

VĚDECKÝ ČASOPIS



VETERINÁRNÍ MEDICÍNA

6

ROČNÍK 36 (LXIV)
PRAHA
ČERVEN 1991
CS ISSN 0375-8427

ČESKOSLOVENSKÁ AKADEMIE ZEMĚDĚLSKÁ
ÚSTAV VĚDECKOTECHNICKÝCH INFORMACÍ
PRO ZEMĚDĚLSTVÍ

Řídí redakční rada: doc. MVDr. Karel Hruška, CSc. (předseda), prof. MVDr. Jan Bouda, DrSc., prof. MVDr. Bohumír Hofírek, DrSc., doc. MVDr. Gabriel Kováč, DrSc., doc. MVDr. Imrich Maraček, CSc., MVDr. Zdeněk Pospíšil, CSc., doc. MVDr. Ivan Rosíval, CSc., prof. MVDr. Bohumil Ševčík, DrSc.

Vedoucí redaktorka ing. Zdeňka Radošová

OBSAH

Vojtíšek B., Hronová B., Hamřík J., Janková B.: Ostropestřec mariánský (<i>Silybum marianum</i> , L., Gaertn.) v krmné dávce ketózních krav	321
Klapáčková K., Klapáček Š.: Dynamika protozoí v bachore teliat v období mléčné výživy	331
Lauková A., Kuncová M.: Produkcia kyseliny mléčné a ureázová aktivita u bachorových kmeňov <i>Enterococcus faecium</i> a ich genetická stabilita	335
Procházka H., Jandl J., Novosad J., Neruda O., Hejzlar J., Špelda S.: Ovlivnění retence radiocesia u miniprasat	341
Koniarová I.: Počty vybraných skupín striktně a fakultativně anaeróbních mikroorganizmů hrvoľa a slepého čreva kurčiat a ich aderenčné vlastnosti	349
Bárta M., Jakubička I.: Detekcia ruže a určenia optimálneho času inseminácie polárnych líšok (<i>Alopex lagopus</i>)	355
Bíreš J., Vrzgula L., Juhásová Z.: Distribúcia rizikových kovov v organizme oviec po príjme priemyselnej emisie v experimente	361
Tomancová I., Steinhauser L., Matyáš Z.: Technologické vlivy působící na přežívání <i>Campylobacter jejuni</i> v potravinách živočišného původu	373

INFORMACE

Pavlásek I., Nikitin V. F.: Metodika izolace čistých kultur invazních larev střevních hlístnic rodu <i>Strongyloides</i> a podřádu <i>Strongylata</i>	381
---	-----

CONTENTS

Vojtíšek B., Hronová B., Hamřík J., Janková B.: Milk thistle (<i>Silybum marianum</i> L., Gaertn.) in feed rations administered to ketotic cows	330
Klapáčková K., Klapáček Š.: Protozoan counts in calf's rumen in the period of milk diet	334
Lauková A., Kuncová M.: Lactic acid production and urease activity of rumen strains of <i>Enterococcus faecium</i> and their genetic stability	340
Procházka H., Jandl J., Novosad J., Neruda O., Hejzlar J., Špelda S.: Affection of radiocesium retention in miniature pigs	348
Koniarová I.: The counts in selected groups of strictly and facultatively anaerobic microorganisms in the caw and caecum of chicks and their adherence characteristics	354
Bárta M., Jakubička I.: Heat detection and determination of optimum insemination time in polar fox (<i>Alopex lagopus</i>)	359
Bíreš J., Vrzgula L., Juhásová Z.: Distribution of harmful metals in sheep organisms after experimental industrial contaminant intake	370
Tomancová I., Steinhauser L., Matyáš Z.: Technological effects on the survival <i>Campylobacter jejuni</i> in foods of animal origin	380

INFORMATION

Pavlásek I., Nikitin V. F.: Methodics of isolating pure cultures of invader larvae of intestinal helminths: <i>Strongyloides</i> genus, <i>Strongylata</i> suborder	383
---	-----

OSTROPESTŘEC MARIÁNSKÝ (*Silybum marianum*, L., GAERTN.) V KRMNÉ DÁVCE KETÓZNÍCH KRAV

B. Vojtíšek, B. Hronová, J. Hamřík, B. Janková

VOJTÍŠEK, B. — HRONOVÁ, B. — HAMŘÍK, J. — JANKOVÁ, B. (Výzkumný ústav veterinárního lékařství, Brno): *Ostropestřec mariánský* (*Silybum marianum*, L., Gaertn.) v krmné dávce ketózních krav. Veter. Med. (Praha), 36, 1991 (6): 321—330.

Uskutečnili jsme dva srovnávací pokusy, vždy s 16 kravami, které v době 2—6 týdnů po porodu měly v 1 l mléka 7,9 a více mg acetonu. Krávy, kříženky českého červenostrakatého skotu se skotem holštýnským, byly rozděleny po osmi systémem dvojic do kontrolní a pokusné skupiny. Krávy pokusných skupin přijímaly v krmné dávce po dobu 14 dnů šrot ze semen ostropestřce mariánského (*Silybum marianum*, L., Gaertn.), v dávce 0,3 kg na kus a den s obsahem 2,34 % silybinu a silydianinu (látky tzv. silymarinového komplexu ze skupiny flavonolignanů). V porovnání s kravami kontrolními jsme v jejich krvi a mléce prokázali pokles sumy acetonu + kyseliny octové (až $P < 0,01$) a kyseliny β -hydroxymáselné v krvi (až $P < 0,05$). Výrazně u nich poklesl stupeň ketonurie. Při nezjištěných rozdílech v ukazatelích acidobazického metabolismu v krvi (pH, PCO_2 , BE, SB, BB) měly v moči vyšší hodnoty pH a čistého acidobazického výlučku. Produkce mléka se u krav kontrolních skupin v průběhu pokusu snížila (až $P < 0,01$), zatímco u pokusných krav byla vzhledem k nádoji při zahájení pokusů vyšší o 7,7 procenta (v prvním pokuse) a o 3,4 % (v druhém pokuse). Rozdíly v ukazatelích metabolismu a produkci mléka ve prospěch krav, které měly v krmné dávce zařazen šrot ostropestřce mariánského jsme zaznamenali i v době za 14 dnů po ukončení jeho zkrmování.

ketóza krav; ostropestřec mariánský; metabolismus; produkce mléka

Patologicky zvýšená tvorba ketolátů v organismu krav, jako ukazatel poruch energetického metabolismu, tj. ketózy v klinické a subklinické formě (Shaw, 1956), je doprovázena nálezem tukové infiltrace jater (steatózy), které působí také jako jeden z predispozičních faktorů jejich vzniku (Reid a Roberts, 1983).

K léčbě se využívá řada látek s glukoplastickými nebo glukoneogenními účinky, zajišťujících organismu dostatek glukózy pro tvorbu oxalacetátu, jehož nedostatek se při vzniku ketolátů považuje za rozhodující (Pehrson, 1966). Vyšší dostupnost glukózy pro tento účel může být docílena i použitím látek zvyšujících aktivitu celulotických bakterií v předžaludcích (Rogers a Hope-Cavdery, 1980). S výjimkou apli-

kace metioninu (Shaw, 1946; Mojžíš, 1985) není běžné využití látek s hepatoprotektivními účinky, které by při ketóze chránily parenchym před strukturálními a s nimi spojenými funkčními změnami.

Při známých farmakologických účincích (Hahn aj., 1968) by se pozitivně v tomto směru i u přežvýkavců mohly uplatnit látky tzv. silymarinového komplexu, především silybinu a silydianinu obsaženého ve šrotu ze semen ostropestřce mariánského. Cílem naší práce bylo v praktickém pokuse tuto možnost ozřejmit.

MATERIÁL A METODY

Ukutečnili jsme dva srovnávací pokusy (pokus 1 a pokus 2), vždy s 16 kravami, rozdělenými po osmi systémem dvojic do kontrolní a pokusné skupiny. Krávy, kříženky českého červenostrakatého skotu se skotem holštýnským, se nacházely na III. až V. laktaci a při zahájení pokusu měly v 1 l mléka obsah acetonu stejný nebo vyšší jak 7,9 mg (Vojtíšek, 1986). Jejich živá hmotnost se pohybovala mezi 550–600 kg.

Krmná dávka krav byla shodná a podle ČSN 46 7070 (1982) odpovídala při tučnosti 4,1–4,5 % produkci 20,0 kg mléka. Sestávala ze sena, slámy, kukuřičné a skrojkové siláže a doplňkové krmné směsi pro dojnice glycidové — DOG. Pokusné krávy dostávaly navíc jednou denně (při ranním krmení) přídatek 0,3 kg šrotu semen ostropestřce mariánského s obsahem 2,34 % silymarinu, stanoveného metodou Tittela a Wagnera (1977). Poměr SNL:ŠJ v krmné dávce byl 1:5,6; zastoupení vlákniny v sušině 24 %, koncentrace energie (KE) 50 %. Kyseliny zkrmovaných siláží (kyselina mléčná, octová, máselná) představovaly pro krávy denní acidogenní zátěž 10,5 molu (Vojtíšek aj., 1985), z toho kyselina máselná byla zastoupena 88,3 g.

K posouzení vývoje ukazatelů energetického metabolismu krav jsme v průběhu každého pokusu odebrali vzorky krve, mléka a moče, a to při zahájení (odběr 0), po skončení zkrmování testovaného šrotu (po 14 dnech pokusu, odběr I) a následovně za dalších 14 dnů, tj. 28. den po zahájení pokusu (odběr II). Krev jsme odebírali punkcí v. jugularis, moč katetrizací, mléko oddojením mezi 8.—10. hodinou dopolední. Při zahájení pokusu, 14. a 28. den jsme stanovili výši denní produkce mléka krav jako sumu večerního a ranního nádoje v kg FCM. K výpočtu bylo použito vzorce (Bílek aj., 1955):

$$\text{kg FCM} = M \cdot (0,4 + 0,15 \cdot F),$$

kde: M — množství skutečně nadojeného mléka

F — tučnost

Vyšetření krve (plazmy) zahrnovala stanovení hematokritové hodnoty (Homolka, 1969), hodnot acidobazického metabolismu (pH, PCO_2 — parciální tlak CO_2 krve, BE — base excess, SB — standardního bikarbonátu) na přístroji Acid-Base-Cart ABC Radiometer, přičemž k výpočtu jednotlivých ukazatelů (mimo pH) byl použit Siggaard-Andersenův nomogram, dále koncentrace glukózy a aktivity transaminázy aspartátu (EC 2.6.1.1) (AST) a alaninu (EC 2.6.1.2) (ALT), gamaglutamyltranspeptidázy (EC 2.3.2.1) (GMT) s využitím Bio-testů (Lachema Brno); koncentrace tyroxinu (T_4) a trijódtyroninu (T_3) metodou RIA (výrobce testu ÚRVJT Košice). Ketolátky v krvi a mléce jsme stanovili destilační metodou, jako sumu acetonu + kyseliny acetocetové a kyseliny β -hydroxymáselné (Reid, 1960); v moči hodnotu pH pomocí pH-metru, typ OP 106 (fy Radelkis); čistý acidobazický výluček (ČABV) metodou Kutase (1965); sodík a draslík metodou plamenové fotometrie (Homolka, 1969); močovinu, vápník a anorganický fosfor s využitím Bio-testů (Lachema Brno); semikvantitativně jsme pomocí diagnostických papírků penta PHAN (Lachema Brno) sledovali vývoj ketonurie.

Pomocí t -testu (Rod, 1966) jsme meziskupinově (mezi kontrolní a pokusnou skupinou) a dynamicky (v rámci skupiny) hodnotili rozdíly v hladinách hodnocených biochemických ukazatelů, stejně jako rozdíly v produkci mléka.

Výsledky biochemických analýz, které byly ovlivněny přidavkem testovaného šrotu do krmné dávky krav, tj. vývoj hladin glukózy a ketoláték v krvi, obsahu ketoláték v mléce, hodnot pH a ČABV moče jsme spolu s hematokritovou hodnotou krve uvedli v tab. I a II. V tab. III uvádíme vývoj ketonurie u pokusných a kontrolních skupin krav, v textu výsledkové části práce dosaženou produkci mléka.

VÝSLEDKY

U krav pokusných skupin, které měly v krmné dávce zařazen šrot ostropestřce mariánského, jsme v pokuse 1 i 2 zaznamenali významný pokles sumy acetonu + kyseliny acetocetové v krvi a mléce (až $P < 0,01$), stejně jako kyseliny β -hydroxymásečné v krvi (tab. I a II), s odezvou ve snížené hladině celkových ketolátů. V tomto období (odběr I) byly sumy acetonu + kyseliny acetocetové v krvi a mléce, jako i kyseliny β -hydroxymásečné a celkových ketolátů v krvi pokusných krav, vzhledem ke kravám z kontrolních skupin, podstatně až statisticky významně nižší ($P < 0,05$ až $P < 0,01$) — tab. I a II.

V odběru II jsme vzhledem k odběru 0 a I zaznamenali v obou pokusech snížení sumy acetonu + kyseliny acetocetové v krvi a mléce, podobně jako kyseliny β -hydroxymásečné v krvi na úroveň pokusných skupin. Statisticky významné rozdíly ($P < 0,01$) jsme prokázali pouze v hladinách kyseliny β -hydroxymásečné v pokuse 2 (tab. II), s odezvou v hladině celkových ketolátů.

Při shodném vývoji pH a ČABV moče v odběrech I a II u kontrolních a pokusných skupin krav (tab. I a II), vykazovaly hodnoty zjištěné u pokusných krav výraznější posun do alkalické oblasti.

Stupeň ketonurie u krav v kontrolních skupinách (tab. III) nebyl v průběhu pokusů 1 a 2 podstatně ovlivněn; u pokusných skupin jsme jeho výrazné snížení zaznamenali již v odběru I (tab. III), které pak přetrvávalo i v odběru II, tj. za 14 dnů po skončení krmného zásahu.

Ostatní námi sledované ukazatele metabolismu krav v krvi (plazmě) a moči měly shodný trend vývoje a při meziskupinovém hodnocení se, s výjimkou glukózy v pokuse 2 (odběr II), významně nelišily (tab. II).

V době zahájení pokusů byl průměrný denní nádoj pokusných krav $19,6 \pm 2,12$ (v pokuse 1) a $22,5 \pm 3,80$ kg FCM (v pokuse 2). U odpovídajících skupin kontrolních krav $18,3 \pm 3,61$ (v pokuse 1) a $23,4 \pm 4,23$ kg FCM (v pokuse 2). Ve 14. dnu pokusu (při ukončení zkrmování testovaného šrotu) činil $20,8 \pm 5,2$ (v pokuse 1) a $24,2 \pm 3,2$ kg FCM (v pokuse 2), u odpovídajících kontrolních skupin $18,5 \pm 4,81$ (v pokuse 1) a $18,10 \pm 5,2$ kg FCM (v pokuse 2). V době ukončení pokusů (za 14 dnů po skončení zkrmování testovaného šrotu) nadójily pokusné krávy $19,4 \pm 4,28$ (v pokuse 1) a $22,2 \pm 9,30$ kg FCM (v pokuse 2), kontrolní krávy $17,3 \pm 2,18$ (v pokuse 1) a $17,9 \pm 2,40$ kg FCM (v pokuse 2).

DISKUSE

Ketózy krav jsou ve zvýšené míře diagnostikovány v první fázi laktace, kdy limitujícím faktorem jejich vzniku je nedostatečná energetická hodnota krmné dávky (Pehrson, 1966). V našich pokusech její zvýšení přidávkou 0,3 kg šrotu ostropestřce mariánského denně představovalo (nejsou nám známy jeho koeficienty stravitelnosti), při obsahu hrubých živin jako u slunečnice (ČSN 46 7007, 1966), zvýšení její produkční účinnosti o 0,6 l mléka v SNL a o 0,7 l ve ŠJ (při 4,1–4,5 % tuku), ČSN 46 7070 (1982). Tomu odpovídalo i průměrné zvýšení denního nádoje krav o 0,5 l v prvním a 0,8 l mléka v druhém pokuse, zatímco u krav kontrolních jsme ve stejném období zaznamenali pokles o 5,6 a 19,5 %.

I. Hladiny vybraných ukazatelů metabolismu krav v krvi (plazmě), mléce a moči v pokuse 1 — The values of selected metabolism parameters of cows in blood (plasma), milk and urine in trial 1

Ukazatel ¹	Skupina ² [K, P]	Hladiny ukazatelů ³ ($\bar{x} \pm s$)		
		Odběr ⁴ 0 (zahájení pokusu ⁵)	Odběr ⁴ I (14. den pokusu ⁶)	Odběr ⁴ II (28. den po zahájení pokusu ⁷)
Krev ⁸				
Hematokrit ⁹ [l.l ⁻¹]	K	0,36 $\pm$ 0,03	0,34 $\pm$ 0,02	0,33 $\pm$ 0,01 ^{a 0/II}
	P	0,33 $\pm$ 0,02 ^{a K/P}	0,33 $\pm$ 0,01	0,31 $\pm$ 0,01 ^{b K/P b I/II}
Glukóza ¹⁰ [mmol.l ⁻¹]	K	2,8 $\pm$ 0,40	2,5 $\pm$ 0,52	2,0 $\pm$ 0,31 ^{a 0/II}
	P	2,7 $\pm$ 0,45	2,5 $\pm$ 0,45	2,1 $\pm$ 0,42 ^{a 0/II}
Aceton + kyselina acetocetová ¹¹ [mg.l ⁻¹]	K	23,2 $\pm$ 8,50	18,5 $\pm$ 8,90 ^{b K/P}	4,0 $\pm$ 2,57 ^{b I/II}
	P	36,9 $\pm$ 18,0	4,3 $\pm$ 2,10 ^{b 0/I}	3,5 $\pm$ 0,25 ^{b 0/II}
Kyselina β-hydroxymáselná ¹² [mg.l ⁻¹]	K	78,2 $\pm$ 27,6	62,5 $\pm$ 38,5 ^{b 0/I}	38,5 $\pm$ 16,6 ^{b 0/II}
	P	107,0 $\pm$ 29,9	39,5 $\pm$ 28,2	26,4 $\pm$ 8,87 ^{b 0/II}
Celkové ketolátky ¹³ [mg.l ⁻¹]	K	101,4 $\pm$ 34,4	81,0 $\pm$ 26,24 ^{b K/P}	42,5 $\pm$ 18,7 ^{b I/II}
	P	143,9 $\pm$ 42,2	43,8 $\pm$ 17,6 ^{b 0/I}	29,9 $\pm$ 8,67 ^{b 0/II}

pokračování tab. I

Mléko ¹⁴				
Aceton + kyselina acetonová ¹¹ [mg . l ⁻¹]	K	18,6 ± 6,6	12,5 ± 4,2 ^{b K/P}	1,9 ± 1,06 ^{b I/II}
	P	20,1 ± 9,7	5,9 ± 3,9 ^{b o/I}	1,5 ± 0,42 ^{b o/II}
Kyselina β-hydroxy- másečná ¹² [mg . l ⁻¹]	K	43,0 ± 12,5	50,5 ± 28,4	25,6 ± 8,20 ^{b o/II}
	P	36,8 ± 19,7	40,5 ± 15,4	29,5 ± 6,61
Celkové ketolátky ¹³ [mg . l ⁻¹]	K	61,6 ± 13,5	63,0 ± 16,3	27,5 ± 8,47 ^{b o/II}
	P	56,9 ± 27,3	46,4 ± 14,3 ^{a K/P}	31,0 ± 6,75 ^{a I/II}
Moč ¹⁵				
pH [-log . molc]	K	8,0 ± 0,09	7,8 ± 0,40	7,8 ± 0,20
	P	7,9 ± 0,18	7,9 ± 0,19	8,0 ± 0,17
ČABV ¹⁶ [mmol . l ⁻¹]	K	184 ± 28,63	102 ± 98,20 ^{a o/I}	92 ± 39,60 ^{b o/II}
	P	133 ± 70,80	140 ± 59,60	116 ± 41,15

Vysvětlivky pro tab. I—III — Explanatory notes to Tabs. I—III

K = kontrolní skupina, n = 8 — control group, n = 8

P = pokusná skupina, n = 8 — test group, n = 8

¹parameter, ²group, ³values of parameters, ⁴sampling, ⁵start of the trial, ⁶day 14 of the trial, ⁷day 28 after the start of the trial, ⁸blood, ⁹haematocrit, ¹⁰glucose, ¹¹acetone + acetoacetic acid, ¹²β-hydroxybutyric acid, ¹³total ketone bodies, ¹⁴milk, ¹⁵urine, ¹⁶net acid-base output

II. Hladiny vybraných ukazatelů metabolismu krav v krvi (plazmě), mléce a moči v pokuse 2 — The values of selected metabolism parameters of cows in blood (plasma), milk and urine in trial 2

Ukazatel ¹	Skupina ² (K, P)	Hladiny ukazatelů ³ ($\bar{x} \pm s$)		
		Odběr ⁴ 0 {zahájení pokusu ⁵ }	Odběr ⁴ I {14. den pokusu ⁶ }	Odběr ⁴ II {28. den po zahájení pokusů ⁷ }
Krev ⁸				
Hematokrit ⁹ [l.l ⁻¹]	K	0,36 ± 0,02	0,35 ± 0,03	0,30 ± 0,01 ^{b 0/II}
	P	0,34 ± 0,02	0,32 ± 0,02 ^{a K/P}	0,29 ± 0,01 ^{b 0/II}
Glukóza ¹⁰ [mmol.l ⁻¹]	K	2,0 ± 0,37	2,5 ± 0,47 ^{a 0/I}	3,7 ± 0,15 ^{a 0/II} ^{b K/P}
	P	2,5 ± 0,58	3,0 ± 0,62	4,1 ± 0,14 ^{b I/II} ^{b 0/II}
Aceton + kyselina acetocetová ¹¹ [mg.l ⁻¹]	K	28,3 ± 26,47	22,8 ± 15,67	5,3 ± 1,56 ^{b 0/II} ^{b I/II}
	P	34,9 ± 19,40	9,1 ± 10,11 ^{b 0/I}	4,6 ± 2,00 ^{b I/II}
Kyselina β-hydroxy- máselná ¹² [mg.l ⁻¹]	K	50,9 ± 33,90	69,1 ± 32,15	23,9 ± 4,75 ^{b I/II} ^{b K/P}
	P	63,3 ± 27,86	30,8 ± 21,73 ^{a K/P} ^{a 0/I}	15,3 ± 1,98 ^{a I/II} ^{b 0/II}
Celkové ketolátky ¹³ [mg.l ⁻¹]	K	79,2 ± 60,26	91,9 ± 46,61	29,2 ± 6,30 ^{a 0/II} ^{b 0/II}
	P	98,2 ± 46,92	39,9 ± 21,73 ^{a K/P} ^{b 0/I}	19,9 ± 2,79 ^{b K/P} ^{b 0/II} ^{a I/II}

pokračování tab. II

Mléko ¹⁴				
Aceton + kyselina acetocetová ¹¹ [mg . l ⁻¹]	K	25,5 ± 22,43	18,2 ± 15,20	5,3 ± 1,38 ^{b 0/II}
	P	29,5 ± 20,96	7,9 ± 8,04 ^{a 0/I}	6,8 ± 0,26 ^{b 0/II}
Kyselina β-hydroxy- máselná ¹² [mg . l ⁻¹]	K	75,0 ± 24,99	86,3 ± 19,67	63,4 ± 8,61 ^{b I/II}
	P	70,5 ± 9,29	71,0 ± 14,53	74,8 ± 19,30
Celkové ketolátky ¹³ [mg . l ⁻¹]	K	100,5 ± 32,93	104,5 ± 28,80	68,7 ± 9,47 ^{a 0/II}
	P	100,0 ± 16,02	78,9 ± 14,46	81,6 ± 19,59 ^{b I/II}
Moč ¹⁵				
pH [—log . molc]	K	7,7 ± 0,41	7,8 ± 0,09	8,0 ± 0,09
	P	7,8 ± 0,29	7,9 ± 0,10	8,0 ± 0,08
ČABV ¹⁶ [mmol . l ⁻¹]	K	102 ± 72,36	141 ± 20,91	200 ± 19,18 ^{b 0/II}
	P	88 ± 70,61	175 ± 61,19 ^{a 0/I}	257 ± 47,13 ^{b K/P} ^{b 0/II} ^{b I/II}

For 1—16 see Tab. I

III. Vývoj ketonurie dojnic v průběhu pokusu 1 a 2 — Ketonuria development in dairy cows during trials 1 and 2

Pokus ¹	Skupina ² (K, P)	Stupeň ketonurie ³		
		Odběr ⁴ 0 (zahájení pokusu ⁵)	Odběr ⁴ I (14. den pokusu, ukončení krmeného zásahu ⁶)	Odběr ⁴ II (28. den pokusu, 14 dnů po ukon- čení krmeného zásahu ⁷)
1	K	3× +++++ 2× ++ 3× ++	1× +++++ 2× +++ 5× +	1× ++ 5× +
	P	4× +++++ 2× +++ 2× ++	1× ++	—
2	K	1× +++++ 4× +++ 3× +	1× +++++ 1× +++ 1× ++ 2× +	1× +++ 2× + 1× ++
	P	5× +++ 3× +	1× +++	1× +

¹trial, ²group, ³ketonuria degree, ⁴sampling, ⁵start of the trial, ⁶ day 14 of the trial, after the end of administration of test feed rations, ⁷day 28 of the trial, a fortnight after the end of administration of test feed rations

Pozitivní vliv zkrmovaného šrotu se projevil i ve vývoji ketonemie, ketolaktie a ketonurie pokusných krav. Spatřujeme jej v účinku silymarinu, který chrání jaterní mitochondrie a mikrozomy, tj. cytoplazmatické struktury, v nichž probíhá cyklus trikarboxylových kyselin, metabolismus proteinů, lipidů a glykogenu (Nečas aj., 1975) před tvorbou tukové peroxidázy, která je stimulována toxickými látkami endogenního a exogenního původu (Bindoli aj., 1977). Domníváme se, že k nim patří i aceton, složka ketolátů, která není organismem, na rozdíl od kyseliny acetové a β -hydroxymáselné, kvantitativně využívána (Koehler aj., 1941); stejně jako rozkladné produkty bílkovin ve zkrmované skrojkové siláži, indikátorem jejichž přítomnosti je vysoký obsah (88,3 g) kyseliny máselné (Andersson a Lundström, 1985).

Kyselina máselná v silážích se uplatňuje jako jeden z predispozičních faktorů vzniku ketóz. Andersson a Lundström (1985) je zaznamenali již při obsahu 0,2 g kyseliny máselné na 1 kg živé hmotnosti krav denně. Tomu se blíží i námi v siláži zkrmované množství 0,14 až 0,15 g.kg⁻¹ živé hmotnosti, které při krmené dávce odpovídající přibližně produkci 20 kg mléka (při zahájení pokusu), představovalo hlavní zdroj zvýšení ketolátů u krav, v důsledku zvýšení alimentární ketogenese (Krebs, 1966).

Významným nálezem v pokuse byl přetrvávající stupeň ketonurie u krav kontrolních skupin v 28. den pokusu (za 14 dnů po skončení krmeného zásahu), a to při hladinách ketolátů v krvi a mléce, které se prakticky nelišily od hodnot pokusných krav. Naznačuje to, při vylučo-

vání části přijatého silymarinu ledvinami (Mennicke, 1974) i na jeho možný stabilizující účinek na permeabilitu ledvinových buněk a funkci jejich subcelulárních struktur, shodný s účinkem prokázaným v hepatocytech (Hahn aj., 1968).

Nejistili jsme rozdíly v aktivitě enzymů, které indikují jaterní poškození. Aktivita AST, GMT a ALP využívané ve veterinární medicíně k hodnocení hepatopatií skotu (Cornelius, 1987), se významně nelišily a dokládají nepřímo skutečnost, že jedna pětina až jedna polovina jater stačí udržet navenek jejich normální funkci (Homolka, 1971).

Jagoš aj. [1981] při hodnocení energetického metabolismu krav připisují nejvyšší diagnostickou cenu stanovení ketolátů v krvi. Ostatní ukazatele, mezi něž patří i glukóza, která je pro řadu metabolických procesů v organismu nezbytná, mimo jiné i pro esterifikaci mastných kyselin ve vývoji ketonemie nebo tvorbě laktózy mléka limitující jeho produkci (Bartoš, 1974), nepovažují za dostatečně informativní. Z tohoto pohledu, při vyšší produkci mléka a poklesu ketonemie u krav krmených šrotem ostropestřce mariánského, můžeme usuzovat na její vyšší dostupnost pro tyto metabolické děje, zřejmě v důsledku zachovalé funkce cytoplazmatických struktur hepatocytů odpovědných za energetický metabolismus.

U těchto krav jsme v moči, při shodném vývoji v kontrolní skupině, zaznamenali posun k relativně vyšším hodnotám pH a ČABV moče, zřejmě v důsledku nižšího množství vylučované kyseliny octové, prokázané semikvantitativně diagnostickými papírky penta PHAN.

Na základě našich výsledků se domníváme, že změny ukazatelů metabolismu krav v krvi (plazmě), moči a v produkci mléka v průběhu pokusu svědčí pro pozitivní vliv 14denního zařazení šrotu ostropestřce mariánského v krmné dávce ketózických krav v podmínkách, kdy významným faktorem jejich vzniku je zvýšená alimentární ketogeneze (Shaw, 1956). Při dávce 0,3 kg šrotu (s obsahem 2,34 % silymarinu) na kus a den jej můžeme vztahovat k příjmu 7 g účinné látky v této formě.

Literatura

- ANDERSSON, L. — LUNDSTRÖM, K.: Effect of feeding silage with high butyric acid content on ketone body formation and milk yield in postparturient dairy cows. Zbl. Veter.-Med., 32, 1985, s. 15—24.
- BARTOŠ, S.: Metabolismus sacharidů u přežvýkavců. 1. vyd. Praha, Academia 1974, 114 s.
- BÍLEK, F. aj.: Speciální zootechnika. I. díl, Chov skotu. Praha, SZN 1955, 882 s.
- BINDOLI, A. aj.: Inhibitory action of silymarin of lipid peroxide formation in rat liver mitochondria and microsomes. Biochem. Pharmacol. 26, 1977, s. 2405—2409.
- CORNELIUS, CH. E.: A review of new approaches to assessing hepatic function in animals. Veter. Res. Com., 11, 1987, s. 423—441.
- ČSN 46 7007. Výživná hodnota krmiv. 1966.
- ČSN 46 7070. Potřeba živin hospodářských zvířat. 1982.
- HAHN, G. aj.: Zur Pharmakologie und Toxikologie von Silymarin, des antihepatotoxischen Wirkprinzips aus *Silybum marianum* [L.] Gaertn. Arzneim.-Forsch. (Drug. Res), 18, 1968, s. 698—704.
- HOMOLKA, J.: Klinické biochemické vyšetřovací metody. 1. vyd. Praha, SZN 1969.
- HOMOLKA, J.: Klinická biochemie. 2. vyd. Praha, Avicenum 1971, 463 s.
- JAGOŠ, P. aj.: Studium některých ukazatelů energetického metabolismu u přežvýkavců ve vztahu k reprodukčním chorobám. [Výsledky výzkumné činnosti VŠV v Brně za 6. pětiletku.] Brno, 1981, 97 s.
- KOEHLER, A. K. aj.: Acetone and acetoacetic acid studies in man. J. biol. Chem., 140, 1941, s. 811—826.
- KREBS, H. A.: Bovine ketosis. Veter. Rec., 78, 1966, s. 187—195.

- KUTAS, F.: Determination of net acid base excretion in the cattle urine. A method for estimation of acid base equilibrium. Acta veter. Acad. Sci. hung., 15, 1965, s. 147—153.
- MOJŽIŠ, J.: Použití přípravku Heparemin inj. u dojnic. In: Informační zprávy pro veterinární a zemědělskou praxi. 3, 1985, s. 16—20.
- MENNICKE, W.: What is known about metabolism and pharmacokinetics of silymarin? In: Symp. on the pharmacodynamics of silymarin 29th to 30th November 1974 in Cologne. München 1976, s. 98—119.
- NEČAS, O. aj.: Obecná biologie. 3. přepracované vydání Praha, Avicenum 1975, 564 s.
- PEHRSON, B.: Studies on ketosis in dairy cows. Acta veter. scand., 15, 1966, s. 7—59.
- REID, R. L.: The determination of ketone bodies in blood. Analyst, 85, 1960, s. 265—271.
- REID, I. M. — ROBERTS, C. J.: Subclinical fatty liver in dairy cows. Ir. veter. J., 37, 1983, s. 104—110.
- ROD, J.: Statistika, základy biometrie. 1. vyd. Praha, SPN 1966, 126 s.
- ROGERS, P. M. — HOPE-CAWDERY, M. J.: Monensin, ketosis and nitrate toxicity in cows. Veter. Rec., 106, 1980, s. 311—312.
- SHAW, J. C.: Studies on ketosis in dairy cattle. VII. The efficiency of B vitamins and methionine in the treatment of ketosis. J. Dairy Sci., 29, 1946, s. 131—138.
- SHAW, J. C.: Ketosis in dairy cattle. A review. J. Dairy Sci., 39, 1956, s. 403—434.
- TITTEL, G. — WAGNER, H.: Hochleistung flüssig chromatographische Trennung von Silymarien und deren Bestimmung in Roheextrakt von *Silybum marianum* [L.] Gaertn. J. Chromatogr., 135, 1977, s. 499—501.
- VOJTÍŠEK, B. aj.: Vliv zkrmování kukuřičných silážních šťáv na vybrané ukazatele metabolismu dojnic při různém zastoupení siláží a senáží v krmné dávce. Veter. Med. (Praha), 30, 1985, s. 705—714.
- VOJTÍŠEK, B.: Stanovení acetonu v mléce, mlezivu, krvi a moči dojnic mikrodifúzní metodou. Veterinářství, 36, 1986, s. 394—396.

Došlo dne 26. 6. 1990

VOJTÍŠEK, B. — HRONOVÁ, B. — HAMŘÍK, J. — JANKOVÁ, B. (Veterinary Research Institute, Brno): Milk thistle (*Silybum marianum* L., Gaertn.) in feed rations administered to ketotic cows. Veter. Med. (Praha), 36, 1991 (6): 321—330.

Two comparative trials were performed, each with 16 cows which in the period of 2—6 weeks after parturition had 7.9 mg and more acetone in 1 litre of milk. The cows, crossbreeds of the Czech Red-Pied cattle with the Holstein cattle, were divided into control and test groups, eight in each using the system of pairs. The cows of test groups were given for a fortnight feed rations containing a meal of milk thistle (*Silybum marianum*, L., Gaertn.) seeds, at a rate of 0.3 kg per head/day with the contents of 2.34 % silybin and silydianin (substances of the so called silymarin complex of the flavonolignane group). In comparison with the control cows, in the blood and milk of the former ones a decrease was demonstrated in the sum of acetone + acetoacetic acid (up to $P < 0.01$) and β -hydroxybutyric acid in the blood (up to $P < 0.05$). The ketonuria degree dropped remarkably. Although there were not observed any differences in the parameters of acid-base metabolism in the blood (pH, PCO_2 , BE, SB, BB), the pH values and net acid-base output in urine were higher in these cows. Milk production in the cows of control groups was decreasing during the trial (up to $P 0.01$), but in the test cows it was higher by 7.7 % (trial 1) and by 3.4 % (trial 2), in comparison with the milk yielded at the beginning of the trials. Differences in metabolism parameters and milk production in favour of the cows which were given milk thistle in their feed rations were observed even in a fortnight after the diet stopped to contain this ingredient.

ketosis of cows; milk thistle; metabolism; milk production

Adresa autorů:

MVDr. Bohuslav Vojtíšek, CSc., RNDr. Blažena Hronová, MVDr. Jaroslav Hamřík, RNDr. Blanka Janková, Výzkumný ústav veterinárního lékařství, Hudcova 70, 621 32 Brno

DYNAMIKA PROTOZOÍ V BACHORE TELIAT V OBDOBÍ MLIEČNEJ VÝŽIVY

K. Klapáčová, Š. Klapáč

KLAPÁČOVÁ, K. — Klapáč, Š. (Ústav experimentálnej veterinárnej medicíny, Košice; RD Mier, Nižná Myšľa): *Dynamika protozoí v bachore teliat v období mliečnej výživy*. Veter. Med. (Praha), 36, 1991 (6): 331—334.

U teliat v období mliečnej výživy sme sledovali dynamiku protozoí v bachore. V treťom týždni veku teliat sme zistili celkový počet protozoí $1,48 \pm 0,91$ ($\log 10 \pm \text{SEM}$) v 1 ml bachorového obsahu. Postupne počet narastal, až v siedmom týždni veku dosiahol $5,54 \pm 0,19$ ($\log 10 \pm \text{SEM}$) v 1 ml bachorového obsahu. Zvýšenie počtu protozoí v siedmom týždni veku bolo signifikantné oproti štyrom predchádzajúcim sledovaným týždňom. Celkové počty protozoí boli prepočítané aj na 1 g sušiny bachorového obsahu.

teľatá; protozoá; dynamika výskytu

Mikroflóra bachorového obsahu teliat sa začína vyvíjať už cez prvý týždeň po narodení (Kmeť a i., 1990). Protozoa sa objavili neskôr než je koniec prvého týždňa veku, počas druhého až tretieho týždňa a ich populácia bola stabilne menšia než u dospelých zvierat (Fonty a i., 1986a). Kolonizácia bachora prvkami vyžaduje prítomnosť komplexnej bakteriálnej mikroflóry poskytujúcej nutné ekologické podmienky (Fonty a i., 1983). Protozoa sú prítomné nielen v bachore všetkých druhov prežúvavcov, ale aj v ich celom črevnom trakte. Počty sú nižšie, ako počty baktérií. Pohybujú sa v rozmedzí 10^4 — 10^7 ml⁻¹ bachorového obsahu (Bartoš, 1987). Prvky sú adherované na hrubé častice krmiva a ich počet je závislý na diéte a dobe kŕmenia. Sú náročné na živiny. Prežúvavce môžu existovať aj bez protozoí. Ich úbytok je kompenzovaný zvýšením počtu baktérií, ale prírastky a stav defaunovaných zvierat sú horšie v porovnaní s jedincami s faunovaným bachorom (Bartoš, 1987). Významne prispievajú k tráveniu krmiva v predžalúdkoch prežúvavcov a sú súčasťou mikrobiálnej biomasy, ktoré využívajú zvieratá ako zdroj živín.

Cieľom práce bolo sledovať vývoj protozoálnej populácie teliat v období od druhého do siedmeho týždňa veku.

MATERIÁL A METÓDA

Dynamika výskytu protozoí bola sledovaná u teliat v období mliečnej výživy. Teľatá boli napájané mliečnou krmnou zmesou, dostávali krmnu zmes TKŠ, seno, k vode mali voľný prístup. Teľatá boli umiestnené vo VKT.

Vzorky bachorového obsahu 30 teliat vo veku dva až sedem týždňov boli odoberané pažerákovou sondou 4 h po rannom kŕmení. Vzorka bachorovej tekutiny bola fixovaná formaldehydom v objemovom pomere 1:1. Celková koncentrácia protozoí bola zistená mikroskopickým počítaním všetkých prvkov v 0,005 ml vzorky. Zistený počet sa prepočítal na 1 ml bachorového obsahu a tiež na 1 g sušiny bachorového obsahu. Výsledky sú vyjadrené aritmetickým priemerom $\pm$ stredná chyba priemeru. Štatistické vyhodnotenie bolo robené *t*-testom.

VÝSLEDKY

Celkové počty protozoí zistené a prepočítané na 1 ml bachorového obsahu a tiež na 1 g sušiny bachorového obsahu sú v tab. I a II.

I. Výskyt protozoí v bachorovom obsahu teliat ($\log 10 \pm \text{SEM}$) vo veku 2–7 týždňov — The presence of protozoa in the rumen contents of calves ($\log 10 \pm \text{SEM}$) at the age of 2–7 weeks

Vek v týždňoch ¹	Počet protozoí ($\log 10 \pm \text{SEM}$) . ml ⁻¹ bachorového obsahu ²
2	bez protozoí ³
3	1,48 $\pm$ 0,91
4	2,94 $\pm$ 0,75
5	3,70 $\pm$ 0,42
6	5,09 $\pm$ 0,22
7	5,54 $\pm$ 0,19

$n = 5$

7,6 ($p < 0,10$)

7,5 ($p < 0,005$)

7,4 ($p < 0,01$)

7,3 ($p < 0,005$)

¹age in weeks, ²counts of protozoa ($\log 10 \pm \text{SEM}$) per ml of rumen contents, ³protozoan-free

II. Výskyt protozoí v bachorovom obsahu teliat ($\log 10 \pm \text{SEM}$) vo veku 2–7 týždňov — The presence of protozoa in the rumen contents of calves ($\log 10 \pm \text{SEM}$) at the age of 2–7 weeks

Vek v týždňoch ¹	Počet protozoí ($\log 10 \pm \text{SEM}$) . g ⁻¹ sušiny bachorového obsahu ²
2	bez protozoí ³
3	2,08 $\pm$ 1,28
4	4,10 $\pm$ 1,05
5	5,14 $\pm$ 0,46
6	6,44 $\pm$ 0,08
7	6,92 $\pm$ 0,19

$n = 5$

7,6 ($p < 0,05$)

7,5 ($p < 0,01$)

7,4 ($p < 0,10$)

7,3 ($p < 0,005$)

¹age in weeks, ²counts of protozoa ($\log 10 \pm \text{SEM}$) per g of rumen content dry matter, ³protozoan-free

V druhom týždni veku teliat sa protozoa v bachorovom obsahu nenachádzali. V treťom týždni veku sme zistili celkový počet protozoí $1,48 \pm 0,91$ ($\log 10 \pm \text{SEM}$) v 1 ml bachorového obsahu. Postupne počet narastal až v siedmom týždni veku dosiahol $5,54 \pm 0,19$ ($\log 10 \pm \text{SEM}$) v 1 ml bachorového obsahu. Zvýšenie počtu protozoí v siedmom týždni veku bolo signifikantné oproti štyrom predchádzajúcim sledovaným týždňom.

V bachorovom obsahu teliat protozoa v druhom týždni veku neboli prítomné. V treťom týždni veku bol celkový počet protozoí $2,08 \pm 1,28$ ($\log 10 \pm \text{SEM}$) v 1 g sušiny bachorového obsahu. V ďalších týždňoch veku počet narastal a v siedmom týždni veku bol $6,92 \pm 0,19$ ($\log 10 \pm \text{SEM}$). Zvýšenie počtu protozoí v siedmom týždni veku bolo signifikantné oproti ostatným sledovaným týždňom.

DISKUSIA

Bachor je kolonizovaný veľmi rýchlo po narodení (Fonty a i., 1986a). Protozoami sa bachor jahniat osídľuje až je vyvinutá bakteriálna flóra (Fonty a i., 1988a). U stáda, ktoré malo prístup k lúčnemu senu a koncentrátom od narodenia, sa prvé protozoa objavili už na 15.–20. deň (Fonty a i., 1984, 1986b). Celkový počet protozoí pri odstave zvierat sa pohybuje v rozmedzí 10^5 – 10^6 .ml⁻¹ bachorového obsahu (Fonty a i., 1987). Hlavnú zložku mikrobiálnej bachorovej populácie tvoria baktérie. Významnú úlohu hrajú aj protozoa (Bartoš, 1987). Stimulácia vývoja bachorovej mikroflóry teliat v období mliečnej výživy môže urýchliť nástup bachorového typu trávenia a skrátiť tak aj obdobie prechodu z mliečnej na rastlinnú výživu. Tento spôsob ovplyvňovania je zvlášť účinný v prvých týždňoch života teliat a jahniat, kedy sa mikroflóra začína vyvíjať (Kmeť a i., 1986a, b). Ovplyvňovanie vývoja bachorovej mikroflóry môžeme dosiahnuť mikrobiálnymi preparátmi a jeho zintenzívnenie je možné pomocou špeciálneho systému diét zameraných na stimuláciu vývoja predžalúdkov. Tieto dva systémy — mikrobiálny (Kmeť a i., 1986a, b) a dietetický (Kalačnický, 1974, 1986) autori spojili do jedného a vytvorili tak dieteticko-mikrobiálny preparát (Kmeť a i., 1987), ktorý bol upravený na československé podmienky. Počty bachorových protozoí boli na deviaty týždeň v pokusnej skupine $2,4 \cdot 10^5$.ml⁻¹ bachorového obsahu, čo je hodnota dospelého prežúvavca. V kontrolnej skupine boli počty protozoí len $4,8 \cdot 10^2$.ml⁻¹ bachorového obsahu. Výsledky tohto experimentu (Kmeť a i., 1987) naznačujú stimuláciu vývoja bachorovej mikroflóry teliat, a tým aj mikroflóry protozoálnej dieteticko-mikrobiálnym spôsobom.

Na základe dosiahnutých výsledkov u teliat v období mliečnej výživy možno konštatovať, že s pribúdajúcim vekom teliat, stúpajú aj celkové počty protozoí v 1 ml bachorového obsahu až do konca pozorovaného obdobia, t. j. siedmeho týždňa veku teliat, kedy bolo zistené, že priemerný počet protozoí sa pohyboval 10^5 .ml⁻¹ bachorového obsahu teliat pri normálnom kŕmení.

Literatúra

BARTOŠ, S.: Mikrobiologie a biochemie trávení v bachoru přežvýkavců. Praha, Academia 1987.

- FONTY, G. — GOUET, Ph. — JOUANY, J. P. — RIEU, F. — SENAUD, J. — CITRON, A. — BRETON, A.: Microbial colonization of the rumen in young lambs. Biology of anaerobic bacteria. In: DUBOURGUIER, H. C. et al. (eds), Elsevier, Amsterdam, 1986b, FONTY, G. — GOUET, Ph. — JOUANY, J. P. — RIEU, F. — SENAUD, J. — CITRON, A. — BRETON, A.: Microbial colonization of the rumen in young lambs. Biology of anaerobic bacteria. In: DUBOURGUIER, H. C. et al. (eds), Elsevier, Amsterdam, 1986b, s. 40—46.
- FONTY, G. — GOUET, Ph. — JOUANY, J. P. — SENAUD, J.: Ecological factors determining establishment of cellulolytic bacteria and protozoa in the rumens of merxenic lambs. J. Gen. Microbiol., 129, 1983, s. 213—223.
- FONTY, G. — GOUET, Ph. — JOUANY, J. P. — SENAUD, J.: Role de la microflore sur la cinétique d'apparition des protozoaires ciliés dans le rumen de l'agneau. Reprod. Nutr. Dev., 26, 1987, s. 285—286.
- FONTY, G. — JOUANY, J. P. — SENAUD, J. — GOUET, Ph. — GRAIN, J.: The evolution of microflora, microfauna and digestion in the rumen of lambs from birth to 4 months. Can. J. anim. Sci., 64, 1984, s. 165—166.
- FONTY, G. — SENAUD, J. — JOUANY, J. P. — GOUET, P.: Establishment of ciliate protozoa in the rumen of conventional and conventionally lambs: Influence of diet and management conditions. Can. J. Microbiol., 34, 1988, s. 235—241.
- KALAČNÍK, G. I.: Beloksyntetizirujuščaja spósobnost slizistoj rubca, jejo biologičeskaja rol'. [Doktorskaja dizertacija.] Ľvov-Kijev 1974. — Institut biochemii im. Paladina.
- KALAČNÍK, G. I.: Fyziologo-biochemičeskoe obosnovanie ispol'zovaniya netradicionnykh kormov pri otkormke skota. Vest. sel.-choz. Nauki (Moskva), 7, 1986, s. 97—108.
- KMEŤ, V.: Využitie biotechnológií pri manipulácii s vývojom bachorovej mikroflóry. In: Zbor. ref. Využitie biotechnológií v poľnohospodárstve. Nitra, ČSVTS 1987, s. 101—106.
- KMEŤ, V. a kol.: Oplyvňovanie bachorového ekosystému teliat a jahniat mikrobiálnymi preparátmi. Bratislava, Veda 1990.
- KMEŤ, V. — BOĎA, K. — JAVORSKÝ, P. — NEMCOVÁ, R.: The enzymatic activity of rumen microflora in calves. J. anim. Physiol. anim. Nutr., 56, 1986a, s. 73—77.
- KMEŤ, V. — BOĎA, K. — JAVORSKÝ, P. — GIBALOVÁ, R.: Dynamics of enzymatic activity development in the adherent rumen microflora. Arch. Tierernähr., 36, 1986b, s. 621—628.
- KMEŤ, V. — JONECOVÁ, Z. — BOMBA, A. — NEMCOVÁ, R.: Stimulácia bachorovej mikroflóry teliat mikrobiálnymi preparátmi. Živoč. Výr., 33, 1988, s. 23—28.
- KMEŤ, V. — KALAČNÍK, G. I. — KONIK, Š. — LENART, J. — BOMBA, A.: Použitie kolonizačného preparátu Amylastim v stimulácii bachorového typu trávenia mláďat prežúvavcov. Veter. Med. (Praha), 32, 1987, s. 705—709.

Došlo dňa 15. 6. 1990

KLAPÁČOVÁ, K. — KLAPÁČ, Š. (Institute of Experimental Veterinary Medicine, Košice; Mier Cooperative Farm, Nižná Myšľa): *Protozoan counts in calf's rumen in the period of milk diet*. Veter. Med. (Praha), 36, 1991 (6): 331—334.

Protozoan counts were followed in the rumen of calves in the period of milk diet. In the third week of calves' age the total counts of protozoans in 1 ml of rumen contents made 1.48 ± 0.91 ($\log_{10} \pm \text{SEM}$). These counts were increasing gradually to reach in the seventh week of age the value of 5.54 ± 0.19 ($\log_{10} \pm \text{SEM}$) in 1 ml of rumen contents. An increase in the protozoan counts in the seventh week of age was significant in comparison with the preceding four weeks. Total protozoan counts were converted also per 1 g of rumen content dry matter.

calves; protozoans; dynamics of protozoan counts

Adresy autorov:

MVDr. Katarína Klapáčová, Tomašíkova 1, 040 01 Košice
MVDr. Štefan Klapáč, RD Mier, 044 15 Nižná Myšľa

PRODUKCIA KYSELINY MLIEČNEJ A UREÁZOVÁ AKTIVITA U BACHOROVÝCH KMEŇOV *Enterococcus faecium* A ICH GENETICKÁ STABILITA

A. Lauková, M. Kuncová

LAUKOVÁ, A. — KUNCOVÁ, M. (Ústav fyziológie hospodárskych zvierat SAV, Košice): *Produkcia kyseliny mliečnej a ureázová aktivita u bachorových kmeňov Enterococcus faecium a ich genetická stabilita*. Veter. Med. (Praha), 36, 1991 (6): 335—340.

Sledovali sme produkciu kyseliny mliečnej, ureázovú aktivitu a genetickú stabilitu u piatich vybraných bachorových kmeňov *Enterococcus faecium*. Priemerná hodnota ureázovej aktivity u testovaných kmeňov bola $16,5 \pm 0,953$ nkat.ml⁻¹, pričom dva kmene boli ureáza negatívne. Hodnoty kyseliny mliečnej produkovanej kmeňmi *E. faecium* sa pohybovali v rozpätí od $1,087 \pm 0,134$ do $1,787 \pm 0,213$ mmol.l⁻¹. Kultiváciou v ethidium bromide (EB) bola eliminovaná ureázová aktivita u sledovaných kmeňov už v 1. pasáži, zatiaľ čo eliminačný efekt sodium dodecylsulfátu (SDS) a akridín oranž (AO) sa prejavil neskôr (1.—8. pasáž). Produkcia kyseliny mliečnej bola eliminovaná u všetkých kmeňov od 1. po 8. pasáž pri kultivácii ako v SDS, tak aj v EB a AO.

Enterococcus faecium; ureázová aktivita; kyselina mliečna; genetická stabilita

Bachorové trávenie u mláďat prežúvavcov, jeho nástup a ovplyvňovanie sú oblasťou neustáleho záujmu a experimentovania.

Poznatky z našich predchádzajúcich prác (Kmeť a i., 1986a, b) potvrdzujú, že bachorová mikroflóra u teliat a jahniat sa začína vyvíjať už v prvých týždňoch po narodení. Medzi najviac zastúpené bachorové baktérie v období mliečnej výživy patria aj fakultatívne anaeróbne ureolytické a kyselinu mliečnu produkujúce streptokoky, stafylokoky a laktobacily. Celkové počty bachorových stafylokokov v bachorovom obsahu mláďat prežúvavcov sa v uvedenom období pohybujú v rozsahu od 10⁴ do 10⁶.ml⁻¹ bachorového obsahu a celkové počty bachorovej baktérie *E. faecium* dosahujú hodnoty 10³ až 10⁵.ml⁻¹ bachorového obsahu (Lauková, 1988). Nemcová (1989) uvádza výskyt laktobacilov v bachorovom obsahu mláďat prežúvavcov počas obdobia mliečnej výživy v množstve $3,31 \pm 0,24$ až $5,11 \pm 0,28$ (log 10 $\pm$ SEM). Keďže súčasný trend smeruje k urýchleniu nástupu bachorového typu trávenia ako aj ku skráteniu obdobia prechodu z mliečnej na rastlinnú výživu je potrebné a vhodné stimulovať vývoj bachorovej mikroflóry u mláďat prežúvavcov už v období mliečnej výživy. Pre stimuláciu je nevyhnutný výber vhodných kolonizačných bachorových kmeňov. Jedným z hlavných kritérií pri tomto výbere je stabilná produkcia vybraných metabolických

vlastností u testovaných kmeňov. My sme si ako model vybrali produkciu kyseliny mliečnej a ureázovú aktivitu (E. C. 3. 5. 1. 5). Kyselina mliečna je totiž u prežúvavcov spätá nielen s intermediárnym metabolizmom, ale aj s výživou a trávením, a preto má v ich organizme zvláštny význam. Smiley a Fryder (1978) dokonca poukazujú na súvislosť kvantít produkcie kyseliny mliečnej s prítomnosťou plazmidu a popísali plazmid zvyšujúci produkciu kyseliny mliečnej u laktobacilov izolovaných z mlieka.

Mobley a Hausinger (1989) zas uvádzajú, že aj keď väčšina ureolytických baktérií má túto metabolickú vlastnosť zabudovanú chromozomálne, je známych niekoľko príkladov pravdepodobnosti plazmidovej determinácie ureázových génov. Z nášho hľadiska je významný poznatok Cooka (1976), ktorý predpokladá kódovanie ureázového génu plazmidom u bachorovej baktérie *E. faecium*, čo však doteraz nebolo bezpečne preukázané. Cook (1976) vychádzal z poznatkov získaných pri kultivácii kmeňa *Enterococcus faecium* s plazmid eliminačnými látkami (SDS, EB), kedy došlo ku spontánnej strate ureázovej aktivity. Keďže druh *E. faecium* je zastúpený v bachore mláďat prežúvavcov v dostatočnom množstve a spĺňa aj kritériá z hľadiska metabolickej aktivity (ureázová aktivita, produkcia kyseliny mliečnej) bolo cieľom našej práce práve sledovanie produkcie kyseliny mliečnej a ureázovej aktivity u bachorových kmeňov *E. faecium* a tiež sledovanie ich genetickej stability, pričom ako selekčný marker bola použitá rezistencia.

MATERIÁL A METÓDY

KULTÚRY A MÉDIÁ

Tab. I uvádza päť vybraných kmeňov *E. faecium* (ich pôvod, vlastnosti), na ktorých bola študovaná genetická stabilita. Sú to izoláty z bachorového obsahu teliat a jahniat z obdobia mliečnej výživy. Všetky kmene sú rezistentné na tetracyklín. Fermentujú arabinózu, laktózu, fruktózu, trehalózu a manitol, avšak fermentácia sorbitolu je negatívna. Kmene boli izolované v Selektívnom bujóne pre izoláciu fakultatívnych streptokokov (Imuna, Šarišské Michaľany) s prídavkom 18 g agaru, 60 g chloridu sodného a 5 % defibrinovanej baranej krvi (pH 6,9).

REZISTENCIA NA ANTIBIOTIKÁ

Rezistencia na tetracyklín a ostatné antibiotiká bola sledovaná platňovým difúznym testom s použitím antibiotických diskov (Lachema, Brno).

FERMENTÁCIA SACHARIDOV

Na sledovanie fermentácie sacharidov boli použité MIDIPA testy (Lenárt a Kmeť, 1986).

UREÁZOVÁ AKTIVITA (E. C. 3. 5. 1. 5.)

Ureázová aktivita (E. C. 3. 5. 1. 5.) bola testovaná kvantitatívnou metódou podľa Cooka (1976) v modifikácii Javorského (1986) a vyjadrená v $\text{nmol} \cdot \text{ml}^{-1}$.

PRODUKCIA KYSELINY MLIEČNEJ

Kvantita produkcie kyseliny mliečnej bola sledovaná precipitačnou metódou podľa Prycea (1969) a vyjadrená v $\text{mmol} \cdot \text{l}^{-1}$.

GENETICKÁ STABILITA

Na kultiváciu kmeňov pre zisťovanie genetickej stability bol použitý Todd-Hewittov bujón, resp. agar (Imuna, Šarišské Michaľany, pH 7,8) s prídavkom 0,05 % azidu sodného. Genetická stabilita bola sledovaná metódou pasážovania testovaných kmeňov v plazmid eliminačných látkach (SDS, EB, AO).

Výsledky ureázovej aktivity a produkcie kyseliny mliečnej sú aritmetickým priemerom $\pm$ SEM.

I. Bachorové kmene *E. faecium* — pôvod, vlastnosti — Rumen strains of *E. faecium* — origin, characteristics

Kmeň ¹	Pôvod ²	Rezistencia ³	Fermentácia sacharidov ⁴					
			Ara	Fru	Treh	Lak	Manit	Sor
EF 3/5	bachorový obsah jahňa ⁵	Tc ^R	+	+	+	+	+	—
EF 26/42	bachorový obsah teľa ⁶	Tc ^R	+	+	+	+	+	—
EF 24c	bachorový obsah teľa ⁶	Tc ^R	+	+	+	+	+	—
EF 24/132	bachorový obsah teľa ⁶	Tc ^R	+	+	+	+	+	—
EF 61/232	bachorový obsah teľa ⁶	Tc ^R	+	+	+	+	+	—

Tc^R = rezistencia na tetracyklín — resistance to tetracycline

+

— = negatívna fermentácia — negative fermentation

Ara = arabinóza — arabinose

Fru = fruktóza — fructose

Treh = trehalóza — trehalose

Lak = laktóza — lactose

Manit = mannitol — mannitol

Sor = sorbitol — sorbitol

¹strain, ²origin, ³resistance, ⁴fermentation of saccharides, ⁵rumen contents of lamb, ⁶rumen contents of calf

VÝSLEDKY

V tab. II sú uvedené dosiahnuté hodnoty ureázovej aktivity a produkcie kyseliny mliečnej u jednotlivých testovaných kmeňov. Z tabuľky vyplýva, že EF 61/232 a EF 24c sú ureáza negatívne. Najvyššiu ureázovú aktivitu mal kmeň EF 26/42 ($19,9 \pm 0,945$ nkat. ml⁻¹. h⁻¹). Kmeň EF 3/5 a EF 24/132 mali slabú ureázovú aktivitu ($2,3 \pm 0,386$ a $1,2 \pm 0,207$ nkat. ml⁻¹). Priemerná hodnota ureázovej aktivity u sledovaných kmeňov bola $16,5 \pm 0,953$ nkat. ml⁻¹.

Hodnoty kyseliny mliečnej sa pohybovali v rozpätí od $1,087 \pm 0,134$ až $1,787 \pm 0,213$ mmol. l⁻¹, pričom najvyššiu produkciu dosahoval kmeň EF 61/232 ($1,787 \pm 0,213$ mmol. l⁻¹). Priemerná dosiahnutá hodnota u testovaných kmeňov bola $1,405 \pm 0,146$ mmol. l⁻¹.

Po kultivácii v EB došlo ku strate ureázovej aktivity u všetkých kmeňov už v 1. pasáži (tab. III), zatiaľ čo eliminačný efekt SDS a AO sa prejavil od prvej po ôsmu pasáž. Ku eliminácii produkcie kyseliny mliečnej dochádzalo u sledovaných kmeňov *E. faecium* v rozsahu od prvej po ôsmu pasáž v prítomnosti všetkých troch eliminačných látok. Všeobecne mal najväčší eliminačný účinok EB, potom SDS a najnižší účinok bol zaznamenaný po kultivácii kmeňov v AO.

II. Produkcia kyseliny mliečnej a ureázová aktivita u bachorových kmeňov *E. faecium* — Lactic acid production and urease activity in rumen strains of *E. faecium*

Kmeň ¹	Ureázová aktivita ² [nkat . ml ⁻¹]	Kyselina mliečna ³ [mmol . l ⁻¹]
EF 3/5	2,3 ± 0,386	1,175 ± 0,174
EF 26/42	19,9 ± 0,945	1,362 ± 0,417
EF 24c	—	1,087 ± 0,134
EF 24/132	1,2 ± 0,207	1,614 ± 0,925
EF 61/232	—	1,787 ± 0,213
Priemerná hodnota ⁴ ± SEM	16,5 ± 0,953	1,405 ± 0,146

¹strain, ²urease activity, ³lactic acid, ⁴average value

III. Eliminácia ureázovej aktivity a produkcie kyseliny mliečnej u bachorových kmeňov *E. faecium* po kultivácii v SDS, EB a AO — Elimination of urease activity and lactic acid production in rumen strains of *E. faecium* after cultivation in SDS, EB and AO

Eliminácia ¹								
ureázová aktivita ² [nkat . ml ⁻¹]					kyselina mliečna ³ [mmol . l ⁻¹]			
Kmeň ⁴	pôvodná hodnota ⁵	EB	SDS	AO	pôvodná hodnota ⁵	EB	SDS	AO
EF 3/5	2,3 ± 0,386	0,05	0,08	0,08	1,175 ± 0,174	0,31	0,21	0,001
EF 26/42	19,9 ± 0,945	0,02	0,02	0,05	1,362 ± 0,417	0,41	0,28	0,61
EF 24c	—	—	—	—	1,087 ± 0,134	0,21	0,28	0,21
EF 24/132	1,2 ± 0,207	0,08	0,07	0,05	1,614 ± 0,925	0,31	0,26	0,12
EF 61/232	—	—	—	—	1,787 ± 0,203	0,28	0,57	0,12

¹elimination, ²urease activity, ³lactic acid, ⁴strain, ⁵original value

DISKUSIA

Dosiahnuté hodnoty ureázovej aktivity poukazujú na variabilnú schopnosť kmeňov *E. faecium* hydrolyzovať močovinu, avšak jednoznačne potvrdzujú, že druh *E. faecium* sa na tejto hydrolýze podieľa v značnej miere. Podobné výsledky uvádza Koniarová (1989) u anaerobnej bachorovej baktérie *Propionibacterium acnes* s priemernou hodnotou ureázovej aktivity $3,42 \pm 0,97$ nkat . ml⁻¹ . h⁻¹, pričom najvyššia nameraná hodnota u tejto baktérie bola 7,91 nkat . ml⁻¹ . h⁻¹.

Koniarová (1989) taktiež uvádza silnú schopnosť hydrolýzy močoviny u bachorového anaeróba *Selenomonas ruminantium* (26,11 nkat . ml⁻¹ . h⁻¹), avšak uvádza i pomerne veľký rozptyl v dosahovanej ureázovej aktivite u selenomonád v dôsledku toho, že najnižšia hodnota prezentovaná autorkou bola 0,63 nkat . ml⁻¹ . h⁻¹. Ureolytické schopnosti *E. faecium* ako aj uvedených anaeróbov sú v súlade s ich prítomnosťou v bachore mláďat prežúvavcov v období mliečnej výživy (*S. ruminantium* — 10^5 . ml⁻¹ bachorového obsahu, *P. acnes* — 10^4 až 10^7 . cm⁻² bacho-

rovej steny — Koniarová, 1989) a už spomínané počty *E. faecium*. Zároveň sú i v súvislosti s ich ďalšou vlastnosťou, ktorou je ich schopnosť adherovať na epitel bachorovej steny, ktorá je silným zdrojom ureázy. Kmeň *E. faecium* M-74, ktorý je súčasťou probiotického preparátu Mikrosil (ZD Hustopeče) mal hodnotu produkcie kyseliny mliečnej $1,3 \pm 0,928$. V ďalšom preparáte Mikrobion obsiahnutý kmeň *E. faecium* mal produkciu kyseliny mliečnej $1,1 \pm 0,785$. Produkčný kmeň *Streptococcus bovis* AO 24/85 dosiahol hodnotu $1,19 \pm 0,843$. Teda výsledky nami testovaných kmeňov sú porovnateľné s dosiahnutými hodnotami produkcie kyseliny mliečnej u iných kmeňov enterokokov a *S. bovis*, ktoré patria medzi D streptokoky.

Eliminácia ureázovej aktivity poukazuje v súvislosti s plazmidom rezistencie na tetracyklin u bachorových kmeňov *E. faecium* (Lauková, 1988) na možnosť existencie plazmidového determinanta ureázovej aktivity. Plazmid o veľkosti 13,17 Kb regulujúci produkciu kyseliny mliečnej u *Lactobacillus helveticus* subsp. *jogurti* (Smiley a Fryder, 1978) zas poukazuje na reálnu možnosť plazmidovej determinácie produkcie kyseliny mliečnej aj u bachorových kmeňov *E. faecium*. Sledovanie genetickej stability mikroorganizmov je teda jedným z predpokladov úspešného výberu produkčných kmeňov pre ich použitie v biotechnologickej praxi. Geneticky stabilné vlastnosti testovaných kmeňov by sa nemali strácať ani po mnohonásobnom kultivačnom pasážovaní v plazmid eliminačných látkach. Táto požiadavka je zakotvená aj v práci autorov Kmeť a i. (1985), na základe ktorej bol vyselektovaný produkčný kmeň *S. bovis* AO 24/85 a tento je súčasťou mikrobiálneho preparátu Amylastim.

Jonecová (1988) pri sledovaní genetickej stability alfa-amylázovej aktivity zistila, že u ňou testovaných bachorových kmeňov *S. bovis* nebola spojená strata aktivity so stratou plazmidu. Pre dôkaz použila alfa-amyláza pozitívne a alfa-amyláza negatívne kmene a agarózová elektroforéza potvrdila u týchto kmeňov rovnaké plazmatické spektrá. Pri overovaní genetickej stability alfa-amylázovej aktivity u laktobacilov zistili Javorský a i. (1987) a Kmeť a i. (1989) poznatok, ktorým je skutočnosť, že alfa-amylázová aktivita u sledovaných laktobacilov kotransferovala s plazmidmi rezistencie do recipientneho kmeňa *Lactobacillus lactis* RN₁ vo frekvencii 10^{-7} — 10^{-5} a agarózová elektroforéza potvrdila prítomnosť plazmidov o veľkosti 1,9—9,12 Kb. Takže genetická stabilita v tomto prípade alfa-amylázovej aktivity po charakterizácii plazmidov a ich následnej izolácii poskytuje do budúcnosti možnosti zvyšovania alfa-amylázovej ako aj ďalších enzýmových aktivít, resp. metabolických vlastností podobným spôsobom, a to metódami génových manipulácií. Z dosiahnutých výsledkov testovania genetickej stability metabolických vlastností kmeňov *E. faecium* je možné usudzovať na väčšiu stabilitu produkcie kyseliny mliečnej, pretože ku jej eliminácii dochádzalo častejšie v neskorších pasážach, zatiaľ čo ureázová aktivita bola eliminovaná u väčšiny testovaných kmeňov už v prvej pasáži, pričom však dôležitú úlohu zohralo aj použité eliminačné médium.

Literatúra

COOK, A. R.: The elimination of urease activity in *Streptococcus faecium* as evidence for plasmid-coded urease. J. gen Microbiol., 92, 1976, s. 49—58.

- JAVORSKÝ, P. — KMEŤ, V.: Izolácia plazmidovej DNA z bachorových kmeňov *Lactobacillus plantarum*. In: Zbor. Ref. Fyziologické a genetické vlastnosti bachorovej mikroflóry. Košice, 1986, s. 94–97.
- JAVORSKÝ, P. — KMEŤ, V. — NEMCOVÁ, R. — LENÁRT, J.: Conjugative plasmids in rumen lactobacilli. Veter. Med. (Praha) 32, 1987, s. 28.
- JONECOVÁ, Z.: Amylolytické a pektinolytické baktérie a ich význam pre stimuláciu bachorovej mikroflóry. [Kandidátska dizertácia] Košice 1988. — Vysoká škola veterinárna.
- KMEŤ, V. — BOĎA, K. — JAVORSKÝ, P. — GIBALOVÁ, R.: Dynamics of enzymatic activity development in the adherent rumen microflora. Arch. anim. Nutr. (Berlin), 36, 1986a, s. 621–628.
- KMEŤ, V. — BOĎA, K. — JAVORSKÝ, P. — NEMCOVÁ, R.: The enzymatic activity of rumen microflora in calves. J. anim. Physiol. anim. Nutr., 56, 1986b, s. 73–77.
- KMEŤ, V. — JAVORSKÝ, P. — NEMCOVÁ, R. — KOPEČNÝ, J. — BOĎA, K.: Conjugative alpha amylase activity in rumen Lactobacilli. Zbl. Mikrobiol., 134, 1989, s. 53–57.
- KMEŤ, V. — JONECOVÁ, Z. — LAUKOVÁ, A. — GIBALOVÁ, R.: Spôsob výberu adherentných bachorových mikroorganizmov pre prípravu kolonizačných preparátov. PV/871-85, AO 248 207.
- KONIAROVÁ, I.: Vlastnosti bachorových kmeňov *Selenomonas ruminantium* a *Propionibacterium acnes*. [Kandidátska dizertácia.] Košice, 1989. — Ústav experimentálnej veterinárnej medicíny.
- LAUKOVÁ, A.: Enzymová aktivita adherentných baktérií a ovplyvňovanie bachorovej mikroflóry u teliat a jahniat. [Kandidátska dizertácia.] Košice 1988. — Ústav experimentálnej veterinárnej medicíny.
- LENÁRT, J. — KMEŤ, V.: Využitie mikrotestov v identifikácii bachorových mikroorganizmov. In: Zbor. Ref. Fyziologické a genetické vlastnosti bachorovej mikroflóry. Košice, 1986, s. 45–59.
- MOBLEY, H. L. T. — HAUSINGER, R. P.: Microbial ureases: Significance, regulation and molecular characterization. Microbiol. Rev., 3, 1989, s. 85–108.
- NEMCOVÁ, R.: Bachorové laktobacily a ich význam pre prax. [Kandidátska dizertácia.] Košice 1989. — Vysoká škola veterinárna.
- PRYCE, J. D.: Analyst, 1969, s. 94–1151.
- SMILEY, M. B. — FRYDER, V.: Plasmids, lactic acid production and N-Acetyl-D-glucosamine fermentation in *Lactobacillus helveticus* subsp. *jogurti*. Appl. Environ. Microbiol., 35, 1978, s. 777–781.

Došlo dňa 18. 6. 1990

LAUKOVÁ, A. — KUNCOVÁ, M. [Institute of Animal Physiology, Slovak Academy of Sciences, Košice]: Lactic acid production and urease activity of rumen strains of *Enterococcus faecium* and their genetic stability. Veter. Med. (Praha), 36, 1991 (6): 335–340.

Lactic acid production, urease activity and genetic stability were investigated in five selected rumen strains of *Enterococcus faecium*. The average value of urease activity in the tested strains was 16.5 ± 0.953 nkat per ml, two strains were urease-negative. The values of *E. faecium* strains produced lactic acid ranged from 1.087 ± 0.134 to 1.787 ± 0.213 mmol per 1 l. Cultivation of the strains in ethidium bromide (EB) eliminated urease activity of these strains already in the first subculture, but the elimination effects of sodium dodecyl sulphate (SDS) and acridine orange (AO) were manifested later on (1–8 subcultures). Lactic acid production was eliminated in all strains from 1st to 8th subculture after cultivation in SDS, EB and also AO.

Enterococcus faecium; urease activity; lactic acid; genetic stability

Adresa autorov:

MVDr. Andrea Lauková, CSc., Ing. Mária Kuncová, Ústav fyziológie hospodárskych zvierat SAV, Dukelských hrdinov 1/B, 040 01 Košice

OVlivNĚNÍ RETENCE RADIOCESIA U MINIPRASAT

H. Procházka, J. Jandl, J. Novosad, O. Neruda, J. Hejzlar, S. Špelda

PROCHÁZKA, H. — JANDL, J. — NOVOSAD, J. — NERUDA, O. — HEJZLAR, J. — ŠPELDA, S. (Výzkumný ústav veterinárního lékařství, Brno; Vojenská lékařská akademie, Hradec Králové): *Ovlivnění retence radiocesie u miniprasat*. Veter. Med. (Praha), 36, 1991 (6): 341—348.

Bylo zjištěno, že podání námi připravené aktivní látky (dále AL) ve formě kompozitního sorbentu na bázi směsi hexakynoželeznatanu železnato-železnatého navázaného na perlovou celulózu má průkazný efekt na urychlení exkrece radiocesie jak výrazným snížením primární resorpce (asi 11krát při současném podání AL a radiocesie), tak ovlivněním enterálního cyklu (3,5krát vyšší vylučování Cs-137 při denním podávání AL). Kompozitní sorbent — AL — snižuje 30 až 40krát rovnovážnou koncentraci radiocesie v masě při dlouhodobém podávání současně s kontaminovaným krmivem, což má v době mimořádné radiační situace velký praktický význam. Nebylo prokázáno ovlivnění retence Cs-137 při podávání 1 mg neaktivního Cs na 1 kg hmotnosti zvířete.

miniprasata; eliminace radiocesie; hexakynoželeznatan železnato-železnatý; perlová celulóza

Ferrokyanidy železa byly již pro ovlivnění retence radionuklidů zkoušeny (Nielsen aj., 1988), avšak z dostupné literatury není známo použití dvojmocné soli vázané na vhodném nosiči, který zvyšuje její účinnost vhodnou distribucí v trávenině a usnadňuje manipulaci při aplikaci účinné látky. Lze proto použít kompozitní sorbent považovat za odlišnou látku od dosud zkoumaných chemikálií. AL byla připravena na základě výsledků výzkumu kompozitních sorbentů (Procházka, aj., 1979).

Cesium přijaté perorálně v rozpustné formě se vstřebává prakticky úplně a v organismu má celotělovou distribuci. Vzhledem k malé pevnosti vazby Cs^+ dochází k relativně rychlému transportu (výměně) cesia difúzí a prostřednictvím oběhu tělesných tekutin. Cesium je vylučováno z organismu močí a stolicí. Množství stolicí vyloučeného cesia je podstatně menší než množství endogenně vyloučeného cesia do GIT slinami a trávicími šťávami, neboť převážná část endogenně vyloučeného cesia je zpětně resorbována (enterální cyklus).

Zvýšený příjem stabilního cesia může urychlit jeho exkreci za předpokladu jisté homeostatické regulace, kdy živý organismus reaguje na zvýšený příjem cesia jako nelineární systém: sníží se resorbovaný podíl a zvýší se rychlostní konstanty vylučování.

Kompozitní sorbent na bázi hexakynoželeznatanu Fe^{2+} a Fe^{3+} se z GIT nevstřebává, nýbrž selektivně váže cesium iontovou výměnou.

Perorální podání AL zabraňuje resorpci cesia z GIT a navázané cesium pak odchází spolu s AL z organismu stolicí. Dojde-li v žaludku nebo ve střevě ke kontaktu AL s dosud nevstřebaným cesiem, je ovlivněna také primární resorpce cesia. Podání AL a cesia (radiocesia) musí v tom případě dostatečně časově koincidovat. Pokud je AL podávána po ukončení primární resorpce radiocesia, je snižována pouze resorpce endogenně vylučovaného radiocesia přerušením enterálního cyklu.

Stabilní cesium bylo vybráno pro ověření hypotézy, že i malé dávky (50 mg) zvyšují hladinu Cs v krvi po dobu až dvou měsíců a adhezí na červené krvinky mohou saturováním vhodných sorpčních míst zamezit vazbě s Cs-137, které by tím mělo být rychleji vylučováno (Braverman, aj., 1988).

MATERIÁL A METODY

Experimenty byly uskutečněny postupně na třech pěticih bílých miniprasat.

V prvním experimentu byla testována účinnost chloridu cesného. Radionuklid Cs-137 (5 nebo 15 ml vodného roztoku) i chlorid cesný (1 ml roztoku CsCl o koncentraci 1 mg Cs. ml⁻¹ na 1 kg hmotnosti zvířete) byly aplikovány sondou do žaludku zvířete.

Celotělová retence byla měřena 0., 2., 5., 9. a 15. den po podání radiocesia.

Prase č. 286 (hmotnost 22 kg, aplikovaná aktivita 76,8 kBq) — kontrola: bez aplikace CsCl.

Prase č. 284 a 287 (hmotnost 22 kg a 21 kg; aplikovaná aktivita po 76,8 kBq) — jednorázové podání Cs-137 a 1 mg Cs na 1 kg hmotnosti.

Prase č. 282 a 296 (hmotnost 15 kg a 17 kg) — 0., 2. a 5. den bylo vždy aplikováno 25,6 kBq Cs-137 a 1 mg Cs na 1 kg hmotnosti.

Ve druhém experimentu byla ověřována účinnost aktivní látky — kompozitního sorbentu. Jednalo se o suspenzi perlové celulózy aktivované ferrokyanidy železa. Denně bylo podáváno 50 ml suspenze AL, což obsahovalo přibližně 1 g směsi ferrokyanidu železnatého a železitého. Suspenze byla vždy zamíchána do denní krmné dávky. Prasata byla krmena jednou denně. Radiocesium Cs-137 (38 kBq) bylo aplikováno sondou do žaludku před podáním krmné dávky.

Celotělová retence byla měřena 0., 4., 11. a 16. den po jednorázovém podání radiocesia.

Prase č. 317 (hmotnost 7,5 kg) — kontrola: bez AL.

Prase č. 302 a 313 (hmotnost 13,5 kg a 11 kg) — AL podána jeden den před aplikací Cs-137 a dále 0., 1., 2., 3. a 4. den.

Prase č. 315 a 320 (hmotnost 9 kg a 7,5 kg) — AL byla podávána od 0. do 16. dne.

Ve třetím experimentu byla opět zjišťována účinnost AL (50 ml suspenze v potravě). Radionuklid Cs-137 však byl též přidán do krmení jako AL těsně před podáním krmiva zvířatům. Po jedné hodině byly zbytky krmení odebrány a bylo provedeno celotělové měření.

Celotělová retence byla měřena 0., 2., 5. a 13. den.

Prase č. 324 (hmotnost 15,5 kg, aplikovaná aktivita 56 kBq) — kontrola: bez AL.

Prase č. 301 a 327 (hmotnost 12 kg a 11 kg, aplikovaná aktivita po 170 kBq) — jednorázové podání AL v 0. den.

Prase č. 300 a 321 (hmotnost 13 kg a 14 kg, aplikovaná aktivita po 225 kBq) — stálé podávání AL od 0. do 13. dne.

Měření inkorporované aktivity bylo prováděno na celotělovém počítači typu „shadow shield; scanning“ se čtyřmi detektory, se scintilačními krystaly NaI(Tl) velikosti 100×120 mm. Krystaly jsou umístěny v oloveném stínění vytvářejícím „tunel“, kterým projíždí měřený objekt okolo detektoru.

Celotělový počítač umožňuje měřit relativně nízké aktivity v organismu s dobrou geometrickou reprodukovatelností, tzn. s relativně dobrou invariancí celkové účinnosti měření vůči změnám distribuce radionuklidů v organismu a vůči neúplné reprodukovatelnosti polohy organismu v průběhu projíždění.

Celková účinnost měření aktivity Cs-137 v praseti činí průměrně 2000 impulsů za 400 s (doba přejetí miniprasete okolo detektorů) na 1 kBq Cs-137. Pozadí má hodnotu 60 000 impulsů za 400 s. Aktivity aplikovaného Cs-137 byly voleny tak, aby s uvážením

očekávané účinnosti látek a trvání pokusu měly výsledky přijatelnou statistickou chybu (relativní směrodatná odchylka menší než 2 %) při celkové době měření 800 s (dvě měření po 400 s).

Prasata byla měřena přibližně jednu hodinu po aplikaci Cs-137 a dále v různých časech t (dny) po aplikaci. Procenta celotělové retence $R(t)$ byla vypočtena podle vztahu:

$$R(t) = \frac{I(t)}{I(0)} \cdot \frac{S(0)}{S(t)} \cdot 100 [\%]$$

kde: $I(0)$ je četnost impulsů v 1 hodině po aplikaci Cs-137,

$I(t)$ je četnost impulsů po t dnech a

$S(0)$, $S(t)$ jsou četnosti impulsů standardního vzorku.

Před měřením byla prasata imobilizována intramuskulární injekcí směsi Seduxenu ($1 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$) a Droperidolu ($0,4 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$).

Výchozí surovinu pro přípravu aktivní látky tvoří perlová celulóza o zrnitosti 100 až $150 \mu\text{m}$. Po promytí $0,1 \text{ M}$ roztokem HCl a dále destilovanou vodou až do neutrální reakce se k nabobtnalé celulóze v H-cyklu přidá 1000 ml $0,2 \text{ M}$ roztoku FeSO_4 . Po jedné hodině míchání byl přebytečný roztok odfiltrován a celulóza byla přelita 1000 ml $0,1 \text{ M}$ roztoku $\text{K}_4[\text{Fe}(\text{CN})_6]$. Po promíchání se nadbytečná sraženina odstraní promytím destilovanou vodou.

VÝSLEDKY A DISKUSE

V tab. I jsou uvedeny výsledky celotělových retencí po podání stabilního cesia. Je zřejmé, že toto malé množství stabilního cesia vůbec neurychlilo eliminaci Cs-137. Můžeme proto přiřadit prasata č. 284 a 287 ke kontrolní skupině a vypočítat (s použitím exponenciální interpolace) střední hodnoty retenční křivky k 0., 2., 5., 9. a 15. dni (tab. II) a obdržíme retenční křivku kontrol, která je uvedena na obrázcích. Tuto křivku lze aproximovat vztahy:

$$R(t) = 92 \exp \left(-\frac{0,693}{24} t \right) + 8 \exp \left(-\frac{0,693}{2,5} t \right) \quad (1)$$

$$= 92 \exp (-0,029 t) + 8 \exp (-0,28 t) \quad (2)$$

přičemž od 5. dne lze druhý člen zanedbat.

V tab. I. jsou rovněž hodnoty retence po $3 \times$ opakovaném podání Cs-137 a $1 \text{ mg Cs} \cdot \text{kg}^{-1}$. Opakované podávání radionuklidu komplikuje interpretaci, avšak z hodnoty mezi 5. a 15. dnem vyplývá, že podaná dávka stabilního cesia neovlivnila retenci Cs-137.

Na obr. 1 jsou uvedeny retenční křivky prasat, kterým byla podávána AL od $-1.$ do $+4.$ dne. Je patrný výrazný efekt podání AL na zvýšení exkrece cesia v průběhu prvních pěti dnů.

Průkazný efekt má též podávání AL v intervalu 0. až 16. dne (obr. 2). Střední hodnoty z bodů obou křivek lze vyjádřit vztahy:

$$R(t) = 75 \exp \left(-\frac{0,693}{7,0} t \right) + 25 \exp \left(-\frac{0,693}{1,5} t \right) \quad (3)$$

$$= 75 \exp (-0,099 t) + 25 \exp (-0,46 t) \quad (4)$$

I. Hodnoty celotělových retencí v procentech po jednorázovém podání 1 mg stabilního Cs na 1 kg hmotnosti zvířete a po třikrát opakované aplikaci stabilního Cs i radiocesia (č. 282, 286) — The values of body retentions in percent after single administration of 1 mg stable Cs per 1 kg liveweight of the animal and after three times repeated administration of stable Cs and radiocesium (nos. 282, 296)

Prase ¹	Cesium [mg . kg ⁻¹]	Dny po podání radiocesia ²				
		0	2	5	9	15
286	kontrola ³	100	95	80	75	63
284	1	100	94	86	81	69
287	1	100	93	80	72	64
282	3	36	69	100	92	74
296	3	31	67	100	92	81

¹pig, ²days after radiocesium administration, ³control

II. Hodnoty celotělových retencí kontrolních zvířat — The values of body retentions of control pigs

	Dny po podání radiocesia ¹				
	0	2	5	9	15
Střední hodnoty ²	100	90,8	73,8	70,0	59,0
s _x	0	4,6	5,1	8,9	8,9
s _{x̄}	0	2,1	2,3	4,0	4,0

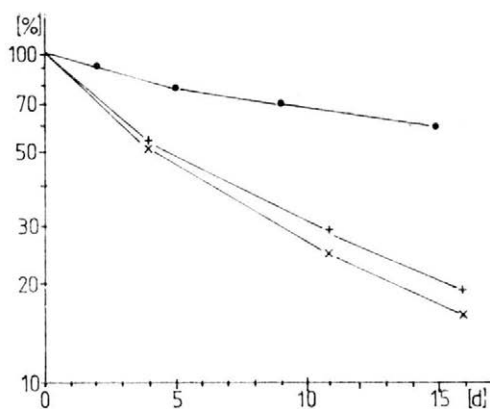
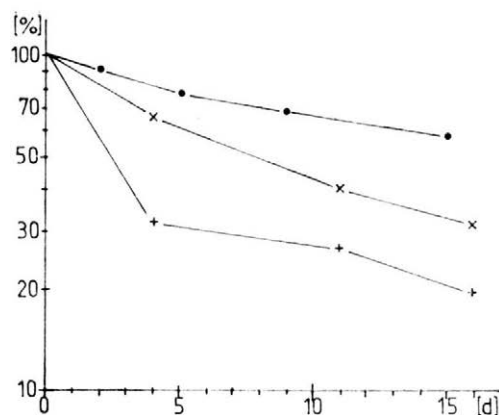
¹days after radiocesium administration, ²mean values

Z poměru rychlostních konstant nebo poločasů (např. 24:7 z rovnic /1/ a /3/) prvního členu, platného pro období po 5. dnu vyplývá, že celková exkrece u prasat, kterým byla podávána AL je 3,4× větší než v kontrolní skupině, tzn. přerušení enterálního cyklu urychluje exkreci 3,4×. Konkrétní hodnoty celotělových retencí jsou v tab. III.

Výsledky obou pokusů z druhého experimentu nesvědčí o výrazném zásahu AL do primární resorpční fáze. Radionuklid Cs-137 aplikovaný na lačno se zřejmě do svého vstřebání neměl možnost setkat s AL. AL přijatá s potravou v předchozím dni (obr. 1) se již nalézala v tlustém střevu a AL v potravě ze dne aplikace Cs-137 pozřelo prase přibližně za 2—3 hodiny po Cs-137, kdy již prakticky primární resorpce Cs-137 byla ukončena. Pouze strmý počáteční pokles retenční křivky u prasete č. 313 (obr. 1) lze vysvětlovat ovlivněním resorpce.

Značné ovlivnění primární resorpce však vyplývá z třetího experimentu (obr. 3 a 4). Současné podání Cs-137 a AL v krmivu významně zvyšuje exkreci Cs-137 (tab. IV). Způsob podání ovšem umožnil, aby do určité míry došlo ke kontaktu AL a Cs-137 již před požitím krmiva. Prasata však sežrala většinu krmiva do 10 minut po přidání roztoku Cs-137 do krmiva s AL, takže podíl přímé vazby Cs-137 na AL odhadujeme maximálně na 10 %.

Je zajímavé, že ještě mezi druhým a pátým dnem jsou křivky strmé, tzn., že ve druhém dnu (po 40 hodinách) ještě nebyla vyloučena AL s Cs-137 navázaným před jeho primární resorpcí, ačkoliv pro prasata se



1. Retenční křivky Cs-137 po podání aktivní látky [AL] nesmíchané s krmivem od 1. dne před jednorázovou aplikací Cs-137 do 4 dnů po aplikaci Cs-137 — Cs-137 retention curves after administration of active substance [AL] not mixed with feed from day 1 before Cs-137 single administration to day 4 after Cs-137 administration

● kontrola (platí pro obr. 1—4) — control (applies to Figs. 1—4)

+ prase č. 313, hmotnost 13,5 kg — pig no. 313, weight 13.5 kg

× prase č. 302, hmotnost 11,0 kg — pig no. 302, weight 11.0 kg

2. Retenční křivky Cs-137 po podávání aktivní látky [AL] nesmíchané s krmivem od $t = 0$ (zároveň s aplikací Cs-137) do 16. dne po aplikaci — Cs-137 retention curves after administration of active substance [AL] not mixed with feed from $t = 0$ [simultaneously with Cs-137 administration] to day 16 after administration

+ prase č. 315, hmotnost 9,0 kg — pig no. 315, weight 9.0 kg

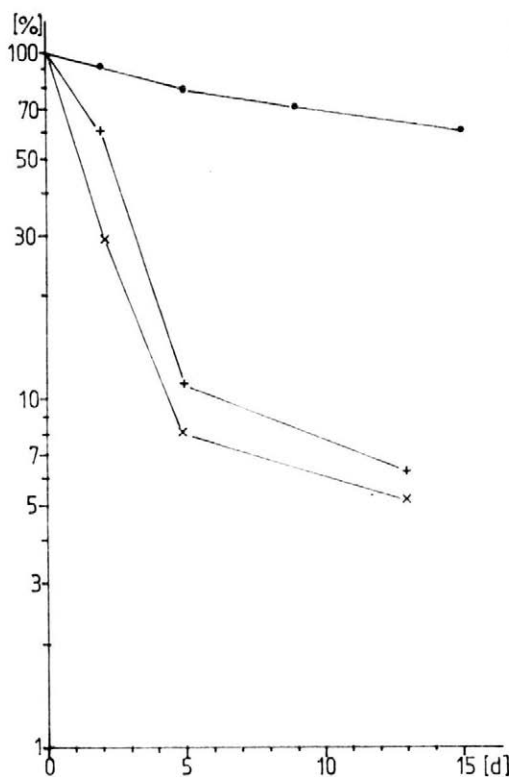
× prase č. 320, hmotnost 7,5 kg — pig no. 320, weight 7.5 kg

III. Hodnoty celotělových retencí v procentech po podávání aktivní látky [AL] nesmíchané s krmivem v období 1. den před aplikací radiocesia do 4 dnů po aplikaci (č. 313, 302) a v období 0. až 16. den po aplikaci radiocesia (č. 315, 320) — The values of body retentions in percent after administration of an active substance [AL] not mixed with feed in the period of day 1 before radiocesium administration to day 4 after administration (nos. 313, 302) and in the period of days 0 to 16 after radiocesium administration (nos. 315, 320)

Prase ¹		Dny po podání radiocesia ²			
		0	4	11	16
317	kontrola ³	100	75	54	48
313	AL od —1. do 4. dne ⁴	100	34	27	20
302	AL od —1. do 4. dne ⁴	100	66	41	32
315	AL stále ⁵	100	54	29	19
320	AL stále ⁵	100	52	25	16

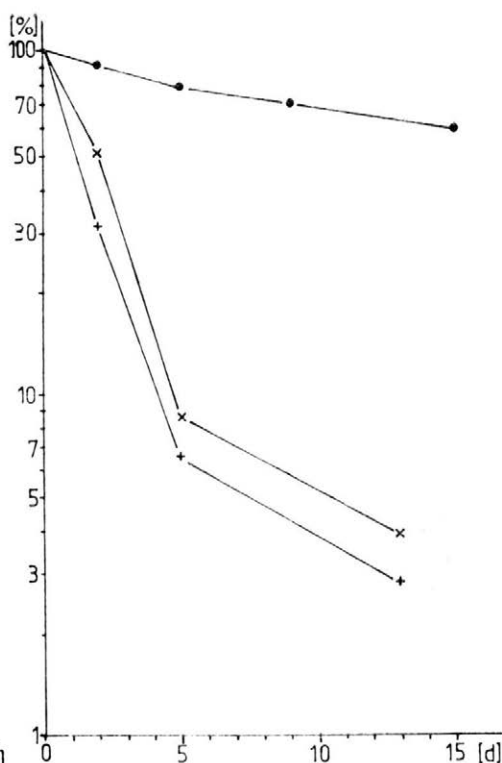
For 1—3 see Tab. I; ⁴AL from day 1 to day 4, ⁵AL continuous administration

obecně uvádí celková doba pasáže kratší než 48 hodin a u prasat nebyla pozorována obstipace. Tato skutečnost však potvrzuje naše dřívější ex-



3. Retenční křivky Cs-137 po současné jednorázové aplikaci Cs-137 spolu s aktivní látkou ve směsi s krmivem. AL podána 0. den — Cs-137 retention curves after joint single administration of Cs-137 and active substance in mixture with feed. AL administered on day 0

+ prase č. 301, hmotnost 12,0 kg — pig no. 301, weight 12.0 kg
 × prase č. 327, hmotnost 11,0 kg — pig no. 327, weight 11.0 kg



4. Retenční křivky Cs-137 po současné jednorázové aplikaci Cs-137 spolu s aktivní látkou [AL] ve směsi s krmivem. AL dále podávána s krmivem do 13. dne po aplikaci Cs-137 — Cs-137 retention curves after joint single administration of Cs-137 and active substance [AL] in mixture with feed. AL was then administered with feed until day 13 after Cs-137 administration

+ prase č. 300, hmotnost 13 kg — pig. no. 300, weight 13 kg
 × prase č. 321, hmotnost 14 kg — pig no. 321, weight 14 kg

perimentální poznatky a je v dobré korelaci se zjištěným zkrácením prvního biologického poločasu po vysazení kontaminované potravy (Procházka, 1988). Mezi 5. a 13. dnem již pokles na obr. 3 odpovídá kontrolám a na obr. 4 stavu, kdy je podáváním AL přerušen enterální cyklus.

Účinnost jednorázového podání AL s Cs-137 v potravě lze charakterizovat poměrem retence ke 13. dni u kontrol a prasat s tímto ovlivňujícím zásahem (obr. 3). Poměr má hodnotu 11,1 a představuje zvýšení exkrece především snížením primární resorpce. U prasat, kterým byla podávána AL až do 13. dne, se hodnota tohoto poměru zvyšuje až na 18,8 spolupůsobením obou faktorů, tj. snížením primární retence i ovlivněním enterálního cyklu Cs-137.

IV. Hodnoty celotělových retencí v procentech po aplikaci radiocesia spolu s aktivní látkou (AL) ve směsi s krmivem jednorázově v $t = 0$ (č. 327, 301) a při podávání AL od 0. do 13. dne (č. 300, 321) — The values of body retentions in percent after single administration of radiocesium and active substance (AL) in mixture with feed at $t = 0$ (nos. 327, 301) and at AL administration from day 0 to 13 (nos. 300, 321)

Prase ¹		Dny po podání radiocesia ²			
		0	2	5	13
324	kontrola ³	100	84	75,0	54,0
327	AL jednorázově ⁴	100	60	10,4	6,2
301	AL jednorázově ⁴	100	29	8,1	5,1
300	AL stále ⁵	100	33	6,6	2,8
321	AL stále ⁵	100	51	8,5	3,9

For 1—3 see Tab. I; ⁴AL single administration, ⁵AL continuous administration

Znalost snížení primární resorpce současným příjmem AL a Cs-137 a znalost efektu podávání AL na retenci dřívějšího příjmu Cs-137 přerušáním enterálního cyklu umožňují vypočítat účinnost dlouhodobého podávání AL s kontaminovaným krmivem. Použijeme-li parametry retenční křivky u kontrol, pak rovnovážná retence, např. při příjmu 100 Bq za den má hodnotu 3200 Bq ($= 8/0,28 + 92/0,029$ — rovnice /2/). Z retenční křivky prasat č. 315 a 320 (obr. 2, rovnice /4/) vyplývá rovnovážná retence 810 Bq, tzn. $4 \times$ nižší. Za předpokladu, že u těchto prasat nebyla ovlivněna primární resorpce Cs-137, ale byl pouze přerušen enterální cyklus, potom výsledný efekt dlouhodobého podávání AL v kontaminované potravě, kdy kladně přispívá i ke snížení primární resorpce, znamená 44násobnou redukci rovnovážné retence ($4 \times 11,1$).

Jelikož za členem 25 exp ($-0,46 t$) v rovnici /4/, tedy v retenční křivce pro prasata č. 315 a 320, se může skrývat také ovlivnění primární resorpce, pro konzervativnější odhad celkového efektu je vhodné použít pouze exponenciální aproximaci retenčních křivek s poločasem 24 d a 7,0 d. V tom případě rovnovážná retence při příjmu 100 Bq $\cdot d^{-1}$ budou mít hodnoty 3460 Bq (rovnice /2/: $100/0,029$) a 1010 Bq (rovnice /4/: $100/0,099$), tzn., že jejich poměr, představující snížení retence dlouhodobým přerušáním enterálního cyklu, je roven 3,4 a celková účinnost dlouhodobého podávání včetně snížení primární resorpce představuje 37,8násobné snížení ($11,1 \times 3,4$).

ZÁVĚR

V experimentech na bílých miniprasatech byla zjišťována účinnost podávání stabilního cesia (CsCl) a kompozitního sorbentu na bázi ferrokyanidu železnato-železnatého navázaného na perlovou celulózu na urychlení exkrece Cs-137. Byla testována různá schémata dávkování uvedených látek.

Podání 1 mg Cs na 1 kg hmotnosti zvířete nebo 3×1 mg Cs na 1 kg vstřebání a retenci Cs-137 neovlivnilo.

Naopak podáním AL byl sledován průkazný a vysoký efekt na urychlení exkrece radiocesia z organismu jak výrazným snížením jeho primární resorpce ($11,1 \times$ při současném podání Cs-137 a 1 g ferrokyanidu v denní

dávce krmiva), tak přerušením enterálního cyklu ($3,4\times$ vyšší vylučování Cs-137 v organismu retinovaného Cs-137 při denním podávání 1 g AL v krmení).

Z experimentů vyplývá, že při dlouhodobém krmení potravou kontaminovanou Cs-137 by se u prasat, kterým byl denně podáván 1 g ferrokyanidu ve formě AL v krmivu, vytvořila rovnovážná retence 30–40 $\times$ nižší než u kontrolní skupiny prasat. V praxi to znamená, že by bylo možno zkrmovat kontaminované krmivo do úrovně až 40 kBq Cs $\cdot$ kg $^{-1}$ (tj. na dvojnásobek maximálně zjištěné kontaminace krmiva po havárii v Černobylu) při dodržení odvozené intervenční hladiny Cs-137 v mase podle Codex Alimentarius.

Literatura

- BRAVERMAN, E. R. et al.: Cesium chloride: Preventive medicine for radioactive cesium exposure. Med. hypotheses, 26, 1988, s. 93–95.
PROCHÁZKA, H. et al.: Výzkum možností aktivace perlové celulózy [Výzkumná zpráva.] Brno, Výzkumný ústav veterinárního lékařství, 1979, 10 s.
PROCHÁZKA, H. et al.: Vliv radioaktivní kontaminace životního prostředí na zemědělskou produkci. [Výzkumná zpráva.] Brno, Výzkumný ústav veterinárního lékařství, 1988, 44 s.
NIELSEN, P. et al.: Prevention of enteral radiocesium absorption by hexacyanoferrates (II) in piglets. Experientia, 44, 1988, s. 502–504.

Došlo dne 15. 5. 1990

PROCHÁZKA, H. — JANDL, J. — NOVOSAD, J. — NERUDA, O. — HEJZLAR, J. — ŠPELDA, S. (Veterinary Research Institute, Brno; Military Medical School, Hradec Králové): *Affection of radiocesium retention in miniature pigs*. Veter. Med. (Praha), 36, 1991 (6): 341–348.

The efficiency of an active substance (AL) prepared in our laboratory as a composite sorbent on the basis of hexacyanoferrates (II) bound on pearl cellulose, in affecting the radiocesium (Cs-137) retention in white miniature pigs was investigated. The function of the composite sorbent in dependence on the way of administration, i. e. its effect on a decrease of primary resorption and its ability to interrupt the enteral cycle was studied, too. The efficiency of stable cesium administration in the form of CsCl in the same process was also determined. It was proved that AL accelerated significantly the excretion through its effect both on primary resorption causing an approx. 11-fold reduction of resorption when administered simultaneously with radiocesium and on the enteral cycle, causing an approx. 3.5-fold increase of excretion of Cs-137 when administered daily. Thus the composite sorbent (AL) administered at long-term along with contaminated feed reduced the equilibrium concentration of radiocesium in meat 30–40 times. This might be of great importance in the time of nuclear emergencies. On the other hand, administration of non-active Cs at a level up to 1 mg Cs/1 kg of liveweight had no significant effect on Cs-137 elimination.

miniature pigs; radiocesium elimination; hexacyanoferrates (II); pearl cellulose

Adresy autorů:

RNDr. Hubert Procházka, CSc., RNDr. Jaromír Jandl, CSc., RNDr. Josef Novosad, CSc., Výzkumný ústav veterinárního lékařství, Hudcova 70, 621 32 Brno
Ing. Otakar Neruda, CSc., MVDr. Jaromír Hejzlar, MVDr. Stanislav Špelda, Vojenská lékařská akademie JEP, PS 35/R, 502 60 Hradec Králové

POČTY VYBRANÝCH SKUPÍN STRIKTNE A FAKULTATÍVNE ANAERÓBNÝCH MIKROORGANIZMOV HRVOĽA A SLEPÉHO ČREVA KURČIAT A ICH ADHERENČNÉ VLASTNOSTI

I. Koniarová

KONIAROVÁ, I. (Ústav experimentálnej veterinárnej medicíny, Košice): *Počty vybraných skupín striktné a fakultatívne anaeróbných mikroorganizmov hrvoľa a slepého čreva kurčiat a ich adherenčné vlastnosti*. Veter. Med. (Praha), 36, 1991 (6): 349—354.

U kurčiat vo veku od troch do siedmich týždňov sme sledovali počty striktné anaeróbných amylolytických a laktátutilizujúcich baktérií, streptokokov, laktobacilov, *Escherichia coli* a laktózonegatívnych baktérií. Zistovali sme vekovú dynamiku vývoja počtov uvedených skupín. Pozorovaný bol vzrast počtu amylolytických baktérií v obsahu slepého čreva v siedmom týždni ($4,63 \pm 0,322$) a naopak ich pokles na stene slepého čreva v siedmom týždni ($3,30 \pm 0,833$). Klesajúcu tendenciu mali aj počty *E. coli* adherované na stenu slepého čreva. Laktobacily a streptokoky boli stabilnou súčasťou mikroflóry steny hrvoľa na rozdiel od klesajúcich počtov u anaeróbných amylolytických a laktátutilizujúcich baktérií. Priemerný adherenčný index izolátov laktobacilov pri adherencii na epiteliálne bunky steny hrvoľa, resp. slepého čreva sa pohyboval v rozpätí $7,433 \pm 1,521$ až $11,866 \pm 2,661$, resp. $4,366 \pm 1,373$ až $9,70 \pm 0,935$. U druhu *Propionibacterium acnes* sa priemerný adherenčný index pohyboval od $7,766 \pm 0,408$ do $17,40 \pm 4,721$, resp. od $5,10 \pm 0,738$ do $7,60 \pm 1,784$.

kurčiatá; slepé črevo; laktátutilizujúce baktérie; amylolytické baktérie; laktobacily; streptokoky; *Escherichia coli*; laktózonegatívne baktérie; adherenčný index

Doposiaľ publikované práce v oblasti štúdia mikroflóry hydiny boli zamerané na kultiváciu a identifikáciu anaeróbných baktérií ako dominantnej časti mikroflóry čreva a tiež na štúdium adherencie na epiteliálny povrch čreva. Z adherentných baktérií na povrchu hrvoľa boli ako najpočetnejšie zistené laktobacily (Brooker a Fuller, 1975). Ich hlavným produktom je kyselina mliečna, ktorá selektívnym pôsobením pH 4,5 kontroluje zloženie mikroflóry hrvoľa (Fuller, 1977). Roku 1971 popísali Fuller a Turvey komplexnú zmiešanú populáciu mikroorganizmov v slepom čreve kurčiat. Najčastejšie izolovanými striktné anaeróbnymi rodmi sú *Eubacterium*, *Clostridium*, *Gemmiger*, *Fusobacterium*, *Peptostreptococcus* a *Propionibacterium*.

Cieľom našej práce bolo pokúsiť sa zmapovať mikroflóru slepého čreva a hrvoľa za pomoci využitia techník pre stanovenie počtov striktné anaeróbných bachorových mikroorganizmov. Existuje pomerne málo do-

mácich literárnych údajov popisujúcich výskyt a vlastnosti striktně anaeróbných baktérií v tráviacom trakte hydiny. Nové sú aj naše komparatívne štúdie adherencie na epiteliárne bunky hrvoľa a črevnej steny.

MATERIÁL A METÓDY

Kurčatá boli chované v dobrých zoohygienických podmienkach na hlbokú podstielku. Počas sledovaného obdobia boli kŕmené kŕmnom zmesou BR 1 *ad libitum*. V tomto čase im neboli aplikované žiadne antibiotické prípravky.

Výskyt baktérií bol sledovaný u kurčiat vo veku tri až sedem týždňov. Vzorky hrvoľovej steny, obsahu slepého čreva a črevnej steny boli od troch kontrolných a troch pokusných kurčiat odoberané v 3., 5. a 7. týždni veku po usmrtení.

Počty striktně anaeróbných baktérií boli stanovené modifikovanou roll tube metódou (Hungate, 1969) v ochrannej atmosfére CO₂ za použitia selektívnych médií. V prípade laktátutilizujúcich baktérií MLH médium (Mackie a Heath, 1979), u amylolytických baktérií modifikované médium podľa Bryanta a Burkeyho (1953) s 1% obsahom kukuričného škrobu. Laktobacily boli izolované na Rogosa agare (Imuna), streptokoky na Agare pre izoláciu fekálnych streptokokov (Imuna), propionibaktérie na VL agare (Imuna) s 1 % defibrinovanej baranej krvi a *E. coli* na Mao Conkey agare (Imuna). Vzorky boli inkubované pri teplote 38 °C 2–5 dní.

Schopnosť buniek testovaného kmeňa adherovať na stenu epiteliálnych buniek hrvoľa a slepého čreva sme sledovali metódou podľa Kmeta a i. (1984). Vypočítaný adhenčný index udáva priemerný počet bakteriálnych buniek pripadajúcich na jednu dobre definovanú epiteliálnu bunku. Použitých bolo päť kmeňov rodu *Lactobacillus*, pričom kmene č. 1 a č. 2 boli izolované zo slepého čreva kurčiat a kmene č. 3, č. 4 a č. 5 boli izolované z hrvoľa. Kmene *Propionibacterium acnes* č. 2, č. 3, č. 4 a č. 7 sú izoláty zo slepého čreva kurčiat a kmeň č. 1 je izolát z hrvoľa.

Výsledky počtov mikroorganizmov a adhenčný index sú udané ako aritmetický priemer $\pm$ stredná chyba priemeru (SEM).

VÝSLEDKY

Počty sledovaných skupín mikroorganizmov v obsahu slepého čreva sú znázornené v tab. I. V počtoch laktátutilizujúcich mikroorganizmov sme nezaznamenali výrazné rozdiely v počtoch, len v 5. týždni došlo k poklesu na 10⁴ baktérií na 1 ml obsahu z počtov 10⁵ v 3. a 7. týždni. Kvantitatívne vyrovnané boli laktózonegatívne baktérie, *E. coli* a laktobacily. U streptokokov došlo k poklesu v 5. týždni na 5,28 $\pm$ 0,361. K výraznejšiemu zvýšeniu došlo len v prípade striktných amylolytických baktérií v 7. týždni (4,63 $\pm$ 0,322) v porovnaní s 3. týždňom (2,10 $\pm$ 0,122) a 5. týždňom (2,12 $\pm$ 0,074).

Vekovú dynamiku vývoja počtov mikroorganizmov adherovaných na stenu slepého čreva kurčiat ukazuje tab. II. Počty boli vyrovnané len v prípade laktátutilizujúcich a laktózonegatívnych baktérií. Počty amylolytických baktérií v 7. týždni (3,30 $\pm$ 0,83) v porovnaní s 3. týždňom (2,333 $\pm$ 0,177) a 5. týždňom (2,923 $\pm$ 0,093) vzrástli. Časová dynamika počtov s klesajúcou tendenciou bola zaznamenaná u *E. coli*, ktoré boli v 3. týždni 4,68 $\pm$ 0,488, v 5. týždni 4,556 $\pm$ 0,609 a v 7. týždni 2,996 $\pm$ 0,869. Priamo úmerný vzostup počtov so stúpajúcim vekom sme zistili u laktobacilov, keď sa každé dva týždne zvýšili počty o jeden rád. Úroveň počtov streptokokov bola kolísavá s najvyššou hladinou v 3. týždni (7,32 $\pm$ 0,317).

Tab. III znázorňuje vývoj počtov mikroorganizmov na stene hrvoľa kurčiat. Počty laktátutilizujúcich a amylolytických mikroorganizmov mali klesajúcu tendenciu — v priebehu dvoch týždňov približne o jeden rád. U *E. coli* sme zaznamenali pokles až v 7. týždni (2,673 $\pm$ 0,202).

I. Počty mikroorganizmov ($\log 10 \pm \text{SEM}$) v 1 ml obsahu slepého čreva kurčiat — Microorganism counts ($\log 10 \pm \text{SEM}$) in 1 ml of caecum contents in chicks

Skupina baktérií ¹	3. týždeň ⁷	5. týždeň ⁸	7. týždeň ⁹
Laktátutilizujúce ²	5,79 $\pm$ 0,198	4,503 $\pm$ 0,353	5,996 $\pm$ 0,577
Amylolytické ³	2,10 $\pm$ 0,122	2,12 $\pm$ 0,074	4,63 $\pm$ 0,322
Laktózonegatívne ⁴	3,666 $\pm$ 0,408	3,53 $\pm$ 0,397	3,20 $\pm$ 0,308
<i>Escherichia coli</i>	5,866 $\pm$ 0,445	5,126 $\pm$ 0,693	4,53 $\pm$ 0,233
Laktobacily ⁵	6,423 $\pm$ 0,267	6,186 $\pm$ 0,134	6,403 $\pm$ 0,253
Streptokoky ⁶	6,87 $\pm$ 0,441	5,28 $\pm$ 0,361	6,173 $\pm$ 0,179

¹group of bacteria, ²lactate-utilizing, ³amylolytic, ⁴lactoso-negative, ⁵lactobacilli, ⁶streptococci, ⁷3rd week, ⁸5th week, ⁹7th week

II. Počty mikroorganizmov ($\log 10 \pm \text{SEM}$) na 1 cm² steny slepého čreva kurčiat — The counts of microorganisms ($\log 10 \pm \text{SEM}$) per 1 cm² of caecum wall in chicks

Skupina baktérií ¹	3. týždeň ⁷	5. týždeň ⁸	7. týždeň ⁹
Laktátutilizujúce ²	5,14 $\pm$ 0,09	5,33 $\pm$ 0,358	4,643 $\pm$ 0,302
Amylolytické ³	2,333 $\pm$ 0,177	2,923 $\pm$ 0,093	3,30 $\pm$ 0,833
Laktózonegatívne ⁴	3,233 $\pm$ 0,285	2,693 $\pm$ 0,666	3,30 $\pm$ 0,561
<i>Escherichia coli</i>	4,68 $\pm$ 0,488	4,556 $\pm$ 0,609	2,996 $\pm$ 0,869
Laktobacily ⁵	4,953 $\pm$ 0,365	5,26 $\pm$ 0,081	6,60 $\pm$ 0,817
Streptokoky ⁶	7,32 $\pm$ 0,317	4,793 $\pm$ 0,343	5,53 $\pm$ 0,351

For 1—9 see Tab. I

III. Počty mikroorganizmov ($\log 10 \pm \text{SEM}$) na 1 cm² steny hrvoľa kurčiat — The counts of microorganisms ($\log 10 \pm \text{SEM}$) per 1 cm² of craw wall in chicks

Skupina baktérií ¹	3. týždeň ⁷	5. týždeň ⁸	7. týždeň ⁹
Laktátutilizujúce ²	7,393 $\pm$ 0,204	6,713 $\pm$ 0,466	5,383 $\pm$ 0,145
Amylolytické ³	5,083 $\pm$ 0,235	4,326 $\pm$ 0,394	3,646 $\pm$ 0,315
Laktózonegatívne ⁴	4,266 $\pm$ 0,778	2,533 $\pm$ 0,355	3,23 $\pm$ 0,43
<i>Escherichia coli</i>	4,816 $\pm$ 0,521	4,413 $\pm$ 0,759	2,673 $\pm$ 0,202
Laktobacily ⁵	6,60 $\pm$ 0,244	6,833 $\pm$ 0,519	6,503 $\pm$ 0,592
Streptokoky ⁶	6,563 $\pm$ 0,919	6,80 $\pm$ 0,358	5,673 $\pm$ 0,422

For 1—9 see Tab. I

U laktobacilov a streptokokov boli počty počas celého sledovaného obdobia vyrovnané. Počty laktózonegatívnych baktérií mali veľké diferencie bez tendencie stúpať alebo klesať v závislosti na veku kurčiat.

V ďalšej časti práce sme sledovali adnereznné vlastnosti izolátov *Lactobacillus* sp. a druhu *P. acnes* zo steny hrvoľa a slepého čreva (tab. IV). U 5 izolovaných kmeňov laktobacilov sa priemerný adnereznný index pri adnerezncii na epiteliálne bunky steny hrvoľa pohyboval od

IV. Adherencia na epiteliálne bunky hrvoľa a slepého čreva kurčiat — Adherence to the epithelial cells of craw and caecum in chicks

Kmeň číslo ¹	Priemerný adhirenčný index $\pm$ SEM ²	
	<i>Lactobacillus</i> sp.	
	A	B
1	7,666 $\pm$ 1,275	6,766 $\pm$ 2,07
2	7,433 $\pm$ 1,521	9,70 $\pm$ 0,935
3	11,866 $\pm$ 2,661	4,366 $\pm$ 1,373
4	9,233 $\pm$ 1,388	4,666 $\pm$ 1,217
5	9,333 $\pm$ 2,402	6,80 $\pm$ 0,674
<i>Propionibacterium acnes</i>		
1	5,10 $\pm$ 0,738	17,40 $\pm$ 4,721
2	5,666 $\pm$ 1,404	14,666 $\pm$ 1,857
3	7,766 $\pm$ 2,29	7,766 $\pm$ 2,29
4	8,533 $\pm$ 0,895	8,533 $\pm$ 0,895
7	7,766 $\pm$ 0,408	7,766 $\pm$ 0,408

A — adherencia na epiteliálne bunky steny hrvoľa — adherence to the epithelial cells of craw wall

B — adherencia na epiteliálne bunky slepého čreva — adherence to the epithelial cells of caecum

Počet vyšetrení u jedného kmeňa $n = 10$ — Number of examinations in one strain $n = 10$

¹strain no., ²average adherence index $\pm$ SEM

7,433 $\pm$ 1,521 do 11,866 $\pm$ 2,661 a pri adherencii na epiteliálne bunky steny slepého čreva od 4,366 $\pm$ 1,373 do 9,70 $\pm$ 0,935. Výsledky potvrdzujú, že sa jedná o kmene slabo adherentné.

Pri adherencii kmeňov druhu *P. acnes* na epiteliálne bunky hrvoľa boli zistené hodnoty priemerného adhirenčného indexu od 5,10 $\pm$ 0,738 do 7,60 $\pm$ 1,784 a pri adherencii na epiteliálne bunky slepého čreva 7,766 $\pm$ 0,408 až 17,40 $\pm$ 4,721. Svědčí to o slabých až stredných adhirenčných schopnostiach vyšetrovaných kmeňov.

DISKUSIA

Nami získané výsledky pri štúdiu mikroflóry hrvoľa a slepého čreva kurčiat dopĺňajú doteraz získané poznatky predovšetkým v oblasti kvantitatívneho a kvalitatívneho zastúpenia striktných anaeróbov. Použitím metód pre zisťovanie počtov anaeróbných bachorových baktérií sme zistili prítomnosť laktátutilizujúcich baktérií v počtoch od 10^5 do 10^7 a amyolytických od 10^3 do 10^5 zárodkov na 1 ml črevného obsahu alebo 1 cm² steny slepého čreva alebo hrvoľa. Ich počty v obsahu a na stene slepého čreva výrazne kolísali, v hrvoľi bol zaznamenaný ich pokles. V dostupnej literatúre nie sú zmienky o dynamike vývoja počtov týchto anaeróbných skupín.

Tí m m s už roku 1968 popísala, že mikroflóra tráviaceho traktu kurčiat pozostáva z laktobacilov, streptokokov, *E. coli* a striktné anaeróbných *Clostridium welchii* a bakteroidov, ktorých najvyššia koncentrácia je v slepom čreve, kým v kraniálnej a kaudálnej časti tráviaceho traktu

klesá. Fuller a Brooker (1974) zistili, že nekeratinizujúci skvamózny epitel hrvoľa je kolonizovaný predovšetkým laktobacilmi, koliformnými zárodkami a streptokokmi. Naše zistenia o počtoch laktobacilov adherovaných na epiteliálne bunky hrvoľa potvrdili názor Fullera (1973), že asociácia je stabilizovaná čoskoro po vyliahnutí, perzistuje celý život a nemení sa ani vplyvom diéty ani vplyvom odchovu.

Pri sledovaní vekovej dynamiky mikrobiálneho osídlenia tráviaceho traktu kurčiat sme zistili úmerný pokles zárodkov *E. coli* a streptokokov so stúpajúcim vekom. Dosiahnuté výsledky sú v súlade s výsledkami Meada a Adamsa (1975), ktorí zistili, že počty baktérií mliečneho kvasenia u kurčiat sa prvých 14 dní zvyšujú, kým počty koliformných zárodkov a streptokokov klesajú.

Výsledky druhej časti práce ukázali, že izolované kmene rodu *Lactobacillus* a druh *P. acnes* sú slabo adherentné. Sledované kmene však prejavili vyššiu afinitu k epiteliálnym bunkám z regiónu, z ktorého boli izolované, čo svedčí o špecificite ich adherenčných vlastností. Podobné výsledky dosiahol aj Fuller (1973, 1975) pri sledovaní laktobacilovej flóry vo vzťahu k adherencii. Popísal, že adherentné laktobacily adherujúce na epiteliálne bunky hrvoľa boli izolované len z tráviaceho traktu vtákov, ale nie z tráviaceho traktu cicavcov. Autor uvádza, že na adherenciu nemá vplyv vek kurčiat, diéta a adherencia je špecifická.

Prezentovaná práca je naším prvým krokom pri sledovaní kvalitatívneho a kvantitatívneho zloženia striktné a fakultatívne anaeróbnej mikroflóry tráviaceho traktu hydiny. Úspešná bola naša snaha o aplikáciu metód pre počítanie a izoláciu bachorových anaeróbov na spracovanie vzoriek hrvoľa slepého čreva hydiny. Rozšírili sme doteraz známe literárne údaje o vekovú dynamiku laktátutilizujúcich a amylolytických baktérií a adherenčné vlastnosti druhu *P. acnes* izolovaného z hydiny. V budúcnosti sa budeme venovať podrobnejšiemu štúdiu anaeróbných izolátov z hľadiska enzymatických vlastností a prípadnej možnosti ovplyvnenia kvality a kvantity mikroflóry formou probiotík.

Literatúra

- BRYANT, M. P. — BURKEY, L. A.: Numbers and some predominant groups of bacteria in the rumen of cows fed different rations. *J. Dairy Sci.*, 36, 1953, s. 218.
- BROOKER, B. E. — FULLER, R.: Adhesion of lactobacilli to the chicken crop epithelium. *J. Ultrastruct. Res.*, 52, 1975, s. 21—31.
- FULLER, R. — BROOKER, B. E.: Lactobacilli which attach to the crop epithelium of the fowl. *Amer. J. Clin. Nutr.*, 1974, s. 1305—1312.
- FULLER, R. — TURVEY, A.: Bacteria associated with the intestinal wall of the fowl (*Gallus domesticus*). *J. appl. Bact.*, 34, 1971, s. 617—622.
- FULLER, R.: Ecological studies on lactobacillus flora associated with the crop epithelium of the fowl. *J. appl. Bact.*, 36, 1973, s. 131—139.
- FULLER, R.: Nature of determinant responsible for the adhesion of lactobacilli to chicken crop epithelial cells. *J. gen. Microbiol.*, 87, 1975, s. 245—250.
- FULLER, R.: The importance of lactobacilli in maintaining normal microbial balance in crop. *Brit. poul. Sci.*, 18, 1977, s. 85—94.
- HUNGATE, R. E.: A roll tube method for cultivation of strict anaerobes. In: NORCIS, J. R., RIBBOUS, D. W. (eds): *Methods in microbiology*, London, New York, Academic Press 1969.
- KMEŤ, V. — BOĎA, K. — KRAVJANSKÝ, I.: Adherencia baktérií na epiteliálne bunky bachorovej steny. *Veter. Med. (Praha)*, 29, 1984, s. 437—477.
- MACKIE, R. I. — HEATH, S.: Enumeration and isolation of lactate-utilizing bacteria from the rumen of sheep. *Appl. Environ. Microbiol.*, 38, 1979, 416—422.

MEAD, G. C. — ADAMS, B. W.: Some observations on the caecal microflora of the chick during the first two weeks of life. Brit. Poultry Sci., 16, 1975, s. 169—176.

TIMMS, L.: Observations on the bacterial flora of the alimentary tract in three age groups of normal chickens. Brit. veter. J., 124, 1968, s. 470—477.

Došlo dňa 4. 6. 1990

KONIAROVÁ, I. (Institute of Experimental Veterinary Medicine, Košice): *The counts in selected groups of strictly and facultatively anaerobic microorganisms in the craw and caecum of chicks and their adherence characteristics*. Veter. Med. (Praha), 36, 1991 [6]: 349—354.

The counts of strictly anaerobic amylolytic and lactate-utilizing bacteria, streptococci, lactobacilli, *Escherichia coli* and lactose-negative bacteria were followed in chicks at the age of three to seven weeks. Age dependences of the counts in the given groups were investigated. An increase in the counts of amylolytic bacteria was observed in the caecum contents in the seventh week (4.63 ± 0.322), and on the other hand a decrease in their counts in the caecum wall in the seventh week (3.30 ± 0.833). The counts of *E. coli* adherent to the caecum wall also showed a decreasing tendency. Lactobacilli and streptococci were a stable component of the microflora of craw wall, in contrast with the decreasing counts of anaerobic amylolytic and lactate-utilizing bacteria. The average adherence index of lactobacillus isolates for adherence to the epithelial cells of craw or caecum wall ranged from 7.433 ± 1.521 — 11.866 ± 2.661 , and/or 4.366 ± 1.373 — 9.70 ± 0.935 . The average adherence index of the *Propionibacterium acnes* ranged from 7.766 ± 0.408 to 17.40 ± 4.721 , and/or 5.10 ± 0.738 to 7.60 ± 1.784 .

chicks; caecum; lactate-utilizing bacteria; amylolytic bacteria; lactobacilli; streptococci; *E. coli*; lactose-negative bacteria; adherence index

Adresa autorky:

MVDr. Iveta Koniarová, CSc., Ústav experimentálnej veterinárnej medicíny, Duklianských hrdinov 1/A, 040 01 Košice

DETEKCIA RUJE A URČENIE OPTIMÁLNEHO ČASU INSEMINÁCIE POLÁRNYCH LÍŠOK (*Alopex lagopus*)

M. Barta, I. Jakubička

BARTA, M. — JAKUBIČKA, I. (Vysoká škola poľnohospodárska, Nitra; Výskumný ústav živočíšnej výroby, Nitra): *Detekcia ruje a určenie optimálneho času inseminácie polárnych líšok (Alopex lagopus)*. Veter. Med. (Praha), 36, 1991 (6): 355 až 360.

V práci sme sledovali priebeh estrálneho cyklu siedmich polárnych líšok hodnotením klinických príznakov ruje (zväčšovaním vulvy), meraním elektrického odporu pošvového hlienu a stanovením koncentrácie progesterónu v krvnej plazme líšok za účelom určenia optimálneho času inseminácie. Samice boli inseminované čerstvým semenom intravaginálne pomocou pseudopenisu jeden deň po dosiahnutí maxima elektrického odporu vaginálneho hlienu a pri koncentrácii progesterónu v krvnej plazme minimálne 30 ng. ml⁻¹. Samice boli na druhý deň reinseminované. Inseminačná dávka mala objem 1 ml s koncentráciou spermií 150.10⁶. Zo siedmich samíc zaradených do pokusu sa u šiestich prejavili klinické príznaky ruje. Meraním elektrického odporu vaginálneho hlienu sme detekovali ruju taktiež u šiestich samíc. Progesterónovým testom sme ruju zistili u piatich samíc. Zo šiestich inseminovaných samíc zabrezlo päť (83,3 %) a celkom sa uliahlo 33 mláďat, čo predstavuje 5,5 mláďat na samicu.

líšky; detekcia ruje; inseminácia

V súčasnosti v našich podmienkach sa párenie líšok robí na základe klinických príznakov ruje, tj. na základe zväčšovania vulvy, zmeny jej konzistencie a výtoku hlienu z pošvy samice. Stupeň zdurenia vulvy a zmeny jej konzistencie sú v priebehu pohlavného cyklu líšok veľmi variabilné a preto sa hodnotenie stáva subjektívnym a neumožňuje objektívne určiť optimálny čas párenia, podľa ktorého dojde ku koncepcii. Preto sa samice pária viackrát s viacerými samcami a potom pôvod otca mláďat nie je možné identifikovať. Uvedená technika párenia do určitej miery sťažuje možnosť cieľavedomej plemenárskej práce.

Výsledky koncepcie závisia od dĺžky obdobia medzi osemenením a ovuláciou (Gamčík a Kozumplík, 1984). Pri určovaní obdobia vhodného na insemináciu sa musí vychádzať zo vzájomných údajov o životnosti spermií a vajíčka. Fougner (1983) uvádza, že medzi objektívne metódy kontroly ruje líšok, podľa ktorých možno určiť čas párenia alebo inseminácie patrí hodnotenie cytologických zmien sliznice pošvy v priebehu estra, meranie vaginálneho hlienu ohmometrom a stanovenie koncentrácie niektorých ovariálnych hormónov v krvnej plazme počas estrálneho cyklu líšok. Szeleszczukova a Weselowska

(1986) sledovali zmeny elektrického odporu vaginálneho hlienu polárnych líšok v čase kopulácie vo vzťahu k cytologickým zmenám epitelu pošvy a stavu vonkajších pohlavných orgánov. Uvádzajú, že pri všetkých pripustených samiciach bola pozorovaná výrazná korelácia medzi mikroskopickým obrazom, elektrickým odporom vaginálneho hlienu a stavom vonkajších pohlavných orgánov. Narastanie elektrického odporu je spojené so zvýšeným podielom „estrálnych“ buniek, prekrvením a zdurením vulvy. Zmeny v sekrécii ovariálnych hormónov počas estrálneho cyklu strieborných líšok majú vzťah k histologickým zmenám sliznice pošvy (Yalkanen a i., 1988). Kontrolu ruje meraním elektrického odporu pošvového hlienu líšok popísali Møller (1980, 1981), Fougner (1983, 1989), Bart a i. (1987). Určením optimálneho času inseminácie líšok na základe sledovania koncentrácie ovariálnych hormónov v perifernej krvi líšok sa zaoberali Møller a i. (1984), Urlings a i. (1987) a van Beek a i. (1988). Techniku a výsledky intravaginálnej inseminácie líšok pomocou pseudopenisu uvádza vo svojej práci Pasanen (1987).

MATERIÁL A METÓDY

Na experiment sme použili sedem jednoročných polárnych líšok (*Alopex lagopus*), ktoré pochádzali z experimentálneho chovu VÚŽV v Nitre. Zvieratá boli ustájené v klasických kovových klietkach s dreveným búdnikom pre líšky pod prístreškom. Počas pohlavnej aktivity líšok sme sledovali priebeh estra na základe klinických príznakov (zväčšenia vulvy) vizuálne, meraním elektrického odporu vaginálneho hlienu a koncentráciou progesterónu v perifernej krvi líšok súbežne. Na meranie elektrického odporu pošvového hlienu sme použili ohmmeter (detektor ruje) pod obchodným názvom SI-LI 3, ktorý vyrába nórska firma A/S Lima. Prístroj pozostáva zo sondy, ktorá sa zasunie do vagíny líšky v zvislej polohe a stupnice, na ktorej sa odčíta elektrický odpor v ohmech. Presný popis a návod na jeho použitie je súčasťou prístroja.

Krv k radioimunologickému stanoveniu progesterónu sme v priebehu estrálneho cyklu získali z *vena saphena*. Chybám, ktoré mohli pri odbere vzniknúť, sme zabráňovali štandardizáciou podmienok, techniky a doby odboru. Proti zrážaniu krvi sme využili antikoagulačný účinok prípravku Heparín Spofa. Krvnú plazmu sme po 10minútovej centrifugácii (2800 otáčok za min) odpipetovali do uzatvárateľných skúmaviek (1,5 cm³) z umelej hmoty.

Koncentrácia progesterónu v krvnej plazme líšok bola stanovená v RIA laboratóriu VÚŽV v Nitre podľa metodického postupu Píchovej a Píchu (1980).

Ejakuláty na insemináciu líšok boli získavané od dvoch líšiakov polárnych elektroejakuláciou v halothanovej narkóze podľa Bartu a Jakubičku (1989). Samica č. 46 bola inseminovaná semenom, ktoré sme získali masturbáciou od líšiaka obyčajného (divá populácia). Ejakuláty boli ihneď po odbere makro- a mikroskopicky vyšetrené (objem, motilita a koncentrácia) a podľa potreby riedené tak, aby v 1 ml sa nachádzalo 150.10⁶ spermíí. Na krátkodobé konzervovanie ejakulátu sme použili rieďidlo s následovným zložením: glukóza 6 g, EDTA 0,370 g, citrónan sodný dihydrát 0,375 g, hydrogenuhličitan sodný 0,120 g, neomycín sulfát 0,100 g, redestilovaná voda 100 ml. Insemináčna dávka (1 ml) bola deponovaná intravaginálne (ku krčku maternice) pomocou pseudopenisu (Barta a kol., 1987) do štyroch hodín od odboru.

VÝSLEDKY A DISKUSIA

Hodnoty elektrického odporu vaginálneho hlienu polárnych líšok počas estrálneho cyklu sú uvedené v tab. I. Z číselných údajov vidieť, že elektrický odpor v sledovanom súbore samíc je veľmi variabilný a počas klinických príznakov estra sa pohyboval od 40 do 625 ohmov. Obr. 1 dokumentuje individuálny priebeh elektrického odporu pošvového hlienu líšok počas estra ako aj dni inseminácie pred pôrodom. Variabilita na-

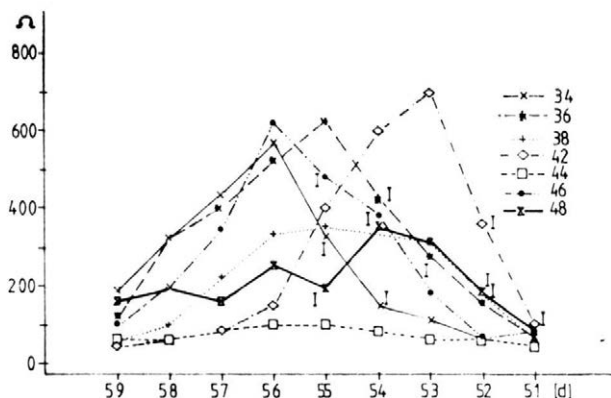
I. Elektrický odpor (Ω) pošvového hlienu polárnych líšok počas klinických príznakov estra — Electrical resistance (Ω) of vaginal mucus in polar foxes in the time of clinical symptoms of oestrus

Číslo samice ¹	Dni pred pôrodom ²								
	59	58	57	56	55	54	53	52	51
34	185	320	435	565	325*	145*	110	60	40
36	120	320	400	520	625	425*	270*	150	60
38	60	100	220	330	350	330	310	175*	60
42	40	60	80	150	400	600	700	360*	100*
44	60	60	80	100	100	80	60	60	40
46	100	200	340	620	480*	380*	180	60	80
48	160	190	160	250	190*	350	310	180*	80

* = dni inseminácie — days of insemination

¹female no., ²days to delivery

1. Hodnoty elektrického odporu pošvového hlienu polárnych líšok počas estra — The values of vaginal mucus electrical resistance in polar foxes during oestrus



meraných hodnôt a ich individuálny priebeh pri jednotlivých samiciach ukázal, že na určenie optimálneho času inseminácie je potrebných 4—5 meraní pri každej samici.

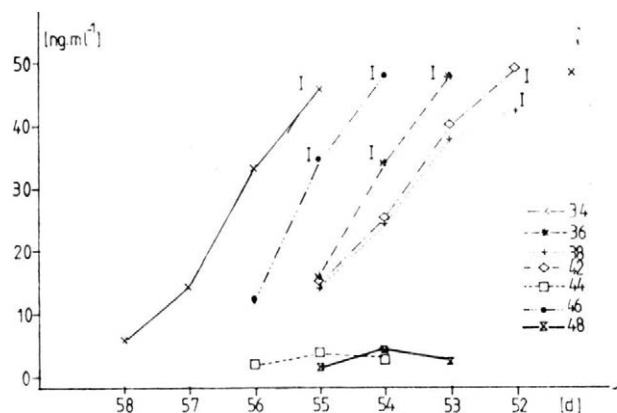
V tab. II sú uvedené hodnoty koncentrácie progesterónu v periférnej krvi líšok počas estra, ktoré sa pohybovali od 1,79 do 49,14 ng. ml⁻¹. U samíc s typickým priebehom ruje, ktoré po inseminácii zabrezli, sa hodnoty progesterónu počas estra zvyšovali takmer lineárne (obr. 2). Samica č. 44, u ktorej sa neprejavili klinické príznaky ruje, mala hodnoty progesterónu pod 4 ng. ml⁻¹ a samica č. 48, ktorú podľa klinických príznakov a elektrického odporu pošvového hlienu bolo možné hodnotiť ako v ruji, mala hodnoty progesterónu v krvnej plazme pod 5 ng. ml⁻¹ a po inseminácii nezabrezla.

Na základe dosiahnutých výsledkov zabreznutia líšok (83,3 %) možno konštatovať, že optimálny čas inseminácie líšok je jeden až dva dni po nameraní maximálnych hodnôt, ale z hľadiska počtu narodených mláďat

II. Koncentrácia progesterónu [$\text{ng} \cdot \text{ml}^{-1}$] v periférnej krvi polárnych líšok počas klinických príznakov estra — Progesterone concentrations [$\text{ng} \cdot \text{ml}^{-1}$] in the peripheral blood of polar foxes in the time of clinical symptoms of oestrus

Číslo samice ¹	Dni pred pôrodom ²							Počet mláďat ³
	58	57	56	55	54	53	52	
34	5,71	14,32	33,47	45,87				6
36				16,25	34,10	48,17		1
38				14,15	24,30	38,15	42,71	10
42				14,91	25,42	40,21	49,14	12
44			1,83	3,64	2,86			0
46			12,11	34,50	48,17			4
48				1,79	4,25	2,64		0

For 1—2 see Tab I; ³number of cubs



2. Koncentrácia progesterónu v periférnej krvi polárnych líšok počas estra — Progesterone concentrations in the peripheral blood of polar foxes during oestrus

5,5 ks na samicu a veľké individuálne rozdiely medzi jednotlivými samičami to neumožňujú jednoznačne tvrdiť. Ďalej sme zistili, že koncentrácia progesterónu v periférnej krvi líšok v čase úspešnej inseminácie sa pohybovala nad $30 \text{ ng} \cdot \text{ml}^{-1}$.

Líška, fena (možno aj iné druhy z čeľade *Canidae*) sú zvláštne v tom, že u nich prvé polárne teliesko nie je vypustené v čase ovulácie ako je tomu u iných cicavcov (Nalbandov, 1964). Fertilizačná schopnosť oocytov uvedených druhov po ovulácii je značne oneskorená a podľa uvedeného autora nie je známe, či toto oneskorenie súvisí s vypustením prvého polárneho telieska. Fougner (1983) Bárt a i. (1987) zistili, že líšky sú schopné akceptovať párenie aj v takých štádiách pohlavnej aktivity kedy nemôže dôjsť ku koncepcii a preto optimálnemu času inseminácie líšok sa venuje veľká pozornosť.

Meranie elektrického odporu vaginálneho hlienu, ktoré sme overovali vo vzťahu koncentrácie progesterónu v periférnej krvi líšok, sa nám javí ako metóda objektívna a technicky ľahko zvládnuteľná.

Pri riešení danej problematiky sme nadviazali na prácu autorov Møller a i. (1984), Urlings a i. (1987), van Beek a i. (1988), ktorí uvádzajú, že optimálny čas inseminácie polárnych líšok je prvý, resp. druhý deň po poklese nameraných hodnôt elektrického odporu. Na základe nami dosiahnutých výsledkov počtu narodených mláďat jednotlivých samíc domnievame sa, že časový horizont inseminácie 48 hodín je príliš široký a bude potrebné ho časovo upresniť s prihliadnutím na individuálny priebeh ruje líšok a nízku prežívateľnosť spermií líšiakov.

Literatúra

- BARTA, M. — JAKUBIČKA, I.: Získavanie spermy od líšiakov elektroejakuláciou v halo-
thanovej narkóze. Veter. Med. (Praha), 34, 1989, s. 637—640.
- BARTA, M. — JAKUBIČKA, I. — NITRAY, J.: Technika párenia líšok z hladiska nových
poznatkov. In: Zbor. Ref. z kožušinárskeho kongresu. Košice, ČSVTS 1987, s. 35—37.
- BARTA, M. — SADILOVÁ, M. — GOLD, F.: Návrh a zhotovenie inseminačného zariadenia
pre líšky [Zlepšovací návrh č. 22/87.] Nitra 1987. — Výskumný ústav živočíšnej
výroby.
- FOUGNER, J. A.: Det optimale tidspunkt for paring og inseminering av rev. Nor.
Pelsdyrbl., 57, 1983, s. 32—37.
- FOUGNER, J. A.: KS — virksomhet og resultat i 1987 og 1988. Nor. Pelsdyrbl., 3, 1989,
s. 12—13.
- GAMČÍK, P. — KOZUMPLÍK, J.: Umelá inseminácia a andrológia hospodárskych zvie-
rat, Bratislava, Príroda 1984, 344 s.
- MÖLLER, O. M.: Elektrisk brunstdiagnostikk hos blarev, solvrev og marhung. Nor.
Pelsdyrbl., 54, 1980, s. 591—595.
- MÖLLER, O. M. — FOUGNER, J. A.: Elektrisk brunstkontroll hos blarev, resultater fra
en feltundersøkelse. Nor. Pelsdyrbl., 55, 1981, s. 29—32.
- MÖLLER, O. M. — MONDAINE-MONVAL, M. — SMITH, A. — METZGER, E. — SCHOL-
LER, R.: Temporal relationships between hormonal concentrations and the electrical
resistance of the vaginal tract of Blue Foxes (*Alopex lagopus*) et proestrus and oestrus.
J. Reprod. Fertil., 70, 1984, s. 15—24.
- NALBANDOV, A. V.: Reproductive physiology. FREEMAN W. H. et al. (eds): San Fran-
cisco and London, 1964, 316 s.
- PASANEN, S.: Articop method for artificial insemination of foxes. Scientifur, 11, 1987,
s. 40—43.
- PÍCHOVÁ, J. — PÍCHA, J.: Spolehlivost progesteronového testu a jeho využití v repro-
dukci dojníc. (Závěrečná zpráva.) Praha-Uhřetěves, Výzkumný ústav živočíšné výroby
1980.
- SZELESZCZUK, O. — WESELOWSKA, A.: Metódy zisťovania ruje u polárnych líšok. In:
Zbor. Ref. Perspektívy moderného chovu kožušinových zvierat. Nitra, VÚŽV 1986, s. 129
až 138.
- URLINGS, H. A. P. — VAN BEEK, P. N. G. M. — HEYDEN, H. M. J. F.: Plasma-progester-
one-assay, a practical method for ovulation detection in Blue Fox (*Alopex lagopus*).
Scientifur, 11, 1987, s. 36—38.
- VAN BEEK, P. N. G. M. — URLINGS, H. A. P. — VRENSSEN, J. C. S. M.: Evaluation of
a progesterone — assay (Elisa-method) for ovulation detection in foxes. In: Proc. 4th
Sci. Congr. Fur. Anim., Toronto, 1988, s. 56—63.
- YALKANEN, L. — VALTONEN, M. — LUKOLA, A.: Electrical resistance and cytology
of the vaginal tract in relation to ovarian hormone levels in the silver fox during
estrus. In: Proc. 4th. Int. Sci. Congr. Fur. Anim., Toronto, 1988, s. 5—9.

Došlo dňa 27. 6. 1990

BARTA, M. — JAKUBIČKA, I. (University of Agriculture, Nitra; Research Institute of
Animal Production, Nitra): Heat detection and determination of optimum insemination
time in polar fox (*Alopex lagopus*). Veter. Med. (Praha), 36, 1991 (6): 355—360.

Oestrus cycles were investigated in seven polar foxes: the investigation consisted of
evaluation of clinical symptoms of heat (vulva enlargement), measurement of vaginal
mucus electrical resistance and determination of progesterone concentrations in the
blood plasma of foxes; the objective was to determine optimum insemination time.

The females were inseminated with fresh semen intravaginally by means of a pseudo-penis, a day following the record of maximum electrical resistance of vaginal mucus and at the minimum progesterone concentration in blood plasma of $30 \text{ ng} \cdot \text{ml}^{-1}$. The females were reinseminated on the following day. The insemination dose had a volume of 1 ml with sperm concentrations of $150 \cdot 10^6$. Clinical symptoms of heat were observed in six out of the seven test foxes. Heat detection by means of measuring vaginal mucus electrical resistance was successful also in six females. Progesterone test enabled to detect heat in five females. Out of six inseminated females, five foxes became pregnant (83.3 %) and a total of 33 cubs were born; this is 5.5 cubs per female.

foxes; heat detection; insemination

Adresa autorov:

Doc. ing. Milan Barta, CSc., Vysoká škola poľnohospodárska, Lomonosovova 2,
949 76 Nitra
Ing. Ivan Jakubička, CSc., Výskumný ústav živočíšnej výroby, Hlohovská 2,
949 92 Nitra

DISTRIBÚCIA RIZIKOVÝCH KOVŮ V ORGANIZME OVIEC PO PRÍJME PRIEMYSELNEJ EMISIE V EXPERIMENTE

J. Bíreš, L. Vrzgula, Z. Juhášová

BÍREŠ, J. — VRZGULA, L. — JUHÁSOVÁ, Z. (Vysoká škola veterinárska, Košice; Ústav experimentálnej veterinárnej medicíny, Košice): *Distribúcia rizikových kovov v organizme oviec po príjme priemyselnej emisie v experimente*. Veter. Med. (Praha), 36, 1991 (6): 361—371.

Sledovali sme distribúciu Cu, Fe, Zn, Mo, Se, As, Cd a Pb v organizme siedmich bahníc po skrmovaní priemyselnej emisie zo závodu na výrobu medi a zinku. Množstvo prijatej emisie na bahniciu podľa východiskovej hmotnosti bolo za deň 31,99 g. Denný príjem Cu, Fe, Zn, Mo, Se, As, Cd a Pb v mg na kus predstavoval 402,02; 95,97; 6158,07; 1,436; 2,975; 15,38; 0,598 resp. 22,14. Prvé zviera za príznakov intoxikácie zinkom uhynulo na 42. deň a posledné na 58. deň. Najvyššie hladiny Zn sme zistili v sušine pečene uhynutých bahníc ($1167,3 \pm 314,1 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$). Obličky nakumulovali počas skrmovania emisie $1049 \pm 283,7 \text{ mg Zn} \cdot \text{kg}^{-1}$. Vysoký obsah Zn sme zaznamenali aj v maternici a slezine. Najviac Cu nakumulovala pečeň ($445,6 \pm 238,1 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$). Orgánom s najvyššími hladinami Fe bola slezina, u Mo vaječníky a Se kostné tkanivo a vaječníky. Zafaženie organizmu oviec As, Cd a Pb intoxikovaných zinkom zo zdroja priemyselnej emisie sa odrazilo na vysokom obsahu vo vaječníku, obličkách, pečeni a kostnom tkanive. Z dosiahnutých výsledkov vyplýva, že najvhodnejším orgánom pre potvrdenie otravy zinkom z emisie zo závodu na výrobu medi a zinku sú u oviec pečeň, obličky, maternica, slezina a vaječníky. Pre posúdenie distribúcie Cu, Fe, Mo, Se, As, Cd a Pb v organizme oviec uhynutých na intoxikáciu zinkom z uvedeného zdroja sa javí pečeň, oblička, vaječník, maternica, slezina, kostrová svalovina a kostné tkanivo.

ovce; priemyselná emisia; intoxikácia zinkom; rizikové kovy; distribúcia

Pre sledovanie toxického účinku ťažkých kovov sú potrebné poznatky o ich kinetike. Z tohto pohľadu sú dôležité predilekčné orgány, ktoré zodpovedajú za kumuláciu kovov.

Na základe vzťahu medzi rizikovým prvkom a orgánom možno usudzovať o jeho toxicite (Rosa, 1986; Bldgett, 1988). Kovy hromadia sa v priebehu chronických otráv v orgánoch s vysokou metabolickou aktivitou sú potenciálne toxickejšie (Baraňski, 1987). Tým, že najviac toxických prvkov sa koncentruje v pečeni, sú narušené všetky životne dôležité funkcie (Vreman a i., 1988). Množstvo nakumulova-

ného elementu v organizme je závislé na dĺžke jeho príjmu, zložení kŕmnej dávky a v neposlednej miere aj do druhej a plemennej predispozície k toxickému prvku (Van Der Schee a i., 1983).

Poznatky o distribúcii ťažkých kovov v organizme zvierat je možné využiť pri diagnostike toxikóz. Málo preskúmaná je kinetika rizikových prvkov v prípade, keď zviera je vystavené toxickému príjmu viacerých kovov. V tomto prípade samotná kumulácia prvkov v jednotlivých orgánoch je závislá aj na ich interakčných vzťahoch (Friel a i., 1987; Bíreš, 1989). Napriek uvedeným vzájomným vzťahom sa pravdepodobne v orgánoch najviac budú hromadiť tie kovy, ktoré sú i v prebytku zastúpené v kŕmnej dávke.

V práci sme sledovali distribúciu medi, železa, zinku, molybdénu, selénu, arzénu, kadmia a olova v organizme oviec po skrmovaní priemyselnej emisie zo závodu na výrobu medi a zinku.

MATERIÁL A METÓDY

Sledovania sme robili na siedmich bahniciach plemena zošľachtená valaška vo veku 1,5 až 2 rokov. Všetky bahnice dostávali denne po rannom nakŕmení pažerákovou sondou emisiu z priemyselného závodu na výrobu medi a zinku. Denné množstvo prijatej emisie na pokusnú bahnicu podľa východiskovej živej hmotnosti predstavovalo 31,99 g. Denný príjem Cu, Fe, Zn, Mo, Se, As, Cd a Pb z emisie na experimentálne zviera udávame v tab. I. Príjem sledovaných prvkov z krmiva zaznamenávame v tab. II. a spoločný príjem z emisie a krmiva v tab. III.

Emisiu sme podávali až po úhyn zvieraťa za príznakov intoxikácie zinkom. Priemerná dĺžka života bola $46,28 \pm 5,03$ dní. Prvé zviera uhynulo na 42. deň a posledné na 58. deň.

Orgány pečene (pravý pečenný lalok), obličku (kôrová časť pravej obličky), slezinu, sval (*m. bicipitis femoris*), stenu maternice, vaječník, oko (cievnatka) a kosť (*os carpalis*) sme získali pri pitve zvierat.

Analýzu orgánov sme robili atómovou absorpčnou spektrofotometriou u Cu, Fe, Zn, plameňovou technikou na prístroji Perkin Elmer 306 u Mo, Se, As, Cd, Pb za pomoci grafitovej kyvety HGA 500 na prístroji Perkin Elmer 1100. Príprava orgánov pre analýzu spočívala v sušení a mineralizácii v zmesi kyseliny chlóristej a dusičnej.

Koncentráciu sledovaných prvkov udávame v sušine orgánu v $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ formou priemerných hodnôt ($\bar{x}$) a smerodajnej odchýlky ($\pm s$).

VÝSLEDKY

Koncentrácia Zn je uvedená na obr. 1. Najvyššie hladiny Zn sme zistili v sušine pečeni uhynutých bahníc ($1167,3 \pm 314,1 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$). Obličky nakumulovali počas skrmovania emisiu $1049,5 \pm 283,7 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$. Vysoký obsah Zn sme zaznamenali aj v maternici a slezine ($367,6 \pm 303,9$ resp. $274,0 \pm 179,6 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$). Hladina Zn vo vaječníku zodpovedala $245,6 \pm 73,5 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$. Priemerná koncentrácia Zn vo svale a cievnatke oka bola $180,0 \pm 37,7$ resp. $152,4 \pm 28,3 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$. Najnižšie množstvo Zn sme pozorovali v kosti ($119,21 \pm 14,52 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$).

Najviac Cu ($445,6 \pm 238,1 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$) nakumulovala pečeň (obr. 2). Rovnaké hladiny Cu sme zistili v obličkách, vaječníku a maternici (rozptýl priemerných hodnôt $122,5\text{--}124,7 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$). V slezine bolo $101,8 \pm 150,6 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$, v cievnatke oka $55,7 \pm 38,8 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ a vo svale $45,8 \pm 29,9 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$. Najnižšiu hladinu Cu ($3,81 \pm 1,14 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$) sme evidovali v kostnom tkanive.

I. Denný príjem Cu, Fe, Zn, Mo, Se, As, Cd a Pb z emisie v mg na kus — Daily intake of Cu, Fe, Zn, Mo, Se, As, Cd and Pb from pollutants in mg per head

Živá hmotnosť ¹ [kg]	Cu	Fe	Zn	Mo	Se	As	Cd	Pb
40,25 ± 3,55	402,02	95,97	6158,07	1,436	2,975	15,38	0,598	22,140

¹live weight

II. Denný príjem Cu, Fe, Zn, Mo, Se, As, Cd a Pb v mg z krmiva na pokusnú bahnicu — Daily intake of Cu, Fe, Zn, Mo, Se, As, Cd and Pb in mg from the feed ration per test lambing ewe

Denná spotreba ¹	Cu	Fe	Zn	Mo	Se	As	Cd	Pb
Lúčne seno ² (1,50 kg)	12,66	275,1	79,35	0,601	1,035	2,934	0,005	0,08
KZ BAK ³ (0,20 kg)	18,06	17,4	12,84	0,1	0,45	0,180	0,046	0,367
Pitná voda ⁴ (5 l)	2,43	0,954	1,22	0,14	0,93	stopy ⁶	stopy ⁶	stopy ⁶
Spolu ⁵	33,15	293,45	93,41	0,841	2,41	3,114	0,051	0,447

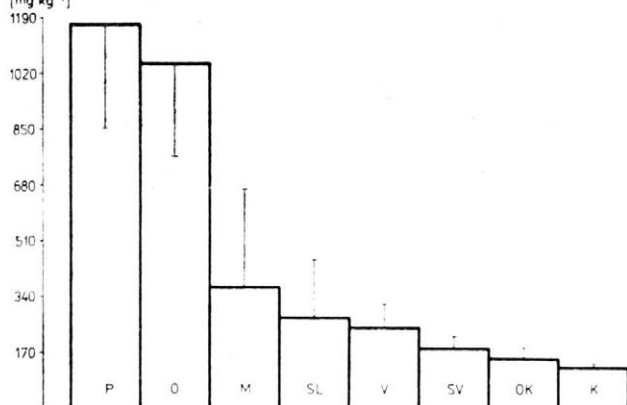
¹daily intake, ²meadow hay, ³BAK feed mixture, ⁴drinking water, ⁵total, ⁶tiny amounts

III. Denný príjem Cu, Fe, Zn, Mo, Se, As, Cd a Pb z emisie a krmiva v mg na pokusnú bahnicu — Daily intake of Cu, Fe, Zn, Mo, Se, As, Cd and Pb from pollutants and feed ration in mg per test lambing ewe

Zdroj príjmu ¹	Cu	Fe	Zn	Mo	Se	As	Cd	Pb
Emisia ²	402,02	95,97	6158,07	1,436	2,975	15,38	0,598	22,140
Krmivo ³	33,15	293,45	93,41	0,841	2,41	3,114	0,051	0,447
Spolu ⁴	435,17	389,42	6251,48	2,277	5,385	18,494	0,649	22,587

¹source of contaminant intake, ²pollutants, ³feed, ⁴total

[mg kg⁻¹]

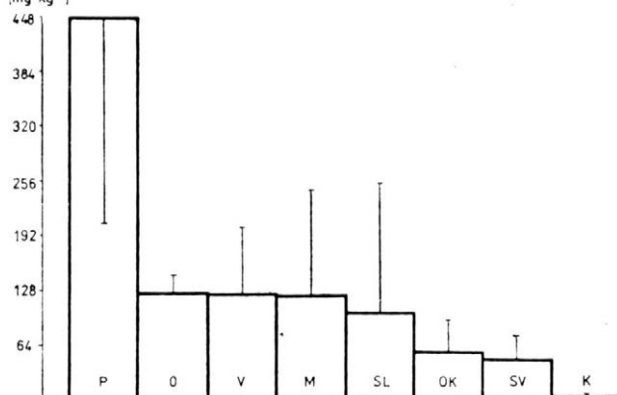


1. Distribúcia zinku v sledovaných orgánoch oviec — Zinc distribution in the target organs of ewes

Legenda k obr. 1—8 — The legend to Figs. 1—8:

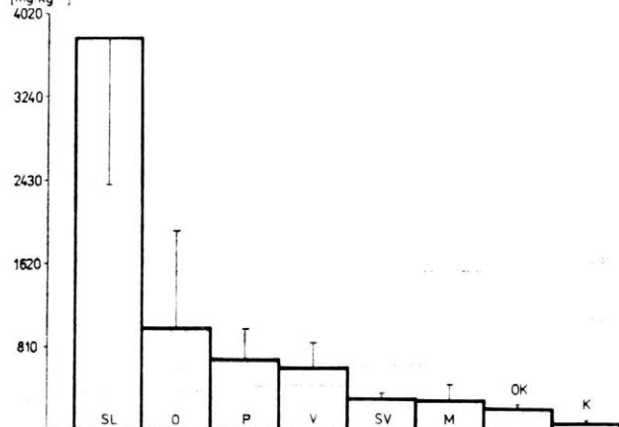
- P — pečeň — liver
- O — oblička — kidney
- M — maternica — uterus
- SL — slezina — spleen
- V — vaječník — ovary
- SV — sval — muscle
- OK — oko — eye
- K — kosť — bone

[mg kg⁻¹]



2. Distribúcia medi v sledovaných orgánoch oviec — Copper distribution in the target organs of ewes

[mg kg⁻¹]

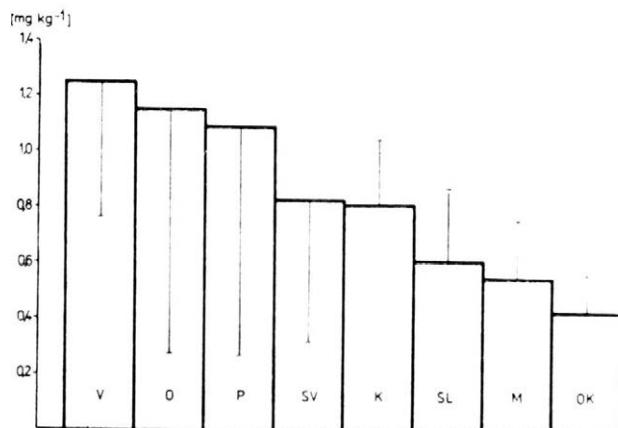


3. Distribúcia železa v sledovaných orgánoch oviec — Iron distribution in the target organs of ewes

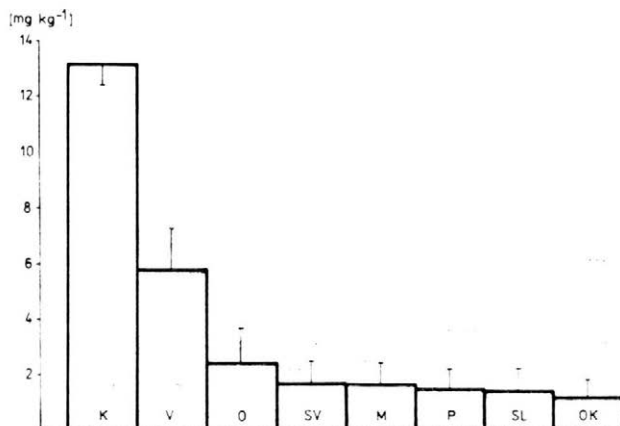
Orgánom s najvyššou kumulatívnou schopnosťou Fe bola slezina ($3784,3 \pm 1286,9 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$) — obr. 3. Klesajúcu tendenciu vo vzťahu k uklada- niu Fe mala postupne oblička, pečeň a vaječníky. V kostrovej svalovine a maternici sme zaznamenali $295,6-59,4$ resp. $290,5 \pm 147,4 \text{ mg Fe} \cdot \text{kg}^{-1}$. V cievnatke oka bolo $209,7 \pm 51,9 \text{ mg Fe} \cdot \text{kg}^{-1}$. Najchudobnejšie na Fe bolo kostné tkanivo ($55,57 \pm 24,10 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$).

Najvyšší vzťah k ukladaniu Mo mali vaječníky ($1,25 \pm 0,48 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$) — obr. 4. V obličkách sa nahromadilo $1,15 \pm 0,88 \text{ mg Mo} \cdot \text{kg}^{-1}$ a v pe- čeni $1,087 \pm 0,830 \text{ mg Mo} \cdot \text{kg}^{-1}$. Hladiny Mo potom postupne klesali vo svalovine, kosti, slezine a maternici. Najnižší obsah Mo sme pozorovali v cievnatke oka ($0,428 \pm 1,30 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$).

Najvyššia kumulatívna schopnosť u Se sa potvrdila v kostrovom tka- nive ($13,17 \pm 0,799 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$) — obr. 5. Vo vaječníku sme zistili 5,78

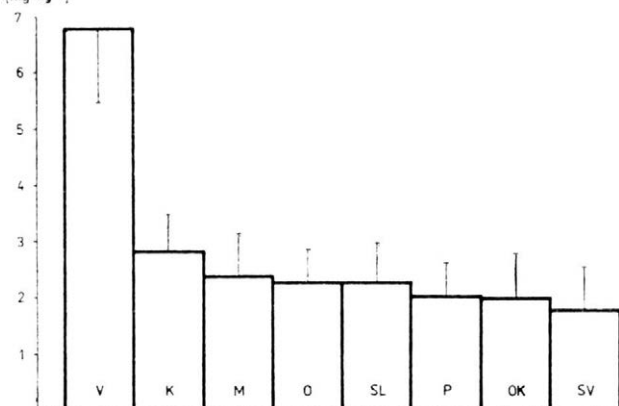


4. Distribúcia molybdénu v sle- dovaných orgánoch oviec — Molybdenum distribution in the target organs of ewes



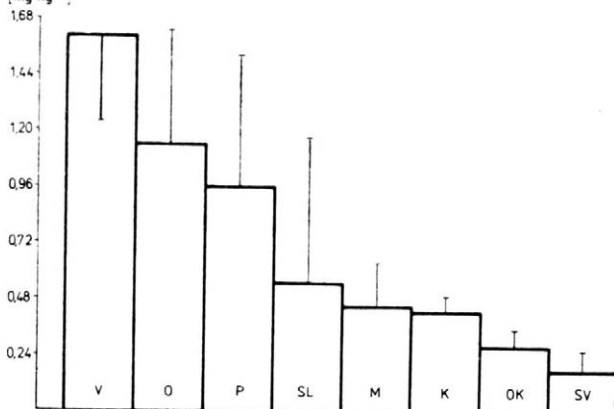
5. Distribúcia selénu v sle- dovaných orgánoch oviec — Selenium distribution in the target organs of ewes

[mg kg⁻¹]



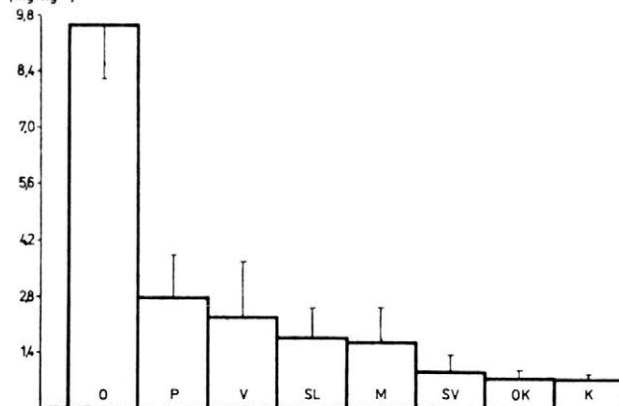
6. Distribúcia arzénu v sledovaných orgánoch oviec — Arsenic distribution in the target organs of ewes

[mg kg⁻¹]



7. Distribúcia kadmia v sledovaných orgánoch oviec — Cadmium distribution in the target organs of ewes

[mg kg⁻¹]



8. Distribúcia olova v sledovaných orgánoch oviec — Lead distribution in the target organs of ewes

$\pm 1,46 \text{ mg Se} \cdot \text{kg}^{-1}$ a v obličke $2,39 \pm 1,29 \text{ mg Se} \cdot \text{kg}^{-1}$. Obdobné hladiny Se sme zaznamenali vo svalu, maternici, pečeni a slezine. Najnižšie množstvo Se bolo v cievnatke oka ($1,13 \pm 0,64 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$).

Najviac As nakumulovali vaječníky ($6,78 \pm 1,31 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$) — obr. 6. Ďalšími orgánmi s vysokou koncentráciou As bolo kostné tkanivo ($2,83 \pm 0,64 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$) a maternica ($2,39 \pm 0,74 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$). V obličkách a slezine sme zaznamenali rovnaký obsah As ($2,29 \pm 0,56$ resp. $2,29 \pm 0,67 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$). Hladina As v pečeni ($2,00 \pm 0,60 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$) zodpovedala koncentrácii v cievnatke oka ($1,99 \pm 0,78 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$). Najnižší obsah As sme zistili vo svalu ($1,76 \pm 0,77 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$).

Orgánom s najvyšším obsahom Cd boli vaječníky ($1,60 \pm 0,36 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$) — obr. 7. Obličky v priebehu experimentu nakumulovali $1,17 \pm 0,52 \text{ mg Cd} \cdot \text{kg}^{-1}$ a v pečeni $0,95 \pm 0,57 \text{ mg Cd} \cdot \text{kg}^{-1}$. Koncentrácia Cd postupne klesala v slezine, maternici, kosti a cievnatke oka. Najnižšiu hladinu Cd sme pozorovali vo svalu ($0,169 \pm 0,096 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$).

Najvyššie množstvo Pb ($9,58 \pm 1,36 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$) sme zistili v obličkách (obr. 8). V pečeni sa počas skrmovania emisie nahromadilo $2,76 \pm 1,06 \text{ mg Pb} \cdot \text{kg}^{-1}$ a vo vaječníkoch $2,26 \pm 1,39 \text{ mg Pb} \cdot \text{kg}^{-1}$. Nižšia koncentrácia Pb bola postupne v slezine, maternici, svalovine a cievnatke oka. Najnižšie množstvo Pb sme zistili v kosti ($0,71 \pm 0,11 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$).

DISKUSIA

Z uvedených výsledkov vyplýva, že kumulácia rizikových prvkov z priemyselnej emisie v sledovaných orgánoch bola pre každý kov špecifická.

Zinkom bola najviac zaťažená pečeň a obličky. Zistené hladiny Zn v sušine pečeni a obličiek ($1167,3 \pm 314,1$ resp. $1049 \pm 283,7 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$) súhlasia s koncentráciami zinku, ktoré zaznamenali Allen a i. (1983), Smith a Embling (1984) u oviec uhynutých na experimentálnu a spontánnu intoxikáciu zinkom. Wentink a i. (1985) udávajú u zvierat s diétnym príjmom 3000—7300 $\text{mg Zn} \cdot \text{kg}^{-1}$ sušiny, v pečeni 420 až 1600 $\text{mg Zn} \cdot \text{kg}^{-1}$ a v obličkách 810—1680 $\text{mg Zn} \cdot \text{kg}^{-1}$. Vysoké hladiny Zn v pečeni a obličkách pri otrave zinkom súvisia s toxickým pôsobením samotného zinku (Llobet a i. 1988). Sileo a Beyer (1985) dokázali, že jelene chované do vzdialenosti 100 km od závodu na výrobu zinku, majú najvyššiu koncentráciu Zn v pečeni a obličkách. V našom experimente po príjme 6158,07 mg Zn z emisie a 93,41 mg Zn z krmiva na bahnicu a deň sme pozorovali okrem kumulácie Zn v pečeni a obličkách tiež vysoký obsah Zn v maternici, slezine, vaječníku a kostrovej svalovine.

Bahnice uhynuté v experimente na intoxikáciu zinkom mali najvyššiu koncentráciu Cu v pečeni ($445,6 \pm 238,1 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$). Tieto hodnoty však boli podstatne nižšie ako hladiny Cu, ktoré sme zaznamenali u oviec uhynutých v oblasti závodu na výrobu medi alebo po experimentálnej intoxikácii priemyselnou emisiou zo závodu na výrobu medi (Bíreš a i., 1990). Výsledky analýz poukázali, že najvyššie množstvo Cu sa hromadí v pečeni aj u oviec intoxikovaných zinkom zo zdroja priemyselnej emisie. Súčasne rozširujú poznanie, že množstvo Cu v obličkách zodpovedá jej kumulácii vo vaječníkoch, maternici a slezine. Nízky diagnostický

význam pre posúdenie metabolizmu Cu má stanovenie Cu v kostnom tkanive.

Najvyššia koncentrácia Fe ($3784,3 \pm 1386,9 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$), ktorú sme pozorovali v slezine oviec, zodpovedá doterajším našim poznatkom o distribúcii Fe pri intoxikácii meďou z priemyselnej emisie (Vrzgula a Bíreš, 1987). Vysoké množstvo Fe sme po skrmovaní priemyselnej emisie zo závodu na výrobu zinku a medi zaznamenali tiež v obličkách, pečeni a vaječníku.

Najvyššiu kumulatívnu funkciu pre Mo vykazovali vaječníky. Potom nasledovali obličky a pečeň, čo súhlasí s doterajšími poznatkami o metabolizme Mo u oviec (Suttle a Field, 1983). Vzhľadom k tomu, že koncentrácia Mo v sledovaných orgánoch nevybočila z referenčného rozptatia (Ivan a Viera, 1985), konštatujeme zanedbateľný vplyv intoxikácie zinkom na distribúciu Mo v organizme bahníc.

Najvyššie hodnoty Se dosahovalo kostné tkanivo. Distribúcia Se vo vaječníkoch, obličkách, svaľe, maternici a pečeni zodpovedala jeho fyziologickým požiadavkám v organizme (Langlands a i., 1984). Príjem Se z priemyselnej emisie a krmiva sa najmenej prejavil na koncentracii Se v cievnatke oka.

Zaťaženie organizmu oviec As, Cd a Pb intoxikovaných zinkom zo zdroja priemyselnej emisie sa odrazilo na ich vysokom obsahu vo vaječníku, obličke, pečeni a kostnom tkanive. Pre posúdenie metabolizmu As a Pb sa doporučujú analyzovať obličky a kostné tkanivo (Elsenhans a i., 1987). Podľa údajov, ktoré uverejnili Friel a i. (1987) a Langlands a i. (1988) najviac Cd sa hromadí v pečeni a obličkách. Analýzy As, Cd a Pb u oviec chovaných v oblasti závodu na výrobu medi a zinku (Koh a Judson, 1986; Reif a i., 1989) potvrdili, že najviac sa uvedené prvky hromadia v pečeni a obličkách. Naše výsledky po skrmovaní emisie zo závodu na výrobu zinku a medi ukazujú, že analýzu uvedených orgánov je u oviec potrebné u As rozšíriť o vaječník, kostné tkanivo, maternicu, u Cd a Pb o vaječník a slezinu. Najmenej vhodným orgánom pre posúdenie kumulácie As a Cd bola zo sledovaných orgánov cievnatka oka a kostrová svalovina a u Pb aj kostné tkanivo.

Z dosiahnutých výsledkov vyplýva, že najvhodnejším orgánom pre potvrdenie otravy zinkom zo zdroja priemyselnej emisie sú u oviec pečeň, obličky, maternica, slezina a vaječníky. Pre posúdenie distribúcie Cu, Fe, Mo, Se, As, Cd a Pb v organizme oviec uhynutých na intoxikáciu zinku z uvedeného zdroja sa javí pečeň, obličky, vaječníky, maternica, slezina, kostrová svalovina a kostné tkanivo.

Literatúra

- ALLEN, J. G. — MASTERS, H. G. — PEET, R. L. — MULLINS, K. R. — LEWIS, R. D. — SKIRROW, S. Z. — FRY, J.: Zinc toxicity in ruminants. *J. comp. Path.*, 93, 1983, s. 363—377.
- BARAŇSKI, B.: Effect of Cd on prenatal development and on tissue Cd, Cu and Zn concentrations in rats. *Envir. Res.*, 42, 1987, s. 54—62.
- BÍREŠ, J.: Interakčné vzťahy medi, železa, zinku, arzenu, kadmia a olova v pečeni oviec po experimentálnej intoxikácii oxidom meďnatým. *Veter. Med. (Praha)*, 34, 1989, č. 11, s. 665—674.
- BÍREŠ, J. — VRZGULA, L. — MUDROŇ, P.: Vplyv experimentálnej a spontánnej intoxikácie meďou na obsah medi, železa, zinku, kadmia, arzenu a olova v pečeni a obličkách bahníc a ich plodov. *Živoč. Výr.*, 35, 1990, č. 2, s. 159—168.

- BLODGETT, D. J.: The investigation of outbreaks of toxicologic disease. *Veterinary clinics of North America: Food Anim. Pract.*, 4, 1988, č. 1, s. 145–158.
- ELSENHANS, B. — SCHMOLKE, G. — KOLB, K. — STOKES, J. — FORTH, W.: Metal — metal interactions among dietary toxic and essential trace metal in the rat. *Eco-toxicol. Environ. Saf.*, 14, 1987, s. 275–278.
- FRIEL, K. J. — BORGMAN, R. F. — CHANDRA, R. K.: Effect of chronic cadmium administration on liver and kidney concentrations of zinc, copper, iron, manganese and chromium. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, 38, 1987, s. 588–593.
- IVAN, M. — VIERA, D. M.: Effects of copper sulfate supplement on growth, tissue concentration and ruminal solubilities of Mo and Cu in sheep fed low and high Mo diets. *J. Dairy Sci.*, 68, 1985, s. 891–896.
- KOH, T. S. — JUDSON, G. J.: Trace — element in sheep grazing near a lead — zinc smelting complex at Port Pirie, South Australia. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, 37, 1986, s. 87–95.
- LANGLANDS, J. P. — BOWLES, J. E. — DONALD, G. E. — SMITH, A. J.: Deposition of Cu, Mn, Se and zinc in merino sheep. *Austral. J. Agric. Res.*, 35, 1984, s. 701–707.
- LANGLANDS, J. P. — DONALD, G. E. — BOWLES, J. E.: Cd concentrations in liver, kidney and muscle in Australian sheep and cattle. *Austral. J. exp. Agric.*, 28, 1988, s. 291–297.
- LLOBET, J. M. — DOMINGO, J. L. — COLOMINA, M. T. — MAYAYO, E. — CORBELLA, J.: Subchronic oral toxicity of zinc in rats. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, 41, 1988, s. 36–43.
- REIF, J. S. — AMEGHINO, E. — AARONSON, M. J.: Chronic exposure of sheep to a zinc smelter in Peru. *Envir. Res.*, 49, 1989, s. 40–49.
- ROSA, I. V. — AMMERMAN, C. B. — HENRY, P. R.: Interrelationships of dietary copper, zinc and iron on performance and tissue concentration in sheep. *Nutr. Rep. Inter.*, 34, 1986, č. 5, s. 893–902.
- SILEO, L. — BEYER, W. N.: Heavy metals in White — tailed deer living near a zinc smelter in Pennsylvania. *J. Wildl. Dis.*, 21, 1985, č. 3, s. 289–296.
- SMITH, B. L. — EMBLING, P. P.: The influence of chemical form of zinc on the effects of toxic intraruminal doses of zinc to sheep. *J. appl. Toxicol.*, 4, 1984, č. 2, s. 92–96.
- SUTTLE, N. F. — FIELD, A. C.: Effects of dietary supplements of thiomolybdates on copper and molybdenum metabolism in sheep. *J. comp. Path.*, 93, 1983, s. 379–389.
- VAN DER SCHEE, R. — VAN DEN ASSEM, G. H. — VAN DEN BERG, R.: Breed differences in sheep with respect to the interaction between zinc and the accumulation of copper in the liver. *Veter. Quart.*, 5, 1983, s. 171–174.
- VREMAN, K. — VAN DER VEEN, N. G. — VAN DER MOLEN, E. J. — DE RUIJ, W. G.: Transfer Cd, Pb, Hg and As from feed into tissues of fattening bulls: chemical a pathological data. *Netherl. J. agric. Sci.*, 36, 1988, s. 327–338.
- VRZGULA, L. — BÍREŠ, J.: Koncentrácia Cu, Fe, Zn, As, Cd a Pb v parenchymatóznych orgánoch oviec pri priemyselnej otrave meďou. *Zbor. St. veter. spr. MPVŽ SSR, Bratislava*, 1987, č. 20, s. 39–47.
- WENTINK, G. H. — SPIERENBURG, TH. J. — GRAAF, G. J. — EXSEL, A. C. A.: A case of chronic zinc poisoning in calves fed with zinc — contaminated roughage. *Veter. Quart.*, 7, 1985, č. 2, s. 153–157.

Došlo dňa 30. 5. 1990

BÍREŠ, J. — VRZGULA, L. — JUHÁSOVÁ, Z. (University of Veterinary Medicine, Košice; Institute of Experimental Veterinary Medicine, Košice): *Distribution of harmful metals in sheep organisms after experimental industrial contaminant intake*. *Veter. Med. (Praha)*, 36, 1991 (6): 361–371.

Cu, Fe, Zn, Mo, Se, As, Cd and Pb distribution was followed in the organisms of seven lambing ewes after these animals had been on a diet with industrial contaminants generated by the copper and zinc works. The amount of ingested contaminants per lambing ewe was 31.99 g a day pursuant to the starting liveweight. Per-head daily intake of Cu, Fe, Zn, Mo, Se, As, Cd and Pb in mg: 402.02; 95.97; 6158.07; 1.436; 2.975; 15.38; 0.597; 22.14. The first ewe with symptoms of zinc intoxication died on day 42 and the last on day 58. The highest Zn concentrations were recorded in the dry matter of dead ewe liver (1167.3 ± 314.1 mg per kg). An amount of 1048 ± 283.7 mg Zn per kg was cumulated in the kidneys in the process of contaminant administration. High Zn contents were also observed in the uterus and spleen. The highest amounts of Cu

were cumulated in liver (445.6 238.1 mg per kg). Spleen was an organ with the highest concentrations of Fe, the ovaries cumulated the highest amounts of Mo and bony tissue and ovaries the highest amounts of Se. An exposure of the organisms to As, Cd and Pb in ewes intoxicated with zinc from a source of industrial pollutants, was reflected in their high contents in the ovaries, kidneys, liver and bony tissue. These results demonstrate that in sheep the liver, kidneys, uterus, spleen and ovaries are the most suitable organs if it is to prove zinc intoxication caused by pollutants from the copper and zinc works. Liver, kidneys, ovaries, uterus, spleen, skeletal muscles and bony tissue seem to be suitable for an evaluation of Cu, Fe, Mo, Se, As, Cd and Pb distribution in the organisms of ewes which died from zinc intoxication caused by pollutants from the above-mentioned source.

sheep; industrial contaminants; zinc intoxication; harmful metals; distribution

Adresa autorov:

Doc. MVDr. Jozef Bíreš, CSc., prof. MVDr. Leopold Vrzgula, DrSc., MVDr. Z. Juhásová, Vysoká škola veterinárska, Komenského 71, 041 81 Košice
Prof. MVDr. Leopold Vrzgula, DrSc., MVDr. Z. Juhásová, Vysoká škola veterinárska, Komenského 71, 041 81 Košice

Upozorňujeme čtenáře, že v čísle 7/91 časopisu

VETERINÁRNÍ MEDICÍNA

mají být uveřejněny tyto příspěvky:

L. L a z á r, J. H a j u r k a: Koncentrácie cAMP, cGMP, 17 beta-estradiolu a progesteronu vo folikulárnej tekutine najväčšieho folikulu kráv z folikulárnej fázy pohlavného cyklu a po superovulačnom ošetrení so sérovým gonadotropínom

V. R ů ž i č k o v á: Nové poznatky v biotypizaci *Staphylococcus aureus* z prvovýroby mléka

M. K u d w e i s, Z. L o j d a, I. J u l i š, L. L e n h a r d t, J. M a r c a n í k: Aktivita dehydrogenáz ve sliznici tenkého střeva při experimentální kokcidióze sajících selat

A. H o l u b: Konzum vody selaty časně odstavovanými v různém věku na tekutou dietu

A. Ž u f f a, E. S a l a j k a, J. Z a j a c, Z. S a l a j k o v á, T. Ž u f f a, P. A l e x a: Protilátková odpověď myší, králíků a prasat vyvolaná očkováním inaktivovanou olejovou vakcínou s obsahem rotavírusu a kmeňov *Escherichia coli* s fimbriovými antigénmi K88, K99 a 987P

E. B e k e o v á, M. K r a j n i č á k o v á, V. H e n d r i c h o v s k ý, I. M a r a č e k: Vplyv synchronizačného ošetrenia v sezónnom období a v gravidite oviec a koncentrácie tyroxínu, trijódtyronínu, 17 beta-estradiolu, progesterónu a cholesterolu

TECHNOLOGICKÉ VLIVY PŮSOBÍCÍ NA PŘEŽÍVÁNÍ *Campylobacter jejuni* V POTRAVINÁCH ŽIVOČIŠNÉHO PŮVODU

I. Tomancová, L. Steinhauser, Z. Matyáš

TOMANCOVÁ, I. — STEINHAUSER, L. — MATYÁŠ, Z. [Institut hygieny a epidemiologie, Brno; Vysoká škola veterinární, Brno]: *Technologické vlivy působící na přežívání Campylobacter jejuni v potravinách živočišného původu*. Veter. Med. [Praha], 36, 1991 (6): 373—380.

Sledovali jsme vliv základních technologií (chlazení, mražení, solení, balení, fermentace, uzení studeným kouřem, tepelné opracování) na *Campylobacter jejuni*. Jednotlivé technologické postupy představují bariéry, které v různém stupni ovlivňují *C. jejuni*. Při chlazení masa nízká hodnota a_w na povrchu kusů a přítomnost kyslíku redukuje *C. jejuni*, ale nízká teplota skladování prodlužuje přežívání *C. jejuni* až na dva dny. U chlazené drůbeže dochází ke kombinaci vysoké relativní vlhkosti spolu s nízkou teplotou a *C. jejuni* je schopen přežít až pět dnů. Při mražení působí nízká teplota na devitalizaci *C. jejuni* pouze částečně a výsledkem je jeho přežívání dva až osm týdnů. Balením se značně prodlužuje schopnost přežívání *C. jejuni*, v polyetylenové fólii jsme zjišťovali *C. jejuni* šest až sedm dnů, u vakuového balení 10 dní a u balení v ochranné atmosféře (80 % N_2 a 20 % CO_2) 10—13 dnů. NaCl se částečně podílí na devitalizaci *C. jejuni*, v mělněném mase přežívá pět až sedm dnů. U tepelně neopracovaných výrobků (TNMV) a dobou zrání minimálně 14 dní se uplatňuje celá řada zábran, které se podílí na zničení *C. jejuni* (a_w , pH, antagonistická mikroflóra). Tyto zábrany způsobují, že jsme v těchto výrobcích izolovali *C. jejuni* maximálně sedm dnů. U TNMV s krátkou údržností (dva až tři dny) je působení bariér omezeno, takže jsme *C. jejuni* prokázali dva až šest dnů. Při fermentaci mléčných výrobků se výrazně na devitalizaci *C. jejuni* uplatňují nízké hodnoty pH a antagonistické působení mikroflóry. Teplota nad 60 °C po dobu jedné minuty jej bezpečně eliminuje z potravin. Účinnost jednotlivých technologických postupů na devitalizaci *C. jejuni* je v řadě případů nedostatečná, protože redukuje počet zárodků pouze částečně. Výjimkou je pouze tepelné opracování při teplotě 60 °C a výroba tepelně neopracovaných masných výrobků (TNMV) s dlouhou dobou zrání (minimálně 14 dnů).

potraviny živočišného původu; *Campylobacter jejuni*; chlazení; mražení; solení; balení; fermentace; uzení studeným kouřem; tepelné opracování

Campylobacter jejuni patří mezi skupinu mikroorganismů, které přešly do podvědomí jako původci onemocnění, zejména z potravin, poměrně nedávno. Je patogenním mikroorganismem, i když zejména u člověka jeho patogenita není zcela objasněná. U řady domácích i volně žijících zvířat je *C. jejuni* součástí střevního traktu. Vysoké procento výskytu je zaznamenáno u ptáků, včetně drůbeže, dále u prasat, skotu i ovcí.

Z literatury je zřejmé, že *C. jejuni* se nachází ve střevním traktu mnoha druhů teplokrevných domácích i volně žijících zvířat, přičemž většina z nich je klinicky zdravá. Při porážení zvířat tedy nelze oddělit nosiče

C. jejuni a při jatečném opracování může dojít ke kontaminaci. Vyloučení zvířat, nosičů *C. jejuni*, z chovu je zatím neproveditelné. Lze tedy uvažovat o jiném způsobu eliminace *C. jejuni* z potravin. Jednou z možností devitalizace *C. jejuni* je využití technologických postupů, které se používají při zpracování potravin. Jde především o chlazení, zmrazování, balení, solení, fermentaci, uzení a tepelné opracování. Cílem naší práce bylo posouzení rizikovosti těchto základních technologických postupů z hlediska možného přežívání *C. jejuni*.

MATERIÁL A METODA

K pokusům jsme používali běžně dostupnou surovinu (hovězí a vepřové maso, drůbež, mléko). K této surovině jsme přidávali suspenzi sbírkového kmene *C. jejuni* CCM 6191 o hustotě 10^4 – 10^6 MO.ml⁻¹. Tato suspenze byla nanášena na povrch suroviny (při chlazení, zmrazování, balení) nebo byla zapracována do připraveného díla nebo mléka (při solení, uzení studeným kouřem, fermentaci a tepelném opracování). Takto připravené vzorky jsme podrobili působení uvedených technologických postupů.

Chlazení jsme prováděli při teplotách 0 až +4 °C a při teplotě 20 °C u vepřového masa a drůbeže. Sledovali jsme rozdíly v přežívání *C. jejuni* v prostoru bez nucené cirkulace vzduchu a při použití proudícího vzduchu. Zmrazování probíhalo při teplotách -5, -12 a -18 °C u vzorků drůbeže a vepřového masa zabaleného do polyetylenových sáčků. Vzorky jsme odebírali po dobu osmi týdnů.

Při balení jsme používali vzorky vepřového a hovězího masa (plátky), na které jsme nanесли uvedenou suspenzi *C. jejuni*. Sledovali jsme přežívání *C. jejuni* spolu s údržností masa při teplotě 0 až 4 °C u tří typů balení:

- prosté — zabalením v PE fólii
- vakuové — zabalením do fólie PE/PA na baličce Swissvac
- ochranná atmosféra — zabalením do PVC vaniček krytých hliníkovou fólií a naplněné směsí plynů CO₂ a N₂ (20 a 80 %).

U solení jsme zjišťovali a porovnávali inhibiční vliv dusitanové solící směsi (48 g dusitanové solící směsi a 0,47 l vody na 2 kg masa), dusičnanové solící směsi (1,5 g NaNO₃, 47 g NaCl a 0,47 l vody na 2 kg masa) a NaCl (48 g NaCl a 0,47 l vody) na přidávanou suspenzi *C. jejuni* do připraveného prátu. Masovou měl jsme uložili při teplotě 0 až +4 °C a po dobu sedmi dnů jsme odebírali vzorky.

Vliv uzení studeným kouřem jsme sledovali spolu s vlivem sušení a zrání u tepelně neopracovaných masných výrobků s dlouhou dobou zrání (poličan, herkules, gomba-secká klobása, lovecký salám) a u výrobků, určených k bezprostřední konzumaci (čajovky, vinná klobása). Do díla jsme zapracovali suspenzi *C. jejuni* a naražené výrobky jsme podle příslušného technologického postupu umístili do zracích komor. Vzorky jsme odebírali z klíčových bodů v průběhu technologického procesu (zrání, zauzení, sušení, expediční zralost).

Při sledování vlivu jogurtové kultury na *C. jejuni* přidávaný do mléka jsme používali provozní jogurtovou kulturu. Tuto kulturu jsme přidávali do mléka neředěnou a dále v ředění 1:10, 1:100 a 1:1000. Sledovali jsme přítomnost *C. jejuni*, titrační a aktivní kyselost na počátku pokusu, za 3,5 h (ukončení zrání při teplotě 43 °C) a po 24hodinovém uložení v chladničce.

Devitalizaci *C. jejuni* během tepelného opracování jsme sledovali na výrobcích z drůbežního masa (hamburgerech) s přidavkem suspenze *C. jejuni* zmrazených na teplotu -18 °C. *C. jejuni* jsme sledovali u hamburgerů v různém stupni opracování. Vzorky byly opracovány tak, aby se teplota v jádře pohybovala mezi 50–53 °C po dobu 3 min, 60–63 °C po dobu 1 min a 70 °C po dobu 10 min.

Při tepelném opracování hamburgerů v mikrovlnné peci Philips-Cooktronic 8915 jsme zmrazené a vakuově zabalené vzorky (s *C. jejuni*) rozmrazili v mikrovlnné peci během čtyř minut. Po rozmrazení a vytemperování vzorku při pokojové teplotě (10–15 min) jsme vzorky tepelně opracovávali mikrovlnami v 30sekundových intervalech až do 2 min. Kultivaci a diagnostiku *C. jejuni* jsme prováděli podle metodiky, kterou uveřejnila Aldová aj. (1985).

VÝSLEDKY A DISKUSE

V literatuře se uvádí poměrně značná citlivost *C. jejuni* vůči vnějšímu prostředí (kyslík, UV záření, vysušování, teplota).

Mezi nejdůležitější faktory ovlivňující přežívání *C. jejuni* patří teplota. Růst *C. jejuni* je vázán na úzké teplotní rozmezí (37—47 °C). Ostatní teploty různě rychle přispívají ke zničení tohoto mikroorganismu. Znalosti o výši teploty a době jejího působení potřebné pro inaktivaci *C. jejuni* v potravinách jsou nutné pro zabezpečení technologických procesů, které by spolehlivě eliminovaly *C. jejuni* z potravin. Všeobecně lze říci, že teploty nad 50 °C jej poměrně rychle ničí. Christopher aj. (1982a, b) sledovali přežívání *C. jejuni* v odstředěném mléce při teplotách 50, 55 a 60 °C po dobu 1, 3, 5, 7 a 10 min. Při teplotě 50 °C hynuly kmeny *C. jejuni* v rozmezí 3—5 min a při teplotě 60 °C všechny kmeny hynuly po 1 min.

D o y l e (1981) uvádí, že v mléce je D-hodnota při teplotě 55 °C 1 min. Naše výsledky se s uvedenými fakty shodují. Teplotu 50 °C přežil *C. jejuni* po dobu 5 min, při 55 °C se přežívání zkrátilo na 2—3 min, ale teplotu 60 °C nepřežil po dobu delší než 1 min.

Lze říci, že kritická teplota pro přežívání *C. jejuni* je 60 °C po dobu 1 min. Tyto poznatky jsou důležité zejména pro posouzení účinků pasteurace mléka a tepelného opracování masných výrobků.

Ch r i s t o p h e r (1982a) studoval termorezistenci *C. jejuni* v pečeném hovězím mase. Maso bylo opracováno tak dlouho, dokud vnitřní teplota nedosáhla 50—55 °C. *C. jejuni* se nepodařilo izolovat při dosažení teploty 57 °C v jádře, ale při 53 °C v jádře jsou určité kmeny schopny tuto teplotu přežít.

Při tepelném opracování hamburgerů *C. jejuni* přežíval teplotu 55 °C maximálně 3 min a vyšší teploty jej spolehlivě ničily. Podle předepsaného technologického postupu masné výrobky (mimo tepelně neopracované masné výrobky) se tepelně upravují tak, aby v jádře výrobku působila teplota 70 °C alespoň 10 min. To znamená, že dodržení technologického postupu zcela zabezpečuje nezávadnost výrobků z hlediska výskytu *C. jejuni*.

Při tepelném opracování záleží nejen na výši teploty, ale i na době jejího působení. Při zpracování vzorků mletého masa (hamburgerů) v mikrovlnné peci jsme zjišťovali velké nerovnoměrnosti při tepelném opracování (teplotní rozdíly v jednom vzorku byly 25—30 °C). Některá místa vzorku byla již po 3 s opracování zcela denaturována, ale jiná místa byla syrová i po jednodominutovém opracování. Toto nestejně rozložení teplot může mít velký vliv na přežívání mikroorganismů. *C. jejuni* se nám podařilo asi ve dvou případech izolovat po opracování trvajícím 1 min. Po dalším opracování byl zničen, ale některé mikroorganismy, které jsou termorezistentnější, mohou kratší tepelné opracování přežít.

Zatímco teploty nad 50 °C poměrně rychle ničí *C. jejuni*, je teplota kolem 4 °C pro jeho přežívání podstatně výhodnější.

Také S v e d h e m (1981) popisuje přežívání *C. jejuni* v kuřecím a mletém mase při teplotě 20 a 42 °C. Při skladování při 4 °C přežíval *C. jejuni* po dobu sedmi dní, při 42 a 20 °C byl zničen velmi rychle během dvou až tří dnů.

Kuřata, která byla experimentálně kontaminována *C. jejuni* s uchováváním při teplotě 4 °C, byla za sedm až osm dní zkažená, ale obsahovala ještě *C. jejuni* (O o s t e r o m, 1983).

Také naše výsledky potvrzují delší přežívání *C. jejuni* při chladiřských teplotách. Při teplotách 0 až 4 °C byl zjištěn u vepřového masa dva dny a u drůbežního pět dní.

Teplota kolem 4 °C zvyšuje odolnost *C. jejuni* vůči NaCl, snižování vlhkosti a zvyšuje se i jeho tolerance vůči kyslíku. S delším přežíváním *C. jejuni* při chladírenských teplotách musíme proto počítat při skladování soleného masa, při balení masa a chlazení. Spolu s dalšími faktory se právě teplota kolem 4 °C podílí na jeho přežívání.

C. jejuni je do jisté míry citlivý na mrazírenské teploty, ale přežívání je značně závislé na použité teplotě. Řada autorů (Hanninen, 1981; Christopher aj., 1982a, b) se shodují, že při teplotě nižší než -20 °C přežívá podstatně déle než při vyšších mrazírenských teplotách. Kratší dobu přežívání *C. jejuni* při teplotě -20 °C zjistila také Gabrhelová (1986). Při experimentální kontaminaci kuřat jej prokázala po dobu dvou týdnů.

Při našem experimentu přežíval *C. jejuni* nejlépe při -18 °C, kdy jsme jej zpětně izolovali u 60–70 % vzorků po osmi týdnech skladování, zatímco při teplotě -12 °C bylo po osmi týdnech pozitivních jen 20 % vzorků a při -5 °C jsme *C. jejuni* nezjistili po 14 dnech.

Dá se předpokládat, že zmrazením se značně redukuje počet buněk *C. jejuni*. Záleží však na řadě faktorů (použitá teplota, složení mrazicího média, počet *C. jejuni*, vlastnosti kmene *C. jejuni*), které mohou přežívání do značné míry ovlivnit.

Kromě teploty má značný význam na schopnost přežívání *C. jejuni* vlhkost prostředí a vodní aktivita. Vodní aktivita je faktor s významným selektivním vlivem na růst i přežívání mikroorganismů. Je to vlastně voda, kterou jsou schopny mikroorganismy využít. *C. jejuni* patří mezi ty mikroorganismy, které jsou velmi citlivé na vlhkost prostředí. Uradzinskí (1988) sledoval růst *C. jejuni* při různých hodnotách vodní aktivity (a_w). Nejnižší hodnoty a_w , při kterých byl pozorován jeho růst, byly mezi 0,96–0,97 v závislosti na použitém médiu a vlastnostech kmene. Oosterom (1980) ve svých výzkumech zjistil, že nucenou ventilací dojde na kontaminované kůži prasat k více než stonásobné redukci počtu *C. jejuni* během 24 h. Při chlazení bez ventilace však nebylo patrné snížení počtu *C. jejuni*.

V našem experimentu jsme osušovali povrch vepřového a hovězího masa při teplotách 4 a 20 °C. Na přežívání měla vliv použitá teplota, ale neméně důležitý byl charakter povrchu. U vepřového masa, které mělo hladký a čistý povrch přežíval *C. jejuni* 4 až 12 h v závislosti na teplotě. Naproti tomu u drůbeže, kde je kůže značně nerovná a péřové folikuly umožňují mnohem delší přežívání, jsme jej izolovali podle teploty 12 až 24 h.

Z uvedených výsledků vyplývá, že pokud je zabezpečena poměrně vysoká vlhkost prostředí, *C. jejuni* snáší celkem dobře chladírenské teploty. Tato podmínka je splněna především při chlazení drůbeže, která se u nás chladí mokrou cestou. V chladicích vanách se drůbež může vzájemně kontaminovat a po okapání je téměř ihned balena do PE sáčků. Podle našich pokusů jsme zjistili, že na takto kontaminované drůbeži přežívá *C. jejuni* čtyři až pět dnů, pokud je uložena při teplotě kolem 4 °C.

Také při balení masa je vysoká relativní vlhkost, která spolu s nízkou teplotou uchovávání a omezeným přístupem kyslíku (u vakuového balení – *C. jejuni* je mikroaerofilní mikroorganismus, popř. zvýšeným obsahem CO₂ při balení v ochranné atmosféře) umožňuje jeho dlouhé přežívání. Proto jsme je nacházeli při prostém balení 6–7 dní, u vakuově

baleného masa 10 dní a v mase baleném v ochranné atmosféře 10–13 dní, což zhruba odpovídalo údržnosti masa.

Postupné snižování hodnot vodní aktivity je velmi důležitou bariérou při výrobě tepelně neopracovaných masných výrobků (TNMV). Hodnoty a_w v čerstvě připravovaném díle se pohybují kolem 0,98. Snižování obsahu vody se děje během sušení. Tato fáze je u jednotlivých výrobků různě dlouhá. U poličanu trvá šest týdnů a hodnota a_w v expediční zralosti je asi 0,87, což představuje asi 30 % vody. Lovecký salám a gombasecká klobása mají a_w v době expedice (od 14. dne) 0,86 a obsah vody je maximálně 30 %. U herkulesu, který má expediční zralost po 19 dnech zrání a sušení, klesá a_w na 0,94–0,95, což odpovídá obsahu vody kolem 40 %. U těchto výrobků dojde během prvního týdne k takovému poklesu a_w , který spolu s ostatními bariérami (pH, laktacidogenní mikroflora, udicí kouř, NaCl) působí na zničení *C. jejuni* během sedmi dnů. Naproti tomu u čajovek a vinné klobásy, kde neprobíhá fáze sušení a zrání a proces výroby trvá dva až tři dny, nemůže dojít k uvedenému poklesu a_w a ten se neuplatňuje na eliminaci *C. jejuni* z těchto výrobků.

Na inhibici *C. jejuni* má vliv i nízké pH. Tento faktor se uplatňuje zejména u TNMV s dlouhou dobou zrání a u fermentovaných mléčných výrobků. *C. jejuni* je obecně mnohem citlivější k organickým než k anorganickým kyselinám. Z organických kyselin vzniká při biochemických procesech především kyselina mléčná. Vliv kyseliny mléčné a ostatních organických kyselin se uplatňuje například při zrání masa, při výrobě TNMV s dlouhou dobou zrání a u fermentovaných mléčných výrobků.

U TNMV je pokles pH způsoben organickými kyselinami, které vznikají rozvojem technologicky žádoucí mikroflory. Jejich vhodné antagonistické vlastnosti umožňují selekci technologicky žádoucích mikroorganismů a potlačují rozvoj nevhodných mikroorganismů, včetně *C. jejuni*. Pokles pH je zřejmý zejména během prvního týdne zrání a sušení, kdy pH klesá podle druhu výrobku na 5 až 4,6. Pokles pH a vodní aktivity spolu s účinky udicího kouře způsobují, že *C. jejuni* přežíval v díle herkulesu, poličanu, gombasecké klobásy a loveckého salámu pět až sedm dní. Čajovky a vinné klobásy představují v sortimentu masných výrobků zcela specifické výrobky. Doba od výroby k expedici trvá 48–72 h a je tedy příliš krátká, aby se mohly uplatnit nejdůležitější bariéry (pokles a_w , pH, rozvoj technologicky žádoucí mikroflory) zajišťující zdravotní nezávadnost u TNMV s dlouhou dobou zrání. U čajovek a vinné klobásy jsme prokázali *C. jejuni* po dobu tří až šesti dnů, což představuje určité nebezpečí pro konzumenty.

Kyselina mléčná má vliv na *C. jejuni* také u zakysaných mléčných výrobků. Podle Cukaj (1987) žádný z 11 testovaných kmenů *C. jejuni* a *C. coli* přidáných do jogurtu o pH 4,2–5,3 nepřežil déle než 25 min.

Při našem experimentu jsme sledovali vliv jogurtové kultury na redukci různých množství *C. jejuni* během zrání jogurtu. Po dokončení zrání došlo k poklesu *C. jejuni*, ale přesto většina vzorků jej obsahovala. K úplné redukci *C. jejuni* téměř ve všech případech došlo až po 24hodinovém uchovávání v chladničce.

C. jejuni patří mezi mikroorganismy, které jsou citlivé na přítomnost vyšších koncentrací NaCl. Podle řady autorů neroste při přítomnosti 2 % NaCl (Doyle a Roman, 1982; Hänninen, 1981; Dabrowski, 1988).

Tolerance *C. jejuni* k NaCl se zvyšuje při nízkých teplotách. Svedhem aj. (1981) zjistili, že při skladování mletého masa při teplotě 4 °C byl izolován po dobu minimálně sedmi dní, ale při teplotě 20 °C jeho počet rychle klesal a po třech dnech se jej nepodařilo prokázat.

K podobným výsledkům jsme dospěli i při našem pokusu. Při obsahu 2,4 % NaCl v prátu jsme izolovali *C. jejuni* po dobu pět až sedm dní.

! Vyšší obsah soli se uplatňuje i při snížení počtu *C. jejuni* v TNMV. Výrobky jako poličan, herkules, gombasecká klobása, lovecký salám obsahují v počátku zrání 2,5—3,0 NaCl a v době expedice se obsah soli zvyšuje na 3,7—4,0 % NaCl. Čajovky a vinná klobása obsahují 2,7—3,0 % NaCl. Obsah soli při teplotě zauzování kolem 20 °C, která zvyšuje citlivost *C. jejuni* k NaCl, je pravděpodobně schopen výrazně jej eliminovat z výrobků. Důležitou součástí výrobního postupu řady výrobků je uzení. Zvyšuje trvanlivost výrobků proti kažení a oxidačnímu žluknutí. Mimo to dodává výrobkům specifickou vůni, chuť a barvu. Na baktericidním účinku kouře se podílejí hlavně fenoly, nižší aldehydy a organické kyseliny. Baktericidní účinek kouře působí také na *C. jejuni*. Zvláště u TNMV typu čajovek se podílí na snížení jeho počtu udicí kouř. O vliv uzení a ováření na *C. jejuni* se zajímali K ü r s t t e i n e r aj. (1984), kteří jím uměle kontaminovali maso. *C. jejuni* nebyl izolován v žádném případě z uzených a ovářených výrobků nebo jen z ovářených výrobků. Pokud byly výrobky pouze zauzeny, *C. jejuni* v nich přežíval maximálně šest dní a v syrovém výrobku byl zjištěn i po 10denním skladování. Z těchto výsledků tedy vyplývá, že syrové výrobky s krátkou dobou zrání mohou být zdrojem *C. jejuni*.

ZÁVĚR

Z uvedených výsledků je zřejmé, že jednotlivé technologie představují bariéry, které v různém stupni ovlivňují *C. jejuni*. V řadě případů se nejedná o působení jedné bariéry, ale o jejich kombinaci a synergické nebo antagonistické působení. Tyto zábrany tedy nemusí působit vždy pozitivně, tzn., že se podílí na devitalizaci *C. jejuni*, ale vzájemnou kombinací mohou naopak přežívání *C. jejuni* prodlužovat.

Při chlazení masa rychle klesající vodní aktivita v povrchové vrstvě a přítomnost kyslíku redukuje počet *C. jejuni*, ale nízká teplota v chladiřných podporuje jeho přežívání až na dva dny.

Na povrchu chlazené drůbeže dochází naopak ke kombinaci vysoké hodnoty a_w spolu s nízkou teplotou a výsledkem je přežívání *C. jejuni* až pět dnů. Nízké teploty používané k mražení přispívají pouze částečně k likvidaci *C. jejuni*, takže může přežívat v závislosti na jiných faktorech v mražených potravinách nebo surovinách v širokém intervalu dvou až osmi týdnů. Balením se značně prodlužuje schopnost přežívání *C. jejuni*, protože zde působí několik faktorů, které se navzájem doplňují. Jedná se především o vysokou vlhkost v balíčku spolu s nízkou teplotou při skladování a omezeným přístupem kyslíku, popř. zvýšeným obsahem CO₂. Proto jsme jej nacházeli při prostém balení šest až sedm dní, u vakuově baleného masa 10 dní a v mase baleném v ochranné atmosféře 10—13 dní.

Při solení se využívá značné citlivosti *C. jejuni* vůči NaCl, ale tento účinek je částečně tlumen nízkou teplotou při skladování suroviny. V soleném mělněném mase jsme zjistili přežívání *C. jejuni* po dobu sedmi

dnů. U TNMV s dlouhou dobou zrání (minimálně 14 dnů) se uplatňuje celá řada zábran, které se podílejí na odstranění *C. jejuni*. Mezi dominantní bariéry patří nízká hodnota vodní aktivity, nízké pH, způsobené vznikem organických kyselin a antagonistický vliv ostatní mikroflóry. K dalším bariérám patří především vysoký obsah NaCl, účinek udicího kouře a částečně i teplota během zrání a sušení. Tyto bariéry ničí *C. jejuni* během sedmi dní. U tepelně neopracovaných výrobků s krátkou dobou údržnosti (dva až tři dny) je působení bariér omezeno. Uplatňuje se pouze snížený obsah vody výrobků, vliv NaCl a u některých i účinek udicího kouře. V těchto výrobcích může *C. jejuni* přežít dva až šest dnů podle druhu výrobku.

Při výrobě fermentovaných mléčných výrobků se výrazně na eliminaci *C. jejuni* uplatňují nízké pH, způsobené především kyselinou mléčnou a antagonistické působení mikroflóry. Výsledkem je, že asi za 24 h po výrobě je *C. jejuni* v těchto produktech zničen.

Pouze tepelné opracování teplotou nad 60 °C představuje jednu dominantní bariéru, která sama o sobě spolehlivě ničí *C. jejuni*, a to podle použité teploty během jedné minuty až několika sekund.

Účinnost většiny technologických postupů při zpracování potravin je tedy nedostatečná, protože devitalizuje *C. jejuni* pouze částečně. Zcela jej devitalizuje pouze tepelné opracování nad 60 °C a výroba TNMV s dobou zrání minimálně 14 dnů.

U TNMV s krátkou dobou zrání bychom doporučovali požívat jen surovinu získanou za zprísňených hygienických podmínek. Doporučovali bychom také vyšetřovat maso určené pro výrobu těchto výrobků na přítomnost *C. jejuni*.

U všech potravin je nutné kromě dodržování technologických postupů zabezpečit dodržování hygienických požadavků při manipulaci se syrovým masem a hotovými potravinami.

Nezbytné je také zajistit odpovídající dezinfekci a zabránit sekundární kontaminaci potravin.

Literatura

- ALDOVÁ, E. — KAHLICH, R. — LOCHMAN, O. — PALEČEK, A.: Návrh standardní metody mikrobiologické diagnostiky nákaz vyvolaných *Campylobacter jejuni*. Acta Hyg. Epidem. Microbiol., příloha 11, Praha, IHE 1985, 24 s.
- ČUK, Z. — ANNAN-PRAH, A. — JANC, M. — SALTER, J.: Yogurt: an unlikely source of *Campylobacter jejuni coli*. J. appl. Bacteriol., 63, 1987, s. 201–205.
- DABROWSKI, J.: Charakteristika termofilnych drobnoustrojów z rodzaju *Campylobacter* izolovaných z różnych zrodel. III. Przeżywalność *C. jejuni* w wyciągu miesnym z dodatkiem związków chemicznych. Roczn. Panstw. Zakł. Hig., 39, 1988, č. 2, s. 131–137.
- DOYLE, M. P. — ROMAN, E. J.: Prevalence and survival of *Campylobacter fetus* subsp. *jejuni* as a function of temperature and pH. J. Fd Protect., 44, 1981, č. 8, s. 596–601.
- DOYLE, M. P. — ROMAN, D. J.: Response of *Campylobacter jejuni* to sodium chloride. Appl. Environ. Microbiol., 44, 1982, č. 3, s. 561–565.
- GABRHELOVÁ, M.: *Campylobacter* — jeho průkaz a identifikace. In: Sbor. Ref. Vzájemný vztah mikroorganismů a potravin a metody sledování. Liblice, 1986, s. 21–25.
- HÄNNINEN, M. L.: Survival of *Campylobacter jejuni/coli* in ground refrigerated and in ground frozen beef liver and in frozen broiler carcasses. Acta veter. Scand., 22, 1981, s. 566–577.
- CHROSTOPHER, F. M. — SMITH, G. C. — VANDERZANT, C.: Effect of temperature and pH on the survival of *Campylobacter fetus*. J. Fd Protect., 45, 1982a, č. 3, s. 253–259, 260–263.

- CHRISTOPHER, F. M. — SMITH, G. C. — VANDERZANT, C.: Examination of poultry giblets, raw milk and meat for *Campylobacter jejuni* subsp. *jejuni*. J. Fd Protect., 45, 1982b, č. 3, s. 260—263.
- KÜSTNER, P. — SCHIFFERLI, D. — LANZ, E. — NICOLET, J.: Wurst- und Schlachtkörper-Kontamination mit *Campylobacter jejuni* und *coli*. Fleischwirtschaft, 64, 1984, č. 11, s. 1395—1397.
- OOSTEROM, J.: The presence of *Campylobacter jejuni* susp. *jejuni* in normal slaughtered pigs. Tijdschr. biergeneesk., 105, 1980, s. 49—50.
- OOSTEROM, J. — NOTERMANS, S. — KARMAN, H. — ENGELS, G. B.: Origin and prevalence of *Campylobacter jejuni* in poultry processing. J. Fd Protec., 46, 1983, č. 4, s. 339—344.
- SVEDHEM, A. — KAIJSER, B. — SJÖRGEN, E.: The occurrence of *Campylobacter jejuni* in fresh food and survival different conditions. J. Hyg. Camb., 87, 1981, s. 421—425.
- URADZIŃSKI, J.: Wpływ aktywności wodnej na wzrost *Campylobacter jejuni* w wyciągu mózgowo-sercowym. Rosz. Państw. Zakł. Hig., 39, 1988, č. 2, s. 139—144.

Došlo dne 9. 4. 1990

TOMANCOVÁ, I. — STEINHAUSER, L. — MATYÁŠ, Z. (Institute of Hygiene and Epidemiology, Brno; University of Veterinary Medicine, Brno): *Technological effects on the survival of Campylobacter jejuni in foods of animal origin*. Veter. Med. (Praha), 36, 1991 (6): 373—380.

The effects of some technologies (cooling, freezing, salting, packaging, fermentation, cold smoking, heat treatment) on the survival of *Campylobacter jejuni* were investigated. The different technological procedures can be considered as barriers influencing to a certain degree the survival of *C. jejuni*. The low value a_w on the surface of chilled meat and oxygen presence reduce the occurrence of *C. jejuni*, but the low storage temperature prolongs the survival of *C. jejuni* to two days. In chilled poultry the high relative water content is combined with the low temperature and *C. jejuni* is able to survive even for five days. In the freezing process the low temperature has only partial effects on *C. jejuni* devitalization; *C. jejuni* can survive in this case for two to eight weeks. The survival of *C. jejuni* is prolonged considerably by packaging: six to seven days in polyethylene sheet, 10 days in vacuum packing and 10 to 13 days in gas packing (80 % N_2 and 20 % CO_2). NaCl can partly devitalize *C. jejuni*, and in comminuted meat it survives for five to seven days. In the non-precooked meat products (TNMV) and with the minimally fortnight time of ripening a number of barriers play their role which are destroying *C. jejuni* (a_w , pH, antagonistic microflora). Due to these barriers *C. jejuni* was isolated in these products maximally for seven days. In this type of products with short durability (two to three days) the action of barriers is limited, that means *C. jejuni* could be demonstrated for two to six days. In the process of lactic fermentation, *C. jejuni* is influenced largely by the low pH values and antagonistic effects of microflora. The temperature above 60 °C acting for a minute eliminates perfectly *C. jejuni* from foods. The efficiency of different technological procedures with respect to *C. jejuni* devitalization is not high enough in many cases because the germ counts are reduced only partially. The only exceptions are heat treatment at the temperature of 60 °C and the non-precooked meat products (TNMV) with long time of ripening (minimally a fortnight).

foods of animal origin; *Campylobacter jejuni*; cooling; freezing; salting; packaging; fermentation; cold smoking; heat treatment

Adresy autorů:

MVDr. Iva Tomanová, Institut hygieny a epidemiologie, Palackého 1—3, 612 42 Brno

MVDr. Ladislav Steinhauser, CSc., prof. MVDr. Zdeněk Matyáš, CSc., Vysoká škola veterinární, Palackého 1—3, 612 42 Brno

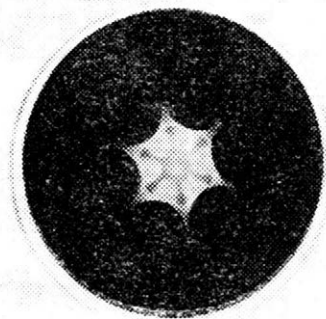
METODIKA IZOLACE ČISTÝCH KULTUR INVAZNÍCH LAREV STŘEVNÍCH HLÍSTIC RODU *Strongyloides* A PODŘÁDU *Strongylata*

Nákazy hospodářských zvířat vyvolané helminty způsobují i v současných podmínkách chovů značné ekonomické ztráty a proto jejich efektivní diagnostika je základem pro úspěšné léčení i volbu optimálních preventivních opatření.

Telata a jehňata jsou velmi často nakažena střevní hlísticí *Strongyloides papillosus* (podřád *Rhabditata*, rod *Strongyloides*). Mezi významné nematody zažívacího traktu přežvýkavců patří zejména zástupci podřádu *Strongylata* (rod *Chabertia*, *Bunostomum*, *Oesophagostomum*, *Trichostrongylus*, *Ostertagia*, *Cooperia*, *Haemonchus*, *Nematodirus*, *Dictyocaulus*). Strongyloidi a strongyláta jsou geohelminți. Jejich společnou biologickou zvláštností (kromě plicnívek) je, že z vajíček vyloučených trusem nakaženého hostitele se v určité fázi vývoje uvolňují larvy, které ve vnějším prostředí dozrávají až do infekčního stadia. Většina vajíček strongylát je však velikostí i strukturou značně podobná, takže jejich přesné taxonomické určení je velmi obtížné při použití metodik ovoskopického vyšetřování. Z těchto důvodů se proto používají helmintolaryoskopické metody, kterými se získávají z výkalů nebo jiných substrátů (tráva, půda, homogenáty tkání z různých orgánů) larvy. Diagnostika strongyloidů a strongylát se tedy provádí na základě invazních larev, které svými rozměry a morfologií charakterizují daný rod, případně i druh.

Vývoj invazních larev je závislý na teplotě a vlhkosti prostředí, ve kterém probíhá kultivace příslušného substrátu. V našich podmínkách se používá metoda koprokultury podle Chrousta a Hulínského (1967). K získávání invazních larev nematodů po kultivaci trusu, případně i jiných substrátů, se v helmintologii používá obecně známá metoda podle Baermannova (1917).

V rámci vědecké spolupráce mezi Parazitologickým ústavem ČSAV (České Budějovice, ČSFR) a Vsesvazovým vědeckovýzkumným helmintologickým ústavem K. I. Skrjabina (Moskva, SSSR) jsme vypracovali novou metodiku izolace čistých kultur strongyloidů a strongylát s použitím speciální diagnostické laboratorní pomůcky nazývané pro její vzhled L-STAR (obr. 1 a 2), za kterou bylo získáno autorské osvědčení č. 1391625. Metodika využívá biologických vlastností invazních larev uvedených nematodů — schopnosti vertikální migrace. Larvy se koncentrují v rezervoáru L-STAR, který je naplněn vhodnou tekutinou. Pomůcka byla zkonstruována tak, aby byl zabezpečen její těsný kontakt s vyšetřovaným substrátem (křídélka) a zajištěna přítomnost tenké vrstvy kapilární vlhkosti po celém jejím povrchu (rýhování), která je významným faktorem pro migraci zralých invazních larev.



1. Speciální diagnostická laboratorní pomůcka (L-STAR) umístěná ve středu Petriho misky (pohled shora) — Special diagnostic laboratory aid (L-STAR) placed in the middle of Petri dish (from above)



2. Kontrola průběhu kultivace na přítomnost invazních larev strongyloidů a strongylát v rezervoáru L-STAR — A check of cultivation process for the presence of invader larvae of strongyloids and strongylata in the L-STAR reservoir

1. Vzorky trusu (stolice nebo jiného substrátu) o hmotnosti 15—30 g se kultivují v Petriho miskách při laboratorní teplotě nebo v termostatu (25—28 °C) běžně používanými kultivačními metodikami.

Po uplynutí potřebné doby k vývoji invazních larev (pro larvy *S. papillosus* 2—4 dny, pro larvy strongylát 8—10 dnů, larvy plicnívek bez kultivace) se vloží L-STAR do středu vyšetřovaného materiálu až na dno Petriho misky. Pomocí špachtle (lopatičky, skleněné tyčinky apod.) se trus přibližuje k laboratorní pomůcce tak, aby byl zajištěn co nejtěsnější kontakt substrátu s křídélky po celém obvodu. Jímka o objemu 2,5—3 ml se naplní až po okraj vlažnou vodou (destilovanou, převařenou i vodo-vodní) nebo fyziologickým roztokem s antibiotiky (v závislosti na cíli izolace kultury larev) až po okraj, miska se uzavře a umístí opět do termostatu. Invazní larvy postupně migrují po povrchu substrátu, po stěnách L-STAR a zejména v rýhách křídel a následně se koncentrují v rezervoáru tohoto zařízení.

Početnost izolovaných invazních larev závisí na intenzitě nákazy. Při vysokém počtu larev se již po jedné až dvou hodinách larvy soustřeďují především v oblasti dna jímky, tekutina v ní má bělavou matnou barvu, což je možné pozorovat i pouhým okem. Při nižším výskytu larev je třeba po delším časovém období prohlédnout obsah rezervoáru při dopadajícím světle pod lupou.

Diagnostika invazních larev s určením rodu, případně druhu se provádí pod mikroskopem po přenesení 3—5 kapek tekutiny z rezervoáru na podložní sklíčko. Pro získávání početné kultury larev se v příslušných intervalech opakovaně jímka L-STAR doplňuje tekutinou a odsává. Invazní larvy se k dalším účelům uchovávají při chladničkové teplotě +4 °C.

2. L-STAR lze použít přímo během procesu samotné kultivace vyšetřovaného materiálu na přítomnost strongyloidů a invazních larev strongylát. Kolem L-STAR v Petriho misce se přiloží stejným způsobem (viz bod 1.) substrát, rezervoár se naplní vhodnou tekutinou a umístí se do termostatu, kde probíhá kultivace, vývoj larev a jejich následná migrace do jímky laboratorní pomůcky. Diagnostika, izolace a shromažďování in-

vazních larev je v dalších krocích stejná jak je uvedeno v bodu 1. Doporučujeme periodicky kontrolovat naplněnost rezervoáru tekutinou.

Výše popsaná metodika umožňuje získat skutečně čistou kulturu invazních larev strongyloidů a strongylát nejen pro účely diagnostické ve veterinární a humánní medicíně, ale i k účelům vědeckým (efektivní příprava kultury nematodů k experimentálním nákazám, časová diferenciacie invazních larev z hlediska nezbytně potřebné doby k jejich vývoji, k přípravě antigenů z invazních larev pro imunologické studie apod.). L-STAR lze efektivně použít pro zjišťování promoření pastvin, půdy, výběhů a jiných prostředí invazními larvami gastrointestinálního traktu. V porovnání s jinými metodikami je velmi jednoduchá, časově nenáročná a zabezpečuje zdravotně nezávadné hygienické podmínky z hlediska bezpečnosti práce v parazitologické laboratoři.

Při opakovaném ověřování efektivnosti uvedené metodiky s metodou podle Baermannna (do sterilního trusu jsme nanášeli určitý počet invazních larev) jsme zjistili, že naší metodou jsme zpětně získali 12 až 43,9 %, metodou podle Baermannna (1917) — 27—35,5 % invazních larev.

Na základě těchto výsledků i údajů uvedených výše doporučujeme tuto metodiku pro její jednoduchost a účinnost všem veterinárním i humánním parazitologickým laboratorím i vědeckým pracovištím k diagnostice a získávání čistých kultur invazních larev strongyloidů a strongylát.

Současně sdělujeme, že komplet L-STAR (obsahuje 10 ks L-STAR, lopatky a pipetu) lze objednat na adrese: Dipl. ing. Emil Repka, Kirovo-va 15, 625 00 Brno (ČSFR).

Literatura

BAERMANN, G.: Eine einfache Methode zur Auffindung von Ankylostomum (Nematoden) Larven in Erdproben. Geneesk. Tijdschr. Nederl.-Indie, 57, 1917, s. 131—137.

CHROUST, K. — HULÍNSKÁ, I.: Veterinární vyšetřovací metody II. 1967, s. 279—326.

Došlo dne 13. 11. 1990

PAVLÁSEK, I. — NIKITIN, V. F. (Institute of Parasitology of the Czechoslovak Academy of Sciences, České Budějovice; K. J. Skrjabin All-Union Institute of Helminthology, Moscow): Methodics of isolating pure cultures of invader larvae of intestinal helminths: Strongyloides genus, Strongylata suborder. Veter. Med. (Praha), 36, 1991 (6): 381—383.

A special diagnostic laboratory aid L-STAR has been made and new methodics has been worked out of isolating pure cultures of invader larvae of *Strongyloides papillosus* and nematodes of ruminant gastrointestinal tract of the *Strongylata* suborder from various substrates. L-STAR competes successfully with a currently used device and with potential modifications of Baermann's method (1917). Invader larvae of strongyloids and strongylata are easy to recover in a short time if L-STAR is used. When the material is treated and examined in veterinary and human parasitological laboratories, or when the material is recovered directly in field conditions (on pastures, in runs, etc.), safe and hygienic conditions are secured with respect to labour safety in an infectious environment. This aid can be used not only for diagnostics, but also for effective isolation of pure cultures of invader larvae for further studies and experimental purposes.

ruminants; *Strongyloides papillosus*; *strongylata*; special diagnostic laboratory aid (L-STAR)

Adresy autorů:

Ing. Ivan Pavlásek, DrSc., Parazitologický ústav ČSAV, Branišovská 31, 370 05 České Budějovice

Prof. V. F. Nikitin, DrSc., Vsesvazový helmintologický ústav K. I. Skrjabin, Moskva, SSSR

Upozornění pro přispěvatele a čtenáře časopisu

VETERINÁRNÍ MEDICÍNA

Pro lepší zpřístupnění výsledků československého výzkumu zahraničním odběratelům rozhodla redakční rada časopisu VETERINÁRNÍ MEDICÍNA, počínaje ročníkem 1991 uveřejňovat rozšířené, podrobně zpracované (s odkazy na tabulky a obrázky) souhrny v angličtině. Od ročníku 1992 budou tyto souhrny podmínkou pro přijetí příspěvků do tisku.

Proto žádáme autory našeho časopisu, aby příspěvky zasílané do redakce vybavili kratším souhrnem, který bude publikován v češtině či slovenštině, a dále delším souhrnem (v rozsahu do dvou rukopisných stran), který bude přeložen do angličtiny.

Doufáme, že se toto opatření setká s příznivým ohlasem jak u autorů, tak i u čtenářů našeho časopisu.

Redakce časopisu

KONCENTRÁCIE cAMP, cGMP, 17 BETA-ESTRADIOLU A PROGESTERÓNU VO FOLIKULÁRNEJ TEKUTINE NAJVÄČŠIEHO FOLIKULU KRÁV Z FOLIKULÁRNEJ FÁZY POHLAVNÉHO CYKLU A PO SUPEROVULAČNOM OŠETRENÍ SO SÉROVÝM GONADOTROPÍNOM

L. Lazár, J. Hajurka

LAZÁR, L. — HAJURKA, J. (Ústav experimentálnej veterinárnej medicíny, Košice): *Koncentrácie cAMP, cGMP, 17 beta-estradiolu a progesterónu vo folikulárnej tekutine najväčšieho folikulu kráv z folikulárnej fázy pohlavného cyklu a po superovulačnom ošetrení so sérovým gonadotropínom*. Veter. Med. (Praha), 36, 1991 (7): 385—392.

Porovnávali sme koncentrácie 17 beta-estradiolu (E_2), progesterónu (P_4), cyklického adenosínmonofosfátu (cAMP) a cyklického guanosínmonofosfátu (cGMP) vo folikulárnej tekutine najväčších folikulov kráv v závislosti na steroidnej dominancii (estrogén dominantné-ED, progesterón dominantné-PD) z vaječníkov získaných od kráv so synchronizovanou rujou cloprostenolom (Oestrophon, Spofa) a superovulovaným PMSG (Sérový gonadotropín, Bioveta, Ivanovice na Hané) a to 48 a 72 hodín po druhej dávke cloprostenolu a kontrolných kráv vo folikulárnej fáze neovplyvneného pohlavného cyklu. Priemerné koncentrácie cAMP boli v ED folikuloch z folikulárnej fázy pohlavného cyklu významne vyššie než pri kravách so stimulovaným rastom folikulov 48 resp. 72 hodín po druhej dávke cloprostenolu. Pri PD folikuloch boli koncentrácie cAMP a cGMP z folikulárnej fázy pohlavného cyklu tiež vyššie ako po stimulácii rastu folikulov, ale bez signifikancie. Priemerné koncentrácie E_2 v ED folikuloch boli najvyššie 48 hodín po druhej dávke cloprostenolu, významne vyššie ako po 72. hodine pri $P < 0,01$, alebo vo folikulárnej fáze pohlavného cyklu pri $P < 0,01$. Pri PD folikuloch sa najvyššie koncentrácie E_2 zistili vo folikuloch z folikulárnej fázy pohlavného cyklu vyššie ako po navodení ich rastu v 48. hodine resp. 72 hodín po druhej dávke cloprostenolu bez zistenia štatistickej významnosti. Priemerné koncentrácie P_4 boli vyššie ako v ED, tak PD folikuloch po ošetrení syntetickým analógom PGF $_{2\alpha}$ so sérovým gonadotropínom v porovnaní s folikulmi z folikulárnej fázy pohlavného cyklu kráv pri PD folikuloch vysoko signifikantne ($P < 0,001$). Výrazné rozdiely v koncentráciách cAMP, cGMP a P_4 vo folikuloch z folikulárnej fázy pohlavného cyklu a po superovulačnom ošetrení s PMSG poukazujú na možný negatívny vplyv sérového gonadotropínu na vnútorné prostredie a vývoj predovulačných folikulov.

cAMP; cGMP; 17 beta-estradiol; progesterón; superovulácia; PMSG (sérový gonadotropín)

Rozmnožovanie cicavcov je zložitý proces, ktorý je založený na produkcii oocyty, ktorý je schopný oplodnenia a ďalšieho vývoja v plnohodnotné embryo. Preto poznatky okolo vývoja a rastu folikulov pri normálne cykľujúcich zvieratách sú východiskom pri výbere používania synchronizačných a superovulačných postupov, resp. terapie ovulačných porúch.

POKYNY PRO AUTORY VĚDECKÉHO ČASOPISU VETERINÁRNÍ MEDICÍNA

Časopis VETERINÁRNÍ MEDICÍNA uveřejňuje původní práce, recenze apod.

Autor je plně odpovědný za původnost práce a za její věcnou i formální správnost. K práci musí být připojeno prohlášení autora o tom, že práce nebyla publikována jinde.

O uveřejnění práce rozhoduje redakční rada časopisu, a to se zřetelem k lektorským posudkům, vědeckému významu a přínosu i kvalitě prací. Jednotlivé práce nemají mít rozsah větší než 10 až 12 stran psaných na stroji se všemi přílohami.

Technická úprava rukopisu. Úprava rukopisu má odpovídat ČSN 88 0220 (formát A, 30 řádek na stránku, 60 úhozů na řádku, tzn., že mezi řádky se dělají dvojitě mezery). Ilustrace, grafy, tabulky a fotografie (černobílé) mají vyhovovat ČSN 88 2109, dodávají se zvlášť a nepodlepují se. Rýsují se tuší na bílý nebo pauzovací papír a popisují se jednotnou velikostí písma (šablona 3,5 mm). Na zadní straně se vyznačí tužkou pořadové číslo obrázku a napíše se jméno autora článku. Texty k obrázkům se dodávají na zvláštním listě, umístění obrázků se označuje na levém okraji příslušné strany rukopisu číslicí v kroužku. Tabulky se číslují římskými číslicemi. Na všechny obrázky i tabulky musí být v textu práce odkazy. Pro překlad do angličtiny je nutné vysvětlit všechny použité zkratky.

Úprava vlastní práce. Název práce nemá přesahovat 85 úhozů. Je nutné se v názvu vyvarovat obecných frází jako: Studie o..., Příspěvek k... Každý zaslaný článek musí být samostatnou prací, nemohou být publikovány články na pokračování, stejně tak jsou vyloučeny podtituly článků.

Jména autorů se uvádějí bez titulů — příjmení a první písmeno jména.

Souhrn. Vypracování souhrnu je nutné věnovat obzvláštní péči. Autor do něho má shrnout vše, co je na jeho práci pozoruhodné a nové a co má být dokumentováno. Souhrn má být nekritickým informačním výběrem významného obsahu a závěru, nikoliv však jeho pouhým popisem. Musí vyjádřit všechno podstatné, co je obsaženo ve vědecké práci, nemá ji však nahradit. Nesmí překročit rozsah 170 slov. Je třeba, aby byl psán celými větami, nikoliv telegrafickým způsobem. Pro překlad do angličtiny se požaduje souhrn delší (do dvou rukopisných stran) s odkazy na tabulky a obrázky, popř. s anglickými odbornými termíny nebo už přeložený do angličtiny. Souhrn začíná jménem autorů, názvem pracoviště a jeho sídlem (v závorce), titulem článku a citací: Veter. Med. [Praha], 00, 1990. Místa označená nulami doplní na kompletní citaci při korektuře redakce.

Klíčová slova. Pod souhrn je nutno po vynechání řádky připojit klíčová slova. Ta mají sloužit k rychlé orientaci a při zařazování práce do kartotéky. Klíčových slov by nemělo být méně než 3 a více než 12. Začínají malým písmenem a oddělují se středníkem.

Úvod. Úvod má obsahovat hlavní důvody proč byla práce uskutečněna a velmi stručnou formou stav studované otázky. Je nutné se v něm vyhnout rozsáhlým historickým přehledům. Uvádí se bez nadpisu, je možné v něm uvést k práci se vztahující citaci autorů (doporučuje se co nejnížší počet citací — čtyři až osm autorů).

Materiál a metody. Metody se popisují pouze tehdy, jsou-li původní, jinak postačuje citovat autora metod a uvádět jen případné odchylky. Je v nich popsán pokusný materiál. Popis metod by měl umožnit, aby kdokoli z odborníků mohl podle něho a při použití uvedených citací práci opakovat.

Výsledky. Doporučuje se nepoužívat k vyjádření kvantitativních stavů tabulek a dát přednost grafům nebo tabulkám shrnout ve statistickém hodnocení naměřených hodnot. Tato část by neměla obsahovat teoretické závěry ani dedukce, ale faktické nálezy.

Diskuse. Diskuse obsahuje zhodnocení práce. Diskutuje se o možných nedostacích a práce se konfrontuje s výsledky dříve publikovanými (požaduje se citovat jen ty autory, kteří mají k publikované práci bližší vztah), pokud mají souvislost nebo pokud jsou s předloženou prací nějak srovnatelné.

Literatura. V textu se při citaci uvede jméno autora a rok publikování. Do seznamu se zařadí všechny práce citované v textu článku, a to podle abecedy, bez číslování, každá citace na novém řádku. Je-li více prací od téhož autora ve stejném roce, přidá se k letopočtu označení a, b, c. Literatura musí odpovídat ČSN 01 0197.

Zkratky názvů časopisů je třeba dodržovat podle publikace doc. Bojňanského a kol., vydané v roce 1982 Slovenskou akadémiou věd pod názvem Periodiká z oblasti biolo-gicko-poľnohospodárskych vied, ich citácie a skratky.

Adresa autora. Na zvláštním listě uvede autor akademický titul, jméno (ne jen zkratku), příjmení, vědeckou hodnost a podrobnou adresu pracoviště (SOPSC, 10122, Praha 10). Uvede i pro spoluautory.



Rukopisy odevzdány k tisku 17. 5. 1991 — Podepsáno k tisku 12. 12. 1991

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 25 75 41 • Vytiskly OSTRAVSKÉ TISKÁRNY, s. p., provoz 21, Ostrava 1, Novinářská 7
© Ústav vědeckotechnických informací pro zemědělství, Praha 1991

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, 657 07 Brno; PNS—ÚED Praha, závod 03, 28. října 206, 709 90 Ostrava 9.