočne splniť tento príspevok.

Literatúra

- HORVÁTH, F.: Medzinárodné bázy dát a interaktívne informačné systémy. Knižničné a vedecké informácie, 22, 1990, č. 2, s. 69–77.
 MAC NEIL, K.: On-line medical databases. Mod. veter. Pract., 67, 1986, č. 1, s. 68–72.
 MICHNEVIČ, K. P.: Avtomatizirovannyje informacionnyje sistemy SŠA i Zapadnoj Jevropy. Nauč. – techn. Inform. Serija 1, č. 2, 1989, s. 23–29.
 SRB, M.: Zkušenosti z provozu otevřeného informačního systému a jeho plánovaný rozvoj. In: Progresivne informačné technológie v činnosti sústavy VTEI. Starý Smokovec, Dom techniky ČSVTS 1988, s. 20–27.
 VONTORČÍK, E.: Vedecko-technické informácie v poľnohospodárskom výskume a školstve. Bratislava, Príroda 1986, 202 s.
 ZÍDEK, P. – JANČAŘÍK, M. – BABKA, M. – KALOUSKOVÁ, J.: Přehled báz dát VTEI zpřístupňovaných čs. uživatelům III. Praha, ÚVTEI – ÚTZ. 1988, 150 s.

MVDr. Marta Prosbová, CSc.,
 Vysoká škola veterinárská, Košice

Omlouváme se všem odběratelům vědeckého časopisu Veterinární medicína za skluz ve vydávání. Je způsoben reorganizací v tiskárně, která zajišťovala tisk. Přechod do jiných tiskáren se vzhledem k všeobecně známé situaci v polygrafii neobešel bez problémů.

Předpokládáme, že zbývající čísla vyjdou v 1. pololetí příštího roku. Děkujeme za pochopení.

Redakce



CONTENTS

Faldíková L., Kozdera A., Věžník Z., Bendová J.: Testosterone production after <i>in-vitro</i> gonadotropin stimulation of bulls' testicular cells.	389
Jalč D., Zelenák I., Bučko J., Vondrák T., Siroka P.: The effects of methanol-extracted sawdust on the digestion of cellulose, hay and wheat bran <i>in vitro</i>	396
Legáth J., Timkovičová M., Tomáš J., Javorský P., Belák M.: Elution of epithelium-adherent bacteria in sheep rumen and their electron-microscopic proof	402
Uhrín P.: Post-mortal metabolism of glycogen in the muscles of healthy pigs and pigs with malignant hyperthermia syndrome.	409
Hrdlička J.: The residues of inhibitory substances in the tissues of slaughter animals — comparison of microbiological methods of agar diffusion.	418
Cigánková V.: A histological and submicroscopic picture of testicle differentiation in rams (<i>Ovis aries</i>) from developmental aspects	425
Konrád J., Cupák M., Hrušovský J., Husák S., Šmíd K.: Minerals metabolism in dogs during their training and work stress	435
Vladík P., Prouza A.: The finding of <i>Yersinia ruckeri</i> in rainbow trout in Czechoslovakia	441

INHALT

Faldíková L., Kozdera A., Věžník Z., Bendová J.: Testosteronproduktion nach Stimulation der Hodenzellen von Bullen durch Gonadotropin <i>in vitro</i>	389
Jalč D., Zelenák I., Bučko J., Vondrák T., Siroka P.: Einfluß von Methanol-extrakt aus Sägespänen auf die Verdauung von Zellulose, Heu und Weizenkleie <i>in vitro</i>	396
Legáth J., Timkovičová M., Tomáš J., Javorský P., Belák M.: Elution von auf das Pansenepithel von Schafen adhärenen Bakterien und deren elektronenmikroskopischer Nachweis	402
Uhrín P.: Postmortaler Glykogenstoffwechsel der Muskeln gesunder und durch das Syndrom der malignen Hyperthermie betroffener Schweine	409
Hrdlička J.: Residuen von Inhibitionsstoffen in Geweben der Schlachttiere — Vergleich mikrobiologischer Methoden der Agar-Diffusion	418
Cigánková V.: Histologisches und submikroskopisches Bild der Samenrüsendifferenzierung bei Schafen (<i>Ovis aries</i>) vom Aspekt der Entwicklung	425
Konrád J., Cupák M., Hrušovský J., Husák S., Šmíd K.: Mineralienstoffwechsel bei Hunden während der Abrichtungs- und Arbeitsbelastung	435
Vladík P., Prouza A.: Fund von <i>Yersinia ruckeri</i> bei Regenbogenforellen in der Tschechoslowakei	441



Rukopisy odevzdány k tisku 4. 4. 1990, podepsáno k tisku 27. 12. 1990

Vědecký časopis VETERINÁRNÍ MEDICÍNA • Vydává Československá akademie zemědělská — Ústav vědeckotechnických informací pro zemědělství • Vychází měsíčně • Redaktorka ing. Zdeňka Radošová • Redakce: 120 56 Praha 2, Slezská 7, telefon 257541 • Vytiskl MÍR, novinářské závody, sdr. p., závod 6, tř. Lidových milicí 22, 120 00 Praha 2 • © Ústav vědeckotechnických informací pro zemědělství, Praha 1990

Rozšiřuje PNS. Informace o předplatném podá a objednávky přijímá každá administrace PNS, pošta, doručovatel a PNS-ÚED Praha, ACT, Kafkova 19, 160 00 Praha 6; PNS-ÚED Praha, závod 02, Obránců míru 2, 656 07 Brno; PNS-ÚED Praha, závod 03, Gottwaldova tř. 206, 709 90 Ostrava 9. Objednávky do zahraničí vyřizuje PNS — ústřední expedice a dovoz tisku Praha, administrace vývozu tisku, Kovpalkova 26, 160 00 Praha 6.