

ÚSTAV ZEMĚDĚLSKÝCH A POTRAVINÁŘSKÝCH
INFORMACÍ

VETERINÁRNÍ MEDICÍNA

2

ROČNÍK 38 (LXVI)
PRAHA 1993
CS ISSN 0375-8427

ČESKÁ AKADEMIE ZEMĚDĚLSKÝCH VĚD
SLOVENSKÁ AKADEMIA PÔDOHOSPODÁRSKYCH VIED

The journal publishes experimental papers and reviews from all spheres of veterinary medicine

The contents of all editions and paper summaries are covered by Current Contents - Agriculture, Biology and Environmental Sciences

Editorial Board - Redakční rada

Prof. MVDr. Jan B o u d a , DrSc., University of Veterinary and Pharmaceutical Sciences, Brno, Czech Republic

Prof. MVDr. Bohumír H o f í r e k , DrSc., University of Veterinary and Pharmaceutical Sciences, Brno, Czech Republic

Prof. MVDr. Karel H r u š k a , CSc., (Chairman), Veterinary Research Institute, Brno, Czech Republic

Doc. MVDr. Gabriel K o v á č , DrSc., University of Veterinary Medicine, Košice, Slovak Republic

Doc. MVDr. Imrich M a r a č e k , DrSc., Research Institute of Experimental Veterinary Medicine, Košice, Slovak Republic

Doc. MVDr. Zdeněk P o s p í š i l , CSc., University of Veterinar and Pharmaceutical Sciences, Brno, Czech Republic

Doc. MVDr. Ivan R o s i v a l , CSc., Research Institute of Experimental Veterinary Medicine, Košice, Slovak Republic

Prof. MVDr. Bohumil Š e v č í k , DrSc., Research Institute of Feed Supplements and Veterinary Drugs, Jílové u Prahy, Czech Republic

Editor in Chief - Vedoucí redaktorka

Ing. Zdenka Radošová

VPLYV FLAVOMYCINU, SALINOMYCINU A LASALOCIDU NA FERMENTÁCIU KŔMNEJ DÁVKY *IN VITRO*

D. Jalč, M. Baran, P. Siroka

Ústav fyziológie hospodárskych zvierat SAV, Košice

V pokuse bol sledovaný vplyv dodania flavomycínu (F) - 6 ppm, salinomycínu (S) - 12 ppm a lasalocidu (L) - 33 ppm na fermentáciu kŕmnej dávky pozostávajúcej zo sena a jačmeňa (80:20 %) v umelom bachore (Rusitec). Základné a súčasne aj konečné produkty fermentácie ako aj účinnosť syntézy mikrobiálnej hmoty boli najviac ovplyvnené salinomycinom a lasalocidom. Obidva ionofóry významne znížili stráviteľnosť detergentnej vlákniny, celulózy a hemicelulózy kŕmnej dávky. S a L významne zvýšili produkciu celkových UMK, hlavne však kyseliny propiónovej (+75 %, resp. +100 %). Znížili pomer acetát:propionát (-40 %, resp. -52 %) a produkciu ostatných UMK, t. j. kyseliny n-maslovej, n- a izovalérovej. V dôsledku tohto vplyvu na UMK S a L zvýšili energetickú výťažnosť UMK, produkciu adenosintrifosfátu (ATP), množstvo fermentovateľných hexóz a fermentovanej organickej hmoty. Flavomycín spomínané produkty fermentácie významne neovplyvnil. Celková produkcia bakteriálnej sušiny zbytkového krmiva a efluentu bola znížená všetkými ionofórmami. Účinnosť syntézy mikrobiálnej hmoty vyjadrená vo forme Y_{ATP} a v g mikrobiálneho dusíka na kg fermentovanej organickej hmoty (OMF) bola významne znížená oproti kontrole len S a L a predstavovala pokles Y_{ATP} z 12,4 (kontrola) na 8,29(S), resp. 9,34 g (L) a z 24,94 (kontrola) na 18,84 (S), resp. 22,02 g (L) mikrobiálneho N/kg OMF. Celková mikrobiálna sušina (protozoálna a bakteriálna) efluentu a zbytkového krmiva tiež bola znížená vplyvom všetkých ionofórov, čo sa prejavilo aj v zníženej koncentrácii amoniakálneho dusíka v efluente, avšak len pri podaní S a L.

umelý bachor; flavomycín; salinomycín; lasalocid; produkcia UMK; detergentná vláknina; účinnosť syntézy mikrobiálnej hmoty

Ionofóry sú vysoko lipofilické substancie, ktoré sú toxické pre väčšinu baktérií, protozoí a plesní a teda naplňujú klasickú definíciu antibiotík (Pressman, 1976). Jednou z ich výhod je schopnosť zlepšovať využiteľnosť krmiva u prežúvavcov, pričom bachorová fermentácia je charakterizovaná zvýšenou produkciou propionátu, čiastočnou inhibíciou metanogenézy. V širokej škále boli ionofóry preskúšané u prežúvavcov v pokusoch *in vivo*: monenzín (Goodrich a i., 1984), lasalocid (Thonney a i., 1981), narazin (Droumev a i., 1988), flavomycín (Murray a i., 1990), salinomycín (Ulbrich a i. 1990), resp. v pokusoch *in vitro*: avoparcin (Jouany a Thivend, 1986) abierixin a calcimycín (Bogäert a i., 1989; Gomez a i., 1990).

Cieľom tejto práce bolo porovnať vplyv flavomycínu, salinomycínu a lasalocidu na fermentáciu základnej kŕmnej dávky (seno a jačmeň, 80:20 %) v umelom bachore (Rusitec), t. j. na základné a ostatné produkty bachorovej fermentácie a na účinnosť syntézy mikrobiálnej hmoty.

MATERIÁL A METÓDY

Fermentácia kŕmnej dávky prebiehala v umelom bachore (Rusitec) ako ho opisuje C z e r k a w s k i a B r e c k e n r i d g e (1977). Objem fermentačných nádob bol 850 ml a prietok umelých slín (M c D o u g a l l, 1948) 813 - 845 ml za deň. Ako inokulum sme použili bachorový obsah dospelých baranov plemena merino kŕmených dobrým lúčnym senom (1200 g za deň). Zvieratá mali prístup k vode a minerálnemu lízu pre ovce. Tekutý bachorový obsah sme odobrali cez bachorovú fistulu pomocou vývevy a tuhý bachorový obsah kliešťami. Experiment sme uskutočnili v štyroch fermentačných nádobách (V) Rusitecu. 80 g pevnej tráveniny bolo navážená do nylonových vrecúšok o veľkosti ôk 200 μ m a danej do fermentačných nádob V₁ až V₄, ktoré boli naplnené zmesou bachorovej tekutiny a M c D o u g a l l o v h o p u f r u (1:1). V denných intervaloch zahrňujúc 1. deň experimentu všetky nádoby boli tiež doplnené kŕmnou dávkou pozostávajúcou zo 11,69 g sušiny (DM) sena a 2,81 g DM jačmeňa (80:20 %).

Ionofóry - flavomycín, salinomycín a lasalocid sme rozpustili v 96 % metanole a počnúc od 2. dňa experimentu sme denne pridali do V₁ - 1 ml 96% metanolu, do V₂ 4,35 mg (6 ppm) flavomycínu, do V₃ - 2,9 mg (12 ppm) salinomycínu a do V₄ - 4,78 mg (33 ppm) lasalocidu rozpustených v 1 ml 96% metanolu. Flavomycín bol použitý vo forme 2% premixu (Flavofarm, Pharmachim Sofia), salinomycín vo forme 6% premixu (Salinofarm, Pharmachim Sofia) a lasalocid vo forme 10% premixu. Do 1 litra M c D o u g a l l o v h o p u f r u pretekajúceho cez peristaltickú pumpu do Rusitecu sme denne dodali 224 mg močoviny, čím sme dosiahli, že kŕmna dávka v každej fermentačnej nádobe obsahovala 13 % hrubého proteínu (CP).

Experiment trval 14 dní. Počas prvých 7 dní (steady state period) sa stabilizovali podmienky fermentácie. Na 8. - 14. deň sme odoberali vzorky efluentu (vytekajúca fermentačná zmes), plynov a nestrávených zvyškov krmiva na analýzy ako to uvádza C z e r k a w s k i a B r e c k e n r i d g e (1977). Koncentráciu unikavých mastných kyselín (UMK) v efluente sme stanovili metódou plynovej chromatografie (C o t t y n a B o u c q u e, 1968) za použitia kyseliny krotónovej ako interného štandardu na plynovom chromatografe Perkin-Elmer 8500. Objem produkovaných plynov bol meraný prietokovým plynomerom a plyny (metán a CO₂) boli analyzované plynovou chromatografiou (C z e r k a w s k i a C l a p p e r t o n, 1968) na plynovom chromatografe Chrom 4. Amoniakálny dusík v efluente sme stanovili mikrodifúznou metódou (C o n w a y a O ' M a l l e y, 1948). Mikrobiálnu sušinu efluentu (PDM) sme získali dvojnásobným centrifugovaním efluentu pri 20 000 g po dobu 30 minút, dvojnásobným premytím vodou a vysušením zvyšku do konštantnej hmotnosti pri 105 °C. Nestrávené zvyšky krmiva po premytí s M c D o u g a l l o v ý m p u f r o m boli sušené do konštantnej hmotnosti pri teplote 105 °C k stanoveniu stráviteľnosti sušiny a detergentnej vlákniny - neutrálnej detergentnej vlákniny (NDF), kyslej detergentnej vlákniny (ADF), celulózy (C) a hemicelulózy (HC) - G o e r i n g a V a n S o e s t (1970). V zvyškovom krmive a efluente sme stanovili bakteriálnu a protozoálnu biomasu pri použití detergentu Tween 80 (A l i e v a D Ź a v a l o v, 1986) a v zvyškovom krmive aj kyselinu diaminopimelovú - DAPA (C z e r k a w s k i, 1974). Ďalšie produkty fermentácie sme vypočítali zo stoichiometrických vzťahov ako ich uvádza C z e r k a w s k i (1986).

VÝSLEDKY

Fermentácia kŕmnej dávky počas celej doby experimentu prebiehala pri pH 6,87 - 6,92 fermentačného média. Vplyvom ionofórov nebola zmenená stráviteľnosť sušiny (DMD) a organickej hmoty (OMD) základnej kŕmnej dávky (tab. I). Salinomycín (S) a lasalocid (L) však významne znížili stráviteľnosť detergentnej vlákniny, čo sa prejavilo vo fermentačných nádobách V₃ a V₄ poklesom stráviteľnosti NDF o 6 %, resp. 4 %, ADF o 10 %, resp. 7 %, celulózy o 9 %, resp. 4 % a hemicelulózy o 4 %, resp. 3 %. Flavomycín (F) stráviteľnosť detergentnej vlákniny neovplyvnil (tab. I). Celková produkcia plynov bola významne znížená všetkými tromi ionofórmami, ale pokles produkcie metánu a CO₂ nebol významný (tab. I).

Špecifický účinok na produkciu celkových a jednotlivých UMK sa v tomto experimente prejavil významným vplyvom S a L pri fermentácii kŕmnej dávky vo V₃

I. Vplyv ionofórov na stráviteľnosť sušiny, detergentnej vlákniny kŕmnej dávky a produkciu plynov
- The effects of ionophores on dry matter digestibility of feed ration, detergent fibre digestibility of feed ration and gas production

	Kontrola ¹ V ₁	Flavomycín ² V ₂	Salinomycín ³ V ₃	Lasalocid ⁴ V ₄
Stráviteľnosť sušiny ⁵ - DMD (%)	52,30 ± 0,33	50,80 ± 1,12	50,92 ± 1,00	52,07 ± 0,50
Stráviteľnosť organickej hmoty ⁶ - OMD (%)	53,38 ± 0,64	51,61 ± 0,96	47,16 ± 0,76	53,10 ± 0,46
Stráviteľnosť neutrálnej detergentnej vlákniny ⁷ - NDF (%)	42,53 ± 1,18	42,35 ± 1,31	36,27 ± 1,29**	38,21 ± 0,64**
Stráviteľnosť kyslej detergentnej vlákniny ⁸ - ADF (%)	26,71 ± 0,75	25,63 ± 1,69	16,94 ± 1,70***	19,53 ± 0,83***
Stráviteľnosť hemicelulózy ⁹ (%)	62,69 ± 0,58	61,86 ± 0,86	58,71 ± 0,84**	59,90 ± 0,42**
Stráviteľnosť celulózy ¹⁰ (%)	36,43 ± 1,05	35,41 ± 1,47	27,12 ± 1,48**	32,39 ± 0,71**
Celková produkcia plynov ¹¹ (l/deň)	2,47 ± 0,49	2,35 ± 0,46*	0,39 ± 0,76*	2,31 ± 0,50**
pH	6,92 ± 0,02	6,92 ± 0,03	6,90 ± 0,01	6,87 ± 0,01
Produkcia CH ₄ ¹² (mmol/deň)	8,35 ± 0,60	8,22 ± 0,17	8,24 ± 0,67	6,31 ± 0,72
Produkcia CO ₂ ¹³ (mmol/deň)	15,31 ± 1,15	10,57 ± 0,79	14,14 ± 0,91	15,24 ± 1,64

Vysvetlivky pre tab. I-IV - Explanatory notes to Tabs. I-IV:

± štandardná stredná chyba (SEM) - standard error of the mean

štatistika-porovnanie V₁-V₂, V₃, V₄ - statistics-comparison V₁-V₂, V₃, V₄

* P < 0,05; ** P < 0,01; *** P < 0,001

¹ kontrola, ² flavomycín, ³ salinomycín, ⁴ lasalocid, ⁵ dry matter digestibility, ⁶ organic matter digestibility, ⁷ neutral detergent fibre digestibility, ⁸ acid detergent fibre digestibility, ⁹ hemicellulose digestibility, ¹⁰ cellulose digestibility, ¹¹ total gas production, ¹² CH₄ production, ¹³ CO₂ production

a V₄. Dôkazom toho je zvýšená produkcia celkových UMK, hlavne však kyseliny propiónovej o 71 %, resp. 100 % a naopak znížená produkcia kyselín n-maslovej, n- a izovalérovej. Produkciu kyseliny octovej S a L neovplyvnili, avšak pomer acétát : propionát sa ich vplyvom znížil o 41 %, resp. 52 %.

Dodanie flavomycínu (F) do kŕmnej dávky vo V₂ neovplyvnilo produkciu celkových UMK, produkciu kyseliny octovej, propiónovej a pomeru A/P. Významne však znížilo produkciu kyseliny n- a izomaslovej a zvýšilo produkciu n- a izovalérovej (tab. II). Ak sme vyjadrili podiel jednotlivých UMK na celkovej produkcii UMK v molárnych %, tak sa špecifický vplyv S a L prejavil ešte výraznejšie, o čom svedčia výsledky uvedené v tab. III.

Okrem spomenutých základných parametrov fermentácie uvedených v tab. I, II a čiastočne v tab. III sme v tomto experimente sledovali aj ďalšie produkty fermentácie, ktoré sme vypočítali kalkuláciou zo známych stoichiometrických vzťahov v bachore. V tab. III a IV uvádzame hodnoty nasledujúcich ukazovateľov - energetickú výťažnosť UMK (E), využitie glukózy, produkciu adenosintrifosfátu (ATP), množstvo fermentovaných hexóz a fermentovanej organickej hmoty (OMF). Významný účinok ionofórov S a L sa prejavil aj na vyššie spomenuté ukazovatele

II. Vplyv ionofórov na produkciu celkových a jednotlivých UMK - The effects of ionophores on the production of total volatile fatty acids and of the different ones

	Kontrola ¹ V ₁	Flavomycín ² V ₂	Salinomycín ³ V ₃	Lasalocid ⁴ V ₄
NH ₃ -N v efluente ⁵ (mg/l)	175,64 ± 4,42	175,43 ± 10,8	165,35 ± 6,19*	147,22 ± 4,86**
Celková produkcia UMK ⁶ (mmol/deň)	41,50 ± 1,09	43,24 ± 1,63	46,53 ± 1,24*	46,50 ± 0,68**
Produkcia kyseliny octovej ⁷ (mmol/deň)	24,97 ± 0,65	26,65 ± 0,88	25,42 ± 0,69	24,09 ± 0,30
Produkcia kyseliny propiónovej ⁸ (mmol/deň)	9,01 ± 0,42	8,89 ± 0,45	15,46 ± 0,38***	18,19 ± 0,35***
Produkcia kyseliny n-maslovej ⁹ (mmol/deň)	4,79 ± 0,21	3,45 ± 0,42*	3,89 ± 0,13**	2,27 ± 0,08***
Produkcia kyseliny izomaslovej ¹⁰ (mmol/deň)	0,57 ± 0,04	0,32 ± 0,03**	0,43 ± 0,05	0,49 ± 0,04
Produkcia kyseliny n-valérovej ¹¹ (mmol/deň)	1,06 ± 0,04	1,98 ± 0,07***	0,86 ± 0,02**	1,02 ± 0,07
Produkcia kyseliny izovalérovej ¹² (mmol/deň)	1,09 ± 0,08	2,03 ± 0,09***	0,46 ± 0,03***	0,43 ± 0,02***
Acetát : propionát ¹³	2,79 ± 0,13	3,01 ± 0,08	1,64 ± 0,02***	1,32 ± 0,02***

For 1 - 4 see Tab. I; ⁵NH₃-N in the effluent, ⁶total production of VFA, ⁷acetic acid production, ⁸propionic acid production, ⁹butyric acid production, ¹⁰isobutyric acid production, ¹¹valeric acid production, ¹²isovaleric acid production, ¹³acetate:propionate

fermentácie. Ich vplyvom sa významne zvýšila E, produkcia ATP, množstvo fermentovaných hexóz a OMF. Využitie glukózy nebolo významne ovplyvnené. Flavomycín nemal výrazný účinok na konečné produkty fermentácie a dokonca znížil energetickú výťažnosť UMK.

Na základe výsledkov stanovenia mikrobiálnej sušiny efluentu (PDM) a DAPA v zbytkovom krmive sme stanovili celkovú produkciu bakteriálnej sušiny vytvorenej počas fermentácie v Rusitecu. Vyjadrili sme ju v g/kg strávenej sušiny kŕmnej dávky podobne ako produkciu ATP v mol/kg strávenej sušiny. Pomocou týchto ukazovateľov sme vypočítali účinnosť syntézy mikrobiálnej hmoty - Y_{ATP} . Stanovili sme aj iný ukazovateľ mikrobiálnej proteosyntézy vyjadrený v g mikrobiálneho N na kg OMF (tab. IV). Ako je vidieť z údajov uvedených v tab. IV, tak vplyvom S a L sa znížilo množstvo bakteriálnej hmoty v efluente a zbytkovom krmive, čo sa významne prejavilo v znížení účinnosti mikrobiálnej proteosyntézy vyjadrenej v Y_{ATP} ako aj v g mikrobiálneho N na kg OMF. Flavomycín významne neovplyvnil účinnosť syntézy mikrobiálnej hmoty, hoci tiež znížil celkovú produkciu bakteriálnej hmoty v efluente a zbytkovom krmive. Mikrobiálna (protozoálna a bakteriálna) sušina efluentu a zbytkového krmiva stanovená diferenciálnou centrifugáciou bola

III. Vplyv ionofórov na produkciu jednotlivých UMK a ostatných produktov fermentácie - The effects of ionophores on the production of the different VFA and other fermentation products

	Kontrola ¹ V ₁	Flavomycín ² V ₂	Salinomycín ³ V ₃	Lasalocid ⁴ V ₄
Kyselina octová ⁵ (mol%)	60,28 ± 0,24	61,67 ± 0,41*	54,62 ± 0,19***	51,81 ± 0,33***
Kyselina propiónová ⁶ (mol%)	21,62 ± 0,15	20,55 ± 0,61	33,24 ± 0,20***	39,10 ± 0,28***
Kyselina n-maslová ⁷ (mol%)	11,57 ± 0,18	7,94 ± 0,80**	8,36 ± 0,14***	4,88 ± 0,12***
Kyselina izomaslová ⁸ (mol%)	1,35 ± 0,07	0,75 ± 0,08***	0,93 ± 0,08**	1,07 ± 0,09*
Kyselina n-valérová ⁹ (mol%)	2,54 ± 0,06	4,38 ± 0,11***	1,85 ± 0,05***	2,20 ± 0,14
Kyselina izovalérová ¹⁰ (mol%)	2,53 ± 0,12	4,69 ± 0,13***	0,99 ± 0,04***	0,92 ± 0,03***
Energetická výťažnosť UMK ¹¹ (%)	75,35 ± 0,06	74,60 ± 0,17**	79,66 ± 0,08***	81,99 ± 0,14***
Využitie glukózy ¹² (mmol/deň)	22,84 ± 0,61	23,11 ± 0,94	25,19 ± 0,65*	24,43 ± 0,39*
Produkcia ATP ¹³ (mmol/deň)	98,07 ± 2,77	104,10 ± 3,86	115,81 ± 2,52***	116,66 ± 2,24***

For 1 - 4 see Tab. I; ⁵acetic acid, ⁶propionic acid, ⁷n-butyric acid, ⁸isobutyric acid, ⁹n-valeric acid, ¹⁰isovaleric acid, ¹¹energy efficiency, ¹²glucose utilization, ¹³adenosine triphosphate production

vplyvom všetkých troch ionofórov znížená (tab. IV), čo sa tiež prejavilo v zníženej produkcii amoniakálneho dusíka v efluente (tab. II), avšak len vo fermentačných nádobách V₃ a V₄.

DISKUSIA

Profil aktivity použitých ionofórov v tomto experimente vykazoval rôznu účinnosť na bachorovú fermentáciu v Rusitecu. Týka sa to hlavne flavomycínu, ktorý nevýrazne ovplyvnil tráviace procesy pravdepodobne v dôsledku použitia nižšej - menej účinnej dávky. V experimente sme použili dávku 6 ppm flavomycínu. V pokuse na jahňatách bola použitá dávka 5, 10 a 15 ppm (B e d ö a i., 1984) resp. 10, 20 a 40 ppm v pokuse na ovciach (M u r r a y a i., 1990). Salinomycín a lasalocid výraznejšie ovplyvnili fermentačné procesy v tomto experimente *in vitro* (B o - g ä e r t a i., 1989) resp. *in vivo* na ovciach (B o l a t a i., 1988; D r o u m e v a i., 1988).

IV. Vplyv ionofórov na ostatné produkty fermentácie a účinnosť syntézy mikrobiálnej hmoty - The effects of ionophores on the other fermentation products and microbial matter synthesis efficiency

	Kontrola ¹ V ₁	Flavomycín ² V ₂	Salinomycín ³ V ₃	Lasalocid ⁴ V ₄
Fermentované hexózy ⁵ (mmol/deň)	21,77 ± 0,57	21,22 ± 0,89	24,33 ± 0,64*	23,41 ± 0,37*
Fermentovaná organická hmota ⁶ - OMF (g/deň)	3,70 ± 0,10	3,74 ± 0,15	4,08 ± 0,10*	3,95 ± 0,06*
Celková bakteriálna DM ⁷ (g/deň) *	1,149	1,089	0,958	1,088
Mikrobiálna DM efluentu ⁸ (g/deň)	1,194	1,077	1,105	0,912
Mikrobiálna DM zbytkového krmiva ⁹ (g/deň)	0,323	0,337	0,207	0,353
Mikrobiálna DM celková ¹⁰ (g/deň)	1,517	1,414	1,312	1,266
Mikrobiálna DM celková (g/kg) strávenej DM krmiva ¹¹	200,24	191,88	177,86	167,68
Y _{ATP} (g/mol)	12,41 ± 0,94	10,53 ± 0,30	8,29 ± 0,18**	9,34 ± 0,18*
Mikrobiálny N (g/kg) OMF ¹²	24,94 ± 0,67	23,45 ± 0,89	18,84 ± 0,50**	22,02 ± 0,35**

* PDM (particulate dry matter) efluentu + bakteriálna DM zbytkového krmiva vypočítaná z DAPA. Mikrobiálna DM (bakteriálna + protozoálna) -

* PMD (particulate dry matter) of effluent + bacterial DM of residual feed calculated from DAPA. Microbial DM (bacterial + protozoal)

For 1 - 4 see Tab. I; ⁵fermented hexoses, ⁶fermented organic matter, ⁷total bacterial DM, ⁸microbial DM of effluent, ⁹microbial DM of residual feed, ¹⁰total microbial DM, ¹¹total microbial DM (g/kg) of feed digested dry matter, ¹²microbial N (g/kg) of OMF

Stráviteľnosť sušiny a organickej hmoty kŕmnej dávky nebola ovplyvnená prídáním ionofórov. Flavomycín tiež neovplyvnil stráviteľnosť detergentnej vlákniny, avšak salinomycín a lasalocid ju významne redukovali (tab. I). Stráviteľnosť detergentnej vlákniny poklesla pravdepodobne v dôsledku zníženia populácie grampozitívnych baktérií (Westley, 1977), teda hlavne celulolytických baktérií (Dennis a i., 1981). Potvrdzujú to tiež výsledky dosiahnuté v pokuse s lasalocidom v Rusitecu (Bogäert a i., 1989). Celková produkcia plynov bola vplyvom všetkých troch ionofórov významne znížená, avšak produkcia jednotlivých plynov - metánu a CO₂ vykazovala len tendenciu ich poklesu (tab. I). Celková produkcia plynov bola tiež potlačená flavomycínom a salinomycínom (Richter a Flachowski, 1991), ako aj lasalocidom (Bogäert a i., 1989).

Diferencovaný účinok ionofórov sa prejavil aj v produkcii celkových a jednotlivých UMK (tab. II). Flavomycín neovplyvnil produkciu celkových UMK, acetátu a propionátu pravdepodobne v dôsledku použitia nižšej dávky. Pri dávke 10 - 40 ppm flavomycín výrazne zvýšil molárny podiel kyseliny propiónovej v bachore oviec (Murray a i., 1990). Špecifický účinok na produkciu UMK sa prejavil vplyvom salinomycínu a lasalocidu. Tieto antibiotiká významne zvýšili celkovú produkciu UMK, hlavne však produkciu kyseliny propiónovej o 71 %, resp. 100 %. V dôsledku toho sa významne znížil pomer A/P o 41 %, resp. 52 %. Produkcia ostatných jednotlivých UMK bola významne zvýšená oproti kontrole. Celkový profil aktivity S a L na produkciu UMK sa ešte výraznejšie prejavil v mol% jednotlivých UMK (tab. III). Dosiahnuté výsledky podporujú aj údaje z pokusov so salinomycínom (Richter a Flachowski, 1991) a lasalocidom (Bogäert a i., 1989). Zo známych stoichiometrických vzťahov v bachore je možné kalkuláciou vypočítať ďalšie produkty fermentácie (Czerkawski, 1986) a energetickú výťažnosť UMK (Orskov a i., 1968). Flavomycín významne znížil energetickú výťažnosť UMK - E (v dôsledku zvýšenia pomeru A/P), zatiaľ čo salinomycín a lasalocid E zvýšili (v dôsledku zníženia pomeru A/P). Ostatné ukazovatele konečných produktov fermentácie - využitie glukózy, produkcia ATP, množstvo fermentovaných hexóz a OMF boli vplyvom S a L zvýšené. Účinok F sa tu neprejavil (tab. III, IV).

Všetky ionofóry znížili celkovú bakteriálnu populáciu v efluente a zbytkovom krmive, čo sme stanovili frakčnou centrifugáciou efluentu (PDM) a z DAPA baktérií zbytkového krmiva (tab. IV). Pokles bakteriálnej populácie pravdepodobne zapríčinil pokles gram⁺ baktérií, ktoré sú značne citlivé k ionofórom (Chen a Wolin, 1979; Nagaraja a Taylor, 1987) a pokles DAPA indikuje pokles gram⁺ baktérií, ktoré všeobecne obsahujú viac DAPA ako gram⁻ baktérie (Leclerc a i., 1983).

Celková bakteriálna populácia ovplyvnila aj ukazovatele účinnosti syntézy mikrobiálnej hmoty vyjadrené v Y_{ATP} (g/mol) a v g mikrobiálneho N na kg OMF. Ako je vidieť z tab. IV flavomycín tieto ukazovatele neovplyvnil, avšak salinomycín a lasalocid ich významne znížil. Pri 8% obsahu N v mikrobiálnej DM (Stor a Orskov, 1983) v pokuse s lasalocidom bola účinnosť syntézy mikrobiálnej hmoty znížená z 24,3 na 18,3 g mikrobiálneho N na kg OMF (Bogäert a i., 1989). V pokusoch *in vitro* s flavomycínom a salinomycínom účinnosť syntézy

mikrobiálnej hmoty nebola sledovaná. V tomto experimente sme stanovili aj celkovú mikrobiálnu (protozoálnu a bakteriálnu) hmotu v efluente a zbytkovom krmive za použitia detergentu Tween 80 (Alijev a Džavalov, 1986). Ionofóry S a L znížili množstvo celkovej mikrobiálnej sušiny (tab. IV), čo sa prejavilo aj poklesom koncentrácie amoniakálneho dusíka v efluente (tab. II).

Záverom je možné konštatovať, že dva ionofóry - salinomycín a lasalocid výrazne ovplyvnili bachorovú fermentáciu, t. j. základné a ostatné produkty fermentácie ako aj účinnosť syntézy mikrobiálnej hmoty v Rusitecu. Flavomycín mal menej výrazný účinok.

Literatúra

ALIEV, A. A. - DŽAVALOV, A. K.: Opredelenie količstva infuzornej massy v soderžinom predželudku životnych. Dokl. VASCHNIL, 11, 1986, s. 24-26.

BEDŐ, S. - BÓDIS, L. - RAVASZ, T. The effect of growth promoters on the metabolism of young lambs. In: Symp. on sheep production on big farms, Debrecen, 14 - 16 August 1984, Hungary, s. 17-26.

BOGÅERT, C. - GOMEZ, L. - JOUANY, J. P. - JEMINET, G.: Effects of the ionophore antibiotics lasalocid and cationomycin on ruminal fermentation *in vitro* (Rusitec). Anim. Feed Sci. Technol., 27, 1989, s. 1-15.

BOLAT, D. - DROCHNER, W. - ELKHOLI, M.: Rumen fermentation in sheep after exchanging daily barley ration with molassed sugarbeet pulp and addition of a polyether antibiotic (salinomycin Na). Wirtschaftseigene Futter, 34, 1988, s. 199-217.

CONWAY, E. J. - O'MALLEY, F.: Microdiffusion methods. Ammonia and urea using buffered absorbents. Biochem. J., 36, 1948, s. 655-661.

COTTYN, B. G. - BOUCQUE, C. V.: Rapid method for the gas chromatographic determination of volatile fatty acids in rumen fluid. J. Agric. Fd Chem., 16, 1968, s. 105-107.

CZERKAWSKI, J. W.: Method for determining 2-6 diaminopimelic acid and 2-aminoethylphosphonic acid in gut contents. J. Sci. Fd Agric., 25, 1974, s. 45-55.

CZERKAWSKI, J. W.: An introduction to rumen studies. Oxford, New York, Toronto, Sydney, Frankfurt, Pergamon Press 1986.

CZERKAWSKI, J. W. - BRECKENRIDGE, G.: Design and development of a long term simulation technique (Rusitec). Brit. J. Nutr., 38, 1977, s. 371-384.

CZERKAWSKI, J. W. - CLAPPERTON, J. L.: Analysis of gas produced metabolism of microorganisms. Lab. Pract., 17, 1968, s. 994-996.

DENNIS, L. M. - NAGARAJA, T. G. - BARTLEY, E. E.: Effects of lasalocid or monensin on lactate producing or using rumen bacteria. J. Anim. Sci., 52, 1981, s. 418-426.

DROUMEV, D. - PETKOV, A. - PASHOV, D. - ENEV, E. - VANGELOV, S. - PETKOVA, O. - SIVKOVA, K. - OBLAKOV, N. - DJANKOV, T.: Some data about the ergotropic influence of salinomycin and narazin on lambs with developed forestomach. In: 4th Congress of European Association for Veterinary Pharmacology and Toxicology: Veterinary pharmacology, toxicology and therapy in food producing animals, Budapest, 28 August - 2 September 1988.

GOERING, H. K. - VAN SOEST, P. J.: Forage fiber analyses. U. S. D. A., Agric. Handb., No. 379, 1970, s. 1-20.

GOMEZ, L. - HILLAIRES, M. C. - JOUANY, J. P.: *In vitro* study (Rusitec) of the action of abierixin, a new ionophore antibiotic, on the end products and the degradation of nitrogen in the rumen. Arch. anim. Nutr., 40, 1990, s. 229-238.

- GOODRICH, R. D. - GARRETT, J. E. - GAST, D. R. - KIRICK, M. A. - LARSON, D. A. - MEISKE, J. C.: Influence of monensin on the performance of cattle. *J. anim. Sci.*, 58, 1984, s. 1484-1498.
- CHEN, M. - WOLIN, M. J.: Effect of monensin and lasalocid sodium on the growth methanogenic and rumen saccharolytic bacteria. *Appl. Envir. Microbiol.*, 38, 1979, s. 72-78.
- JOUANY, J. P. - THIVEND, P.: *In vitro* effects of avoparcin on protein degradability and rumen fermentation. *Anim. Feed Sci. Technol.*, 15, 1986, s. 215-229.
- LECLERC, H. - IZARD, D. - HUSSON, M. O. - WATTRE, P. - JAKUBZCAK, E.: La paroi-contituants. In: LECLERC, H. (ed.): *Microbiology Generale*. Doin, Paris, Chapter IV (A), s. 58-60.
- Mc DOUGALL, E. I.: Studies on rumen saliva. 1. The composition and output of sheep's saliva. *Biochem. J.*, 43, 1948, s. 99-109.
- MURRAY, P. J. - ROWE, J. B. - AITCHISON, E. M.: The influence of protein quality on the effect of flavomycin, on wool growth, liveweight change and rumen fermentation in sheep. *Austral. J. Agric. Res.*, 41, 1990, s. 987-993.
- NAGARAJA, T. G. - TAYLOR, M. B.: Susceptibility and resistance of ruminal bacteria to antimicrobial feed additives. *Appl. Envir. Microbiol.*, 53, 1987, s. 1620-1625.
- ORSKOV, E. R. - FLATT, W. P. - MOE, P. W.: Fermentation balance approach to estimate extent of fermentation and efficiency of VFA fermentations in ruminants. *J. Dairy Sci.*, 51, 1968, s. 1429-1435.
- PRESSMAN, B. C.: Biological applications of ionophores. *A. Rev. Biochem.*, 45, 1976, s. 501-530.
- RICHTER, G. H. - FLACHOWSKI, G. F.: Einfluss von salinomycin auf scheinbare Verdaulichkeit Kennzahlen der Pansenfermentation sowie Mast- und Schlachtergebnisse von Mastrindern. *Arch. anim. Nutr.*, 41, 1991, s. 85-94.
- STORM, E. - ORSKOV, E. R.: The nutritive value of rumen microorganisms in ruminants. 1. Large scale isolation and chemical composition of rumen microorganism. *Brit. J. Nutr.*, 50, 1983, s. 463-470.
- THONEY, M. L. - HEIDE, E. K. - DUHAIME, D. J. - HAND, R. J. - PEROSIO, D. J.: Growth, feed efficiency and metabolite concentrations of cattle fed high forage diets with lasalocid or monensin supplement. *J. anim. Sci.*, 52, 1981, s. 427-433.
- ULBRICH, M. - BOHME, P. - GREBS, C.: Salinomycin in lamb fattening. *Tierernahrung und Fütterung*, 16, 1990, s. 23-37.
- WESTLEY, J. W.: Polyether antibiotics. Versatile carboxylic acid ionophores produced by Streptomyces. *Adv. appl. Microbiol.*, 22, 1977, s. 177-185.

Došlo 21. 5. 1992

JALČ, D. - BARAN, M. - SIROKA, P. (Institute of Animal Physiology, Slovak Academy of Sciences, Košice, Slovak Republic):

The effects of flavomycin, salinomycin and lasalocid on the fermentation of feed ration *in vitro*.

Vet. Med. - Czech, 38, 1993 (2): 65-74.

In our experiment the effects of flavomycin (F) - 6 ppm, salinomycin (S) - 12 ppm and lasalocid (L) - 33 ppm on the fermentation of feed ration consisting of hay and barley (80 : 20 %) were followed in a rumen pouch (Rusitec). The experiment lasted 14 days while the conditions of fermentation were stabilized within the first seven days. Samples of effluent, gases and undigested residues of feeds were taken for analyses on days 8 - 14.

Dry matter digestibility (DMD) and organic matter digestibility (OMD) of the feed ration were not influenced by the addition of ionophores. The digestibility of detergent

fibre however significantly decreased as a result of S and L additions. This was manifested in a decrease in the digestibility of acid detergent fibre by 10 % (S) and 7 % (L), neutral detergent fibre by 6 % (S) and 4 % (L), cellulose by 9 % (S) and 4 % (L), hemicellulose by 4 % (S) and 3 % (L).

The total gas production decreased owing to the action of all ionophores, but the production of methane and CO₂ was not observed.

The production of total VFA as well as of propionic acid significantly increased due to the effects of only S and L by 71 % and 100 %, respectively. Since the production of acetic acid was not influenced, S and L decreased the acetate : propionate ratio by 41 % and 52 %, respectively. The production of n-butyric, n-valeric and isovaleric acids significantly decreased owing to the effect of S and L. Flavomycin did not have any effects on the production of total VFA, acetic and propionic acid and A : P ratio, but it significantly decreased the production of n-butyric and isobutyric acids and increased the production of n-valeric and isovaleric acids.

The energy efficiency of the feed ration VFAs decreased as a result of the low effect of F on the VFA production and the values of end product fermentation - adenosine triphosphate production (ATP), glucose utilization, amount of fermented hexoses and fermented organic matter (OMF) - did not change in comparison with the control. The above-mentioned parameters of fermentation end-products as well as the energy efficiency of VFA significantly increased owing to the S and L effects.

The efficiency of microbial matter synthesis expressed as Y_{ATP} and the grammes of microbial nitrogen/kg OMF were also established in the experiment. Based on the determination of diaminopimelic acid (DAPA) in residual feed and microbial dry matter in the effluent, the total bacterial dry matter was found to decrease due to the effects of ionophores. If it were expressed in g/kg of digested DM of the residual feed and ATP production in mol/kg of digested DM, the value of Y_{ATP} would be calculated. Y_{ATP} however significantly decreased, in comparison with the control (12.41) only due to the effects of S (8.29) and L (9.34). The efficiency of microbial N/kg OMF also significantly decreased after S and L additions from 24.94 (control) to 18.84 (S) and 22.02 (L).

The bacterial and protozoal dry matter of the effluent and residual feed determined by differential centrifugation was significantly reduced by all three ionophores. This was manifested in the decreased production of ammonia nitrogen in the effluent but this decrease was only significant after the S and L additions. It is evident that the individual ionophores did not exhibit the same effects on the fermentation of feed ration in this experiment. Salinomycin and lasalocid significantly influenced the basal and end products of fermentation and efficiency of microbial matter synthesis. Flavomycin influenced the feed ration fermentation to a small extent only, this was probably due to the use of the lower, less effective dose.

rumen pouch; flavomycin; salinomycin; lasalocid; volatile fatty acids; detergent fibre; efficiency of microbial matter synthesis

Kontaktná adresa:

MVDr. Dušan J a l ě, CSc., Ústav fyziológie hospodárskych zvierat SAV, Palackého 12,
040 01 Košice
Tel. 095/36251, fax 095/24491

VÝSKYT KMEŇOV STREPTOKOKOV REZISTENTNÝCH NA ANTIBIOTIKÁ V BACHOROVOM OBSAHU TELIAT

Z. Jonecová¹, M. Mareková², V. Kmet²

¹Ústav experimentálnej veterinárnej medicíny, Košice

²Ústav fyziológie hospodárskych zvierat SAV, Košice

Sledovali sme výskyt a spektrum rezistencie na antibiotiká; jej konjugatívnu a prítomnosť plazmidovej DNA u kmeňov bachorových streptokokov v štyroch vekových kategóriách teliat v období mliečnej výživy. Ani jeden kmeň citlivý k všetkým sledovaným antibiotikám (tetracyklín, neomycín, erytromycín, chloramfenikol) nebol zachytený vo vzorkách bachorového obsahu 8 - 14dňových teliat. Väčšina izolovaných kmeňov bola polyrezistentná. U 6 - 8týždňových teliat bol výskyt kmeňov rezistentných na sledované antibiotiká percentuálne nižší ako u mladších vekových kategórií. U 80 amylolytických kmeňov *Streptococcus bovis* rezistentných na tetracyklín bol sledovaný prenos tejto rezistencie konjugáciou v rámci druhu. Konjugatívny prenos tetracyklínovej rezistencie bol úspešný len u 9 kmeňov, a to len pri konjugáciách na pevnom povrchu. Frekvencia prenosu rezistencie na tetracyklín prepočítaná na donorovú bunku bola 10^{-3} - 10^{-5} . Izolovali sme plazmidovú DNA štyroch donorových kmeňov, u ktorých bola agarózovou gélovou elektroforézou DNA vizualizovaná.

teľatá; bachorové streptokoky; rezistencia na antibiotiká; plazmidy

Mikrobiálna kolonizácia bachora mláďat prežúvavcov začína bezprostredne po narodení, aj keď bachor je ešte vo funkčne latentnom stave a jeho obsah je tvorený hlavne slinami, odlúpenými epiteliálnymi bunkami a hlienom (Smith, 1959; Fonty a i., 1987). V prvom období života mláďat tvoria bachorové streptokoky spolu s laktobacilami a *Escherichia coli* podstatnú súčasť bachorovej mikroflóry (Ziolecki a Briggs, 1961). S vývojom bachorovej mikroflóry je úzko spojený pokles aerotolerance, s čím súvisí aj pokles významu fakultatívne anaeróbných baktérií (Fonty a i., 1984).

Bachorové streptokoky sú jedinými fakultatívne anaeróbnymi baktériami, ktoré sú v významných množstvách pravidelne izolované z bachora hovädzieho dobytku, oviec (Hungate, 1966) a kôz (Dehority a Grubb, 1977). Tvoria relatívne malú časť bachorovej populácie u dospelých prežúvavcov a sú zastúpené predovšetkým druhmi *Streptococcus bovis*, menej *Streptococcus (Enterococcus) faecium* a *Streptococcus (Enterococcus) faecalis* (Latham a Jayne-Williams, 1978). S výnimkou prvého týždňa života tvorí *S. bovis* 80 - 100 % všetkých streptokokov izolovaných z bachora teliat (Mann a i., 1954). Fyziologické vlastnosti *S. bovis* umožňujú zaradiť tento bakteriálny druh do troch dôležitých funkčných skupín bachorových baktérií - amylolytickej, laktogénnej a pektinolytickej (Latham a Jayne-Williams, 1978; Ziolecki a i., 1972). Ureolytická aktivita kmeňov *Enterococcus faecium* a *E. faecalis* poukazuje na ich význam v metabolizme dusíka.

Spektrum rezistencie na antibiotiká u bachorových baktérií nebolo doteraz v literatúre popísané. Väčšina prác sa zaoberala spektrom rezistencie v súvislosti s výskytom plazmidov rezistencie u kmeňov *Escherichia coli* izolovaných od teliat (S o k o l a i., 1978). Výskyt a izoláciu konjugatívnych plazmidov u bachorových baktérií kmeňov *Enterococcus faecium* popisuje L a u k o v á a i., 1990).

Cieľom tejto práce bolo zmapovať frekvenciu výskytu bachorových kmeňov streptokokov rezistentných na antibiotiká u teliat v období mliečnej výživy a determinovať prítomnosť plazmidov u rezistentných kmeňov. Výskyt plazmidov u bachorových baktérií je skúmaný predovšetkým z hľadiska determinácie ich úlohy v mikrobiálnej ekológii bachora ako potenciálnych nosičov génov rezistencie na antibakteriálne látky, produkcie bakteriocínov alebo využitia niektorých substrátov (F o r s b e r g a i., 1986; H e s p e l l, 1987).

MATERIÁL A METÓDY

V pokuse boli zahrnuté štyri skupiny teliat v počte 6 - 18 kusov. Tefatá do veku 14 dní pochádzali z troch chovov - Dvorianky, Meďov a Hatalov. Boli ustajnené oddelene od matiek a napájané mliečnou krmnou zmesou. Tefatá vo vekovej kategórii 6 - 8 týždňov pochádzali z rôznych VKT na východnom Slovensku. Tefatá tejto skupiny dostávali mliečnu krmnú zmes, TKŠ, seno a mali prístup k vode. Vzorky bachorového obsahu boli odoberané pažerákovou sondou, vždy 3 h po rannom kŕmení.

Počty bachorových streptokokov boli zisťované na Selektívnom agare pre izoláciu fekálnych streptokokov (Imuna) s prídavkom 5 - 10 % baranej krvi. V jednotlivých vekových kategóriách sú udávané ako aritmetický priemer $\pm$ stredná chyba priemeru (SEM). Z bachorového obsahu každého tefatá bolo izolovaných päť kmeňov z najvyššieho riedenia. U týchto kmeňov bola zisťovaná citlivosť na antibiotiká jednak diskovou metódou (Lachema) na VL agare (Imuna) s obsahom 10 % defibrinovanej krvi, jednak semikvantitatívnu agarovou difúznou metódou. Boli použité antibiotiká tetracyklín (Tc), erytromycín (Em), neomycín (Nm), streptomycín (Sm) a choramfenikol (Chl) v koncentrácii 20 μ g/ml vody. Amylázová aktivita bola stanovovaná Spofa testom v nkat/ml.

Plazmidová DNA bola izolovaná podľa K l a e n h a m m e r a (1984), jednoduchý konjugálny test bol vykonávaný podľa N e v e a i. (1983). Všetky donorové kmene boli izolované v našom laboratóriu. Ako recipientný kmeň bol použitý *Streptococcus bovis* BM 114 (H o r o d n i c e a n u a i., 1982). Agarózová gélová elektroforéza bola robená v TAE pufri pri napätí 5 V/cm. Gély boli farbené etídium bromidom (5 μ g/ml) a DNA vizualizovaná v UV svetle. Ako štandard bol použitý kmeň *Escherichia coli* V517 obsahujúci plazmidy o veľkosti 1,4 - 35,8 DM (M a c r i n a a i., 1978).

VÝSLEDKY

Frekvenciu výskytu rezistencie na antibiotiká u kmeňov streptokokov izolovaných z bachorového obsahu teliat do veku 14 dní a potom vo veku 6 - 8 týždňov udáva tab. I. Na streptomycín bolo rezistentných viac ako 99 % testovaných kmeňov,

ktoré neboli zahrnuté do vyhodnotení. Počet streptokokov u teliat počas celého sledovaného obdobia bol približne 10^5 v 1 ml bachorového obsahu. Percentuálne zastúpenie kmeňov streptokokov citlivých na všetky testované antibiotiká bolo podobné u teliat v najmladšej vekovej skupine (1 - 3 dni) a v najstaršej skupine teliat (6 - 8 týždňov). Zo vzoriek bachorového obsahu 4 - 7dňových teliat bolo citlivých len 2,7 % izolovaných streptokokov a zo vzoriek od 8 - 14dňových teliat sme nezachytili ani jeden citlivý kmeň. U najstaršej skupiny teliat (6 - 8 týždňov) bol výskyt kmeňov rezistentných na jednotlivé antibiotiká percentuálne nižší ako u mladších vekových kategórií, čo je zvlášť výrazné v prípade rezistencie na chloramfenikol. Vo všetkých vekových skupinách bolo 75 - 92 % kmeňov rezistentných na viac ako jedno testované antibiotikum. Tab. II udáva spektrum markerov rezistencie na antibiotiká v jednotlivých vekových kategóriách teliat. Zatiaľ čo u teliat do veku 14 dní prevládala štvormarkerový typ (41,6 - 50 % všetkých rezistentných izolátov), u starších teliat bol tento typ zastúpený len 1,7 %. V rámci rezistentných kmeňov streptokokov izolovaných z bachora teliat vo veku 6 - 8 týždňov boli dvojmarkerové typy rezistencie zastúpené najčastejšie (42,6 %).

V ďalšej časti práce sme sa zamerali na zisťovanie prítomnosti konjugatívnych plazmidov u rezistentných kmeňov bachorových streptokokov. Na konjugácie sme vybrali 80 donorových kmeňov *S. bovis*, ktoré sa vyznačovali amylázovou aktivitou. Kmene boli rezistentné na tetracyklín a citlivé na rifampicín. U týchto kmeňov sme sledovali frekvenciu prenosu tetracyklínovej rezistencie na recipientný kmeň *S. bovis* BM 114, ktorý je chromozomálne rezistentný na rifampicín. Ako najvhodnejšia metodika sa nám osvedčila konjugácia na membránovom filtri, pretože konjugácie v tekutom médiu neboli úspešné. Prenos tetracyklínovej rezistencie sa podaril pri použití deviatich donorových kmeňov. Vlastnosti štyroch z nich sú uvedené v tab. III. Pre porovnanie je uvedený aj kmeň č. 36, u ktorého boli konjugáčnne experimenty neúspešné. Frekvencia prenosu rezistencie na Tc prepočítaná na donorovú bunku bola u týchto kmeňov 10^{-3} - 10^{-5} . Agarózovú gélovú elektroforézu plazmidovej DNA

I. Dynamika výskytu rezistencie na antibiotiká u streptokokov izolovaných z bachorového obsahu teliat - The dynamics of the occurrence of resistance to antibiotics in streptococci isolated from the ingesta of calves

Veková kategória ¹	Priemerný počet ² (log 10 ± SEM)/ml	Rezistentné kmene ³ (%)				
		Tc	Nm	Em	Chl	citlivé
1 - 3 dni ⁴	4,907 ± 0,688	90,5	76,4	50,5	50,5	4,4
4 - 7 dni ⁵	5,156 ± 1,060	70,2	83,8	43,2	43,2	2,7
8 - 14 dni ⁶	5,181 ± 0,690	91,7	95,8	58,3	66,7	0
6 - 8 týždňov ⁷	5,670 ± 0,880	85,9	57,8	54,6	1,6	4,7

Tc - tetracyklín, Nm - neomycín, Em - erytromycín, Chl - chloramfenikol (platí pro tab. I-III) - Tc - tetracycline, Nm - neomycin, Em - erythromycin, Chl - chloramphenicol (applies to Tabs. I-III)
¹ age category, ² average number, ³ resistant strains, ⁴ 1 - 3 days, ⁵ 4 - 7 days, ⁶ 8 - 14 days, ⁷ 6 - 8 weeks

izolovanej z donorových kmeňov znázorňuje obr. 1. Zatiaľ čo u kmeňa č. 36 sme nezistili prítomnosť plazmidovej DNA, u kmeňa č. 50/2 je viditeľná jedna frakcia o veľkosti > 35,8 MD a u ostatných kmeňov približne rovnako veľké frakcie DNA o veľkosti > 4,8 MD a > 3,7 MD.

II. Spektrum rezistentných kmeňov streptokokov izolovaných z bachorového obsahu teliat v období mliečnej výživy - The spectrum of resistant strains of streptococci isolated from the ingesta of calves in the milk diet period

Počet markerov ¹	Fenotyp ²	Počet rezistentných kmeňov izolovaných z bachora teliat vo veku ³			
		1 - 3 dni ⁴	4 - 7 dni ⁵	8 - 14 dni ⁶	6 - 8 týždňov ⁷
1	Tc	10	5	0	11
	Nm	4	10	2	4
2	Tc, Nm	16	4	4	11
	Tc, Em	0	0	0	13
	Tc, Chl	1	0	1	0
	Nm, Em	0	0	0	2
3	Tc, Nm, Chl	7	1	3	0
	Tc, Nm, Em	4	1	2	19
	Tc, Em, Chl	4	0	0	0
4	Tc, Nm, Chl, Em	36	15	12	1

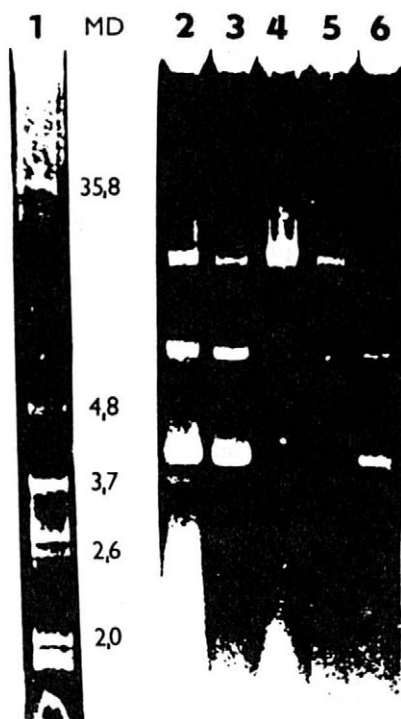
¹ number of markers, ² phenotype, ³ number of resistant strains isolated from the ingesta of calves at the age of; for 4 - 7 see Tab. I

III. Vlastnosti donorových kmeňov *Streptococcus bovis*, frekvencia prenosu rezistencie na tetracyklín - The characteristics of donor strains of *Streptococcus bovis*, frequency of tetracycline resistance transmission

Kmeň č. ¹	Amylázová aktivita ² (nkat/ml)	Rezistencia na antibiotiká ³	Frekvencia prenosu rezistencie na Tc na donorovú bunku ⁴
48/1	2,258	Tc, Em	$5,25 \times 10^{-5}$
52/1	2,708	Tc, Em	$7,2 \times 10^{-4}$
59/2	1,487	Tc, Em, Nm	$2,9 \times 10^{-3}$
50/2	2,176	Tc	$4,3 \times 10^{-3}$
36	4,523	Nm	0

¹ strain no., ² amylase activity, ³ resistance to antibiotics, ⁴ frequency of Tc resistance transmission to donor cell

1. Plazmidový profil donorových kmeňov *Streptococcus bovis*: 1 - DNA izolovaná z buniek *Escherichia coli* V517 - štandard; 2 - DNA izolovaná z kmeňa *S. bovis* 48/1; 3 - DNA izolovaná z kmeňa *S. bovis* 52/1; 4 - DNA izolovaná z kmeňa *S. bovis* 36; 5 - DNA izolovaná z kmeňa *S. bovis* 50/2; 6 - DNA izolovaná z kmeňa *S. bovis* 59/2 - The plasmid profile of donor strains of *Streptococcus bovis*: 1 - DNA isolated from the cells of *Escherichia coli* V517 - standard; 2 - DNA isolated from *S. bovis* strain 48/1; 3 - DNA isolated from *S. bovis* strain 52/1; 4 - DNA isolated from *S. bovis* strain 36; 5 - DNA isolated from *S. bovis* strain 50/2; 6 - DNA isolated from *S. bovis* strain 59/2



DISKUSIA

Vysoký výskyt polyrezistentných kmeňov medzi izolátmi streptokokov z bachorového obsahu teliat už v prvých dňoch ich života je pravdepodobne spôsobený antimikrobiálnou terapiou teliat a koreluje s údajmi W r a y a (1986) o výskyte polyrezistentných kmeňov *Escherichia coli* u mláďat prežúvavcov. Izoláty *E. coli* od teliat mali tendenciu byť rezistentnejšie ako izoláty od dospelého hovädzieho dobytká. Index antibiotickej rezistencie baktérií sa podľa údajov autorov H i n t o n a i. (1985) zvyšoval, ak boli teľatá oddelené od svojich matiek. D u n n y a i. (1979) zistili, že všetkých 100 testovaných izolátov fekálnych streptokokov získaných od rôznych hospodárskych zvierat bolo rezistentných aspoň na jedno antibiotikum, pričom väčšina kmeňov bola polyrezistentná. Porovnávali profil rezistencie a plazmidov týchto kmeňov s profilmi kmeňov streptokokov z humánných klinických izolátov a zistili ich veľkú podobnosť. Literárne údaje o profile rezistencie bachorových streptokokov chýbajú. B o n d i a i. (1984) zistili, že 73,6 % izolátov D skupiny streptokokov izolovaných z klinických humánných izolátov bolo rezistentných, pričom vyše 60 % z nich bolo rezistentných na viac ako jedno antibiotikum. U bakteriálnych kmeňov *Enterococcus faecalis* subsp. *zymogenes* a *E. faecium* bolo 100 % izolátov rezistentných na antibiotiká.

V posledných rokoch bolo identifikovaných veľa konjugatívnych plazmidov u rôznych druhov streptokokov (C l e w e l l, 1981). Rozoznávajú sa dve hlavné

kategórie týchto plazmidov (C l e w e l l , 1985). Jeden typ bol zistený len u *E. faecalis*, veľkosť týchto plazmidov je viac ako 45 kb. Ďalší typ má veľkosť 22 - 30 kb, prenáša sa len pri konjugáciách na pevnom povrchu s frekvenciou 10^{-3} - 10^{-5} v rámci druhu. Do tejto kategórie by mohli patriť aj nami demonštrované plazmidy, o čom svedčia jednak naše neúspešné pokusy s konjugáciami v tekutom médiu, jednak zistená frekvencie prenosu. Konjugatívny prenos tetracyklínovej rezistencie u bacherových baktérií *E. faecium* s frekvenciou 10^{-2} - 10^{-4} v rámci druhu popisujú vo svojej práci L a u k o v á a i. (1990). Konjugatívne plazmidy u bakteriálneho druhu *S. bovis* neboli doposiaľ v literatúre popísané.

Literatúra

- BONDI, N. - MESSI, P. - BORGHI, V. - MANICARDI, G.: Conjugal plasmids in group D streptococci. *Microbiologica*, 7, 1984, s. 133-140.
- CLEWELL, D. B.: Plasmids, drug resistance, and gene transfer in genus *Streptococcus*. *Microbiol. Rev.*, 45, 1981, s. 409-436.
- CLEWELL, D. B.: Sex pheromones, plasmids and conjugation in *Streptococcus faecalis*. In: The origin and evolution of sex, Alan R. Liss, Inc., 1985, s. 13-28.
- DEHORITY, B. A. - GRUBB, J. A.: Characterisation of the predominant bacteria occurring in the rumen of goats (*Capra hircus*). *Appl. Envir. Microbiol.*, 33, 1977, s. 1030-1036.
- DUNNY, G. M. - CHRISTIE, P. J. - ADSIT, C. J. - BARON, E. S. - NOVICK, R. P.: Effects of antibiotics in animal feed on the antibiotic resistance of the gram positive bacterial flora in animals and man. In: Commissioned reports summarizing studies on antibiotic use in animal raising, 1979, s. 557-565.
- FONTY, G. - JOUANY, J. P. - SENAUD, J. - GRAIN, J.: The evolution of microflora, microfauna and digestion in the rumen of lambs from birth to four months. *Can. J. Sci.*, 64, 1984, s. 165-166.
- FONTY, G. - GOUET, P. - JOUANY, J. P. - SENAUD, J.: Establishment of the microflora and anaerobic fungi in the rumen of lambs. *J. gen. Microbiol.*, 133, 1987, s. 1835-1843.
- FORSBERG, C. W. - CROSBY, B. - THOMAS, D. Y.: Potential for manipulation of the rumen fermentation through the use of recombinant DNA techniques. *J. anim. Sci.*, 63, 1986, s. 310-325.
- HESPELL, R. B.: Biotechnology and modifications of the rumen microbial ecosystem. *Proc. Nutr. Soc.*, 46, 1987, s. 407-413.
- HINTON, M. - LINTON, A. H. - HEDGES, A. J.: The ecology of *Escherichia coli* in calves reared as dairy cow replacements. *J. appl. Bacteriol.*, 58, 1985, s. 131-138.
- HORODNICEANU, T. - BUU-HŌI, A. - LE BOUGUENEC, CH. - BIETH, G.: Narrow host range of some streptococcal R plasmids. *Plasmid*, 8, 1982, s. 199-206.
- HUNGATE, R. E.: The rumen and its microbes. New York, Acad. Press 1966.
- KLAENHAMMER, T. R.: Method for plasmid isolation in *Lactobacilli*. *Curr. Microbiol.*, 10, 1984, s. 23-28.
- LATHAM, M. I. - JAYNE-WILLIAMS, D. J.: Streptococci in the alimentary tract of the ruminant. In: Streptococci, Lodon, Acad. Press 1978, s. 207-243.
- LAUKOVÁ, A. - KUNCOVÁ, M. - KMEŤ, V.: Isolation of several conjugative plasmids of the rumen bacteria *Enterococcus faecium*. *Biológia*, 7, 1990, s. 533-538.
- MACRINA, F. L. - KOPECKO, D. J. - JONES, K. R. - AYRES, D. J. - McCOWEN, S. M.: A multiple plasmid-containing *Escherichia coli* strain: convenient source of size reference plasmid molecules. *Plasmid*, 1, 1978, s. 417-420.
- MANN, S. O. - MASSON, F. M. - OXFORD, A. E.: Facultative anaerobic bacteria from the sheep's rumen. *J. gen. Microbiol.*, 10, 1954, s. 142-149.

- NEVE, H. - GEIS, A. - TEUBER, M.: Conjugal transfer and characterization of bacteriocin plasmids in group N (lactic acid) streptococci. *J. Bacteriol.*, 157, 1984, s. 833-838.
- SMITH, R. H.: The development and function of the rumen in milk-fed calves. *J. agric. Sci.*, 52, 1959, s. 72-78.
- SOKOL, A. - BANYAI, Š. - PAULÍK, Š. - KMEŤ, V. - VARGOVČÍKOVÁ, A.: Porovnávacie štúdium frekvencie mobilných a mobilizovateľných plazmidov rezistencie, kolivnogenie a hemolytickej aktivity u *E. coli* izolovaných zo zdravých a hnačkujúcich teliat. *Zbor. vedeckých Prác ÚEVM Košice, II*, 1978, s. 64-74.
- WRAY, C.: Some aspects of the occurrence of resistant bacteria in the normal animal flora. *J. Antimicrobial. Chem.*, 18, Suppl. C, 1986, s. 144-147.
- ZIOLECKI, A. - BRIGGS, C. A.: The microflora of the rumen of young calf: II. Source, nature and development. *J. appl. Bacteriol.*, 24, 1961, s. 148-163.
- ZIOLECKI, A. - TOMERSKA, H. - WOJCIECHOWICZ, M.: Pectinolytic activity of rumen streptococci. *Acta microbiol. pol.*, 4, 1972, s. 183-188.

Došlo 25. 6. 1992

JONECOVÁ, Z. - MAREKOVÁ, M. - KMEŤ, V. (Research Institute of Experimental Veterinary Medicine, Košice; Institute of Animal Physiology, Slovak Academy of Sciences, Košice, Slovak Republic):

The occurrence of antibiotic-resistant strains of streptococci in the ingesta of calves.
Vet. Med. - Czech, 38, 1993 (2): 75-81.

The occurrence and antibiotic-resistance spectrum of some strains of rumen streptococci were investigated in calves of four age categories in the milk diet period at 1-3, 4-7, 8-14 days of age and 6-8 weeks of age. More than 75 % of the strains isolated from the calves of all age categories were resistant to more than one tested antibiotic (tetracycline, neomycin, erythromycin, streptomycin, chloramphenicol). The average number of streptococci isolated from the ingesta of calves during the period of observation was 10^5 per ml.

The per cent of resistant strains showed an increasing trend from birth to the age of 8-14 days (Tab. I). The occurrence of resistant strains in 6-8 week calves was even lower than in the calves of the youngest age category. A four-marker type of resistance (41.6 - 50 %) prevailed within 14 days of age. Two-marker types of resistance (42.6 %) occurred most frequently in the calves of the oldest age category. Tab. II shows the spectrum of resistant strains. Tetracycline-resistant amylolytic strains of *Streptococcus bovis* were selected from among the isolated strains to be used as donor strains in conjugation experiments. Successful resistance transmission was observed in solid-surface conjugation. The transmission frequency ranged within the transconjugate values of 10^{-3} to 10^{-5} per donor cell within the species (Tab. III). A chromosomally rifampicin-resistant strain of *Streptococcus bovis* BM114 was used as a recipient as it did not contain any plasmids and was sensitive to the tested antibiotics. Agarose-gel electrophoresis was used to visualize the presence of plasmid DNA in donor strains (Fig. 1).

calves; rumen streptococci; resistance to antibiotics; plasmids

Kontaktná adresa:

MVDr. Zuzana Jonecová, CSc., Ústav experimentálnej veterinárnej medicíny, Hlinkova 1/A, 040 01 Košice
 Tel. 095/28151, fax 095/31853

Upozorňujeme čtenáře, že v čísle 3/1993 časopisu

VETERINÁRNÍ MEDICÍNA

mají být uveřejněny tyto příspěvky:

Kozdera A., Věžník Z., Ryšavá L.: Průměrné hladiny testosteronu u býků po stimulaci GnRH v odchovných a inseminačních stanicích

Bomba A., Králiček E., Žitňan R., Králičeková E., Poláček M.: Hodnotenie úrovne minerálneho metabolizmu teliat v období mliečnej výživy a odstavu na základe vybraných parametrov v krvi

Bomba A., Paulík Š., Králiček E., Žitňan R., Poláček M.: Využitie vybraných parametrov v sére a krvi teliat pri posudzovaní úrovne dusíkového a energetického metabolizmu

Šesták K., Iša P.: Současné poznatky o rotavirech se zaměřením na rotaviry prasat

Đuran A.: Odber venóznejskrvi a fixácia podbrušných ciev u kráv produkčného typu

ZRYCHLENÁ METODA STANOVENÍ PSYCHROTROFNÍCH BAKTÉRIÍ V SYROVÉM MLÉČE

E. Urbanová

Výzkumný ústav veterinárního lékařství, Brno

Vypracovaná zrychlená kultivační metoda stanovení počtu psychrotrofních bakterií v mléce (zkrácený kultivační režim při pokojové teplotě, 72 h) byla ověřena na 32 vzorcích mléka ze sběrných tanků a svozných cisteren. Výsledky metody byly srovnávány s metodami s klasickým kultivačním režimem (při teplotě 7 °C po dobu 10 dní) na MPA s glukózou a MPA s laktózou. Byly prokázány statisticky významné ($P = 0,01$), vysoké míry korelace mezi hodnocenými metodami ($r = 0,972$, resp. $r = 0,954$).

mikrobiální jakost mléka; psychrotrofní mikroflóra; metody stanovení; kultivační režim

Kvalita syrového mléka ovlivňuje velmi podstatně nejen kvalitu běžného konzumního mléka, ale i technologii výroby zakysaných mléčných výrobků, másla, sýrů, tzv. trvanlivého mléka ošetřeného ultravysokým tepelným záhřevem i sušenou kojeneckou a dětskou výživu apod. Proto je běžné, že zpracovatelské závody při smluvních nákupech (popř. udělování koncesí) preferují jakost suroviny, a to nejen z hlediska hygienického, ale i technologického. Biologická hodnota mléka je významně ovlivňována činností přítomných kontaminujících mikroorganismů.

Mnoho našich odborníků (Havlová a Cvak, 1990; Herian, 1990; Kadlec, 1990; Urbanová aj., 1993a) dokládá, že pro prognózu chování mléka při technologických postupech a trvanlivosti mléčných výrobků je významným ukazatelem počet psychrotrofních bakterií v syrovém mléce. Psychrotrofní mikroflóra, jako původce technologických problémů, nabyla na významu především s rozšířením chladírenské techniky v procesu získávání a zpracování mléka. Nízké teploty neovlivňují intenzivní činnost enzymatických systémů proteáz a lipáz psychrotrofních bakterií, které se tak podílí na změnách struktur bílkovin a tuků. Změněné vlastnosti suroviny se promítají do zpracovatelských postupů, vedou k závadám v technologii i k provozním ztrátám.

Při studiu metod stanovení psychrotrofních mikrobiálních kontaminantů byly v používaných i publikovaných metodikách zjištěny značné rozdíly, u nás podporované především neúplnou legislativou, nepřesným používáním pojmů psychrotrofní a psychrofilní bakterie. Podle optimální teploty růstu jsou charakterizovány jako psychrotrofní ty bakterie, které mají optimum růstu kolem 20 °C a rostou od 5 °C (ale i méně), bez ohledu na horní hranici růstových teplot. Psychrofilní bakterie mají optimum růstu kolem 5 °C a rostou od 0 °C (ale i méně) jen do 20 °C (nebo méně). Podle tohoto dělení jsou do psychrofilních řazeny mikroorga-

nismy půdní a vodní, bakterie studených pramenů a oceánů. O tom, že v této oblasti existují diskrepance a nedostatky svědčí i Veterinární laboratorní metodiky VI, Hygiena potravin (1990). Tyto mimo v bodě 4.4.12 uváděného stanovení počtu psychrotrofních mikroorganismů (kultivační režim téměř klasický $5 \pm 1^\circ\text{C}$ po dobu 10 dnů), publikují v bodě 4.4.13 i metodiku stanovení psychrofilních mikroorganismů s kultivačním režimem $20 \pm 1^\circ\text{C}$ po dobu 5 dní. Tuto metodu, ve světle výše uvedených informací, je nutno označit jako nevhodnou.

V předložené práci je popsána zrychlená kultivační metoda stanovení psychrotrofních bakterií v syrovém mléce.

MATERIÁL A METODA

Metoda byla ověřována na vzorcích syrového kravského mléka z úchovných nádrží zemědělských farem a svozných cisteren mlékárny v Brně. Jako ředící médium byl použit sterilní fyziologický roztok (pH 7,2), jako pevná kultivační půda masopeptonový agar (ČSN 86 4342) s 1 % glukózy. Kultivace byla prováděna při pokojové teplotě (PT) po 3 dny. Výsledky byly porovnávány s klasickou kultivací (10 dní při 7°C). Byl stanoven koeficient lineární korelace (r) jako míra korelace mezi výsledky testovaných metod a vyhodnocena statistická závislost. Statistická data byla zpracována na počítači IBM PC/AT, s využitím systému programů STAT (Matoušková a Cigler, 1990).

PRACOVNÍ POSTUP

Vzorek syrového mléka po důkladném promíchání byl ředěn dle ČSN 57 0101. Pro stanovení počtu psychrotrofních kontaminantů v syrovém mléce bylo pro inokulaci nejvhodnější ředění 10^{-2} , 10^{-3} a 10^{-4} . Při předpokladu silněji kontaminovaného mléka bylo inokulováno ředění 10^{-3} , 10^{-4} a 10^{-5} . Ke kultivačnímu médiu (masopeptonový agar - MPA) po sterilizaci v autoklávu (15 min při teplotě 121°C) byla přidána glukóza v konečné koncentraci v médiu - 1 %. Teplá půda (45°C) byla rozdělena po 20 ml do sterilních Petriho misek ($\varnothing$ 90 mm). Po ztuhnutí média byly misky předsušeny v termostatu při teplotě 37°C po dobu 60 min. Inokulace byla prováděna paralelně na dvě misky. Sterilní pipetou bylo přeneseno 0,2 ml příslušného ředění na pevnou půdu a stejnoměrně rozetřeno sterilní skleněnou hokejkou. Po kultivaci (PT/72 h) byly odečítány narostlé kolonie, výpočet výsledků byl proveden shodně jak uvádí ČSN 57 0101.

VÝSLEDKY

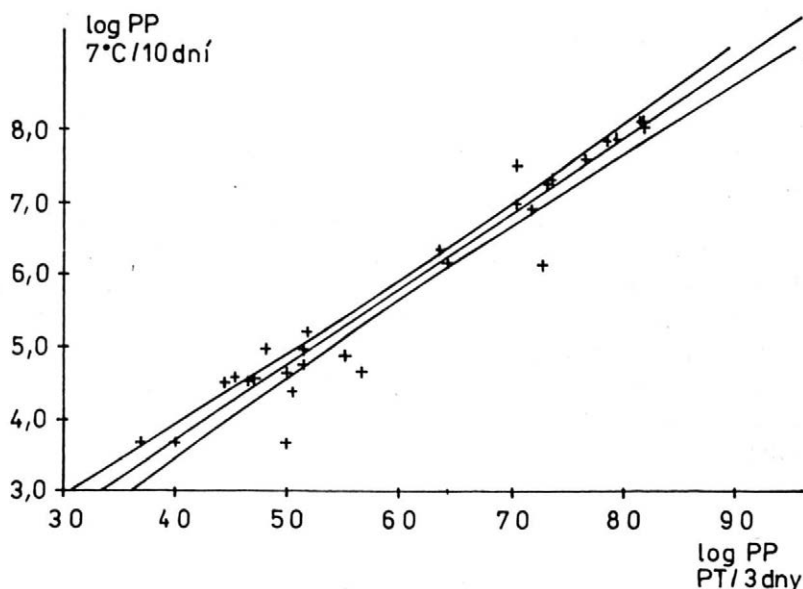
Zrychlená metoda stanovení psychrotrofních bakterií byla testována na 32 vzorcích syrového mléka. Její výsledky byly srovnávány s výsledky metod kultivovaných klasicky při teplotě 7°C po dobu 10 dnů. Byly prokázány statisticky významné, vysoké míry korelace. Při srovnání počtů psychrotrofních bakterií, získaných testací na MPA s glukózou při kultivaci v PT po dobu tří dnů a při teplotě 7°C po dobu 10 dnů, byla získána vysoká míra korelace ($r = 0,972$) - obr. 1. Tato závislost je statisticky významná při $P = 0,01$. Z mnoha výše naznačených důvodů

byla zrychlená metoda stanovení počtu psychrotrofních bakterií srovnávána i s klasickou metodou kultivace při teplotě 7 °C po dobu 10 dnů, na MPA a 1% laktózou (ČSN 57 0101). Při porovnání výsledků byla dosažena rovněž vysoká míra korelace ($r = 0,954$), statisticky významná ($P = 0,01$) - obr. 2. Vysokou míru korelace mezi testy, danou vysokou statistickou významností korelačních koeficientů, potvrdily i výsledky statistického zhodnocení dosažených průměrných hodnot ($\bar{x}$) psychrotrofních bakterií u jednotlivých metod, publikované v předcházející práci (Urbanová, 1993b). Tím bylo prokázáno, že zrychlená metoda stanovení úrovně psychrotrofních bakterií koreluje s metodami kultivace při teplotě 7 °C po dobu 10 dnů.

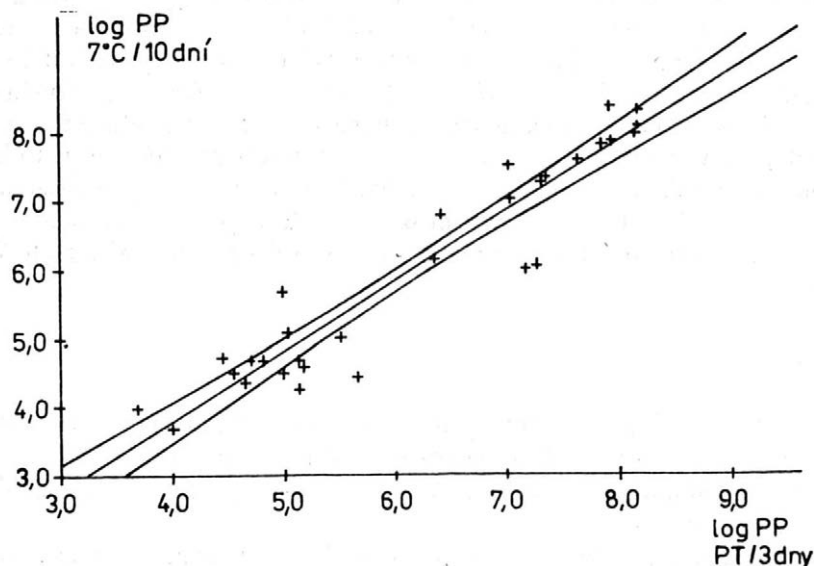
DISKUSE

Nároky na mikrobiální kvalitu syrového mléka a mléčných výrobků se budou i nadále zvyšovat. Proto je třeba věnovat pozornost i psychrotrofním a termorezistentním kontaminujícím bakteriím, které především jsou schopny narušit jejich jakost a nutriční hodnotu.

Stanovení úrovně psychrotrofních bakterií je důležitým ukazatelem technologické jakosti nakupované suroviny, ale současně i ukazatelem hygienické úrovně získávání mléka v zemědělské prvovýrobě, především sanitace dojíčích zařízení (Joosta a Britz, 1986; Malíková aj., 1987; Malíková aj., 1988). Vzhledem k současným snahám pozvednout úroveň mikrobiální kvality syrového mléka byly



1. Regresní přímka vzájemné korelace mezi počty psychrotrofních bakterií stanovenými na maso-peptonovém agar s glukózou ve dvou kultivačních režimech (7 °C/10 dní; PT/3 dny) - Regression line of mutual correlations between the counts of psychrotrophic bacteria determined on meat-peptone agar with glucose under two cultivation regimes (7 °C/10 days; LT/3 days)



2. Regresní přímka vzájemné korelace mezi počty psychrotrofních bakterií stanovenými na masopeptonovém agaru s glukózou (PT/3 dny) a masopeptonovém agaru s laktózou 7 °C/10 dní - Regression line of mutual correlations between the counts of psychrotrophic bacteria determined on meat-peptone agar with glucose (LT/3 days) and on meat-peptone agar with lactose (7 °C/10 days)
PT = pokojová teplota - laboratory temperature
PP = počtu psychrotrofních - number of psychrotrophic bacteria

studovány, zpracovány a hodnoceny vhodné metody stanovení počtu psychrotrofních bakterií (Urbanová aj., 1988; Urbanová, 1993b), které by přispěly k racionalizaci kontrolní činnosti kvalitní, rychlou metodou. Značnou komplikací pro praktické využití tohoto stanovení je dlouhá kultivační doba standardní metodiky (10 dní při teplotě 7 °C). Předložená zrychlená metoda stanovení psychrotrofních bakterií má zkrácený kultivační režim (PT/72 h) a je uplatnitelná v široké praxi potravinářských a veterinárních kontrolních laboratořích, využívá běžných tuzemských médií a nevyžaduje nákladné přístrojové vybavení. Podstatné zkrácení doby kultivace je z hlediska praktického využití této metody velmi významné, stejně jako skutečnost, že nemusí být ke kultivaci použito termoboxu, resp. chladničky.

Literatura

- ČSN 57 0101. Mikrobiologické zkoušení mléka a mléčných výrobků. 1964.
ČSN 86 4342. Živné půdy pro zkoušení biologických přípravků a infúzních roztoků. 1965.
HAVLOVÁ, J. - CVAK, Z.: Nové směry v metodách hodnocení syrového mléka v ČSFR. *Prům. Potravn.*, 41, 1990, s. 633.81-633.83.
HERIAN, K.: Tendence výroby kysломlečných výrobků. *Prům. Potravn.*, 41, 1990, s. 79.1-81.3.

- JOOSTE, P. J. - BRITZ, T. J.: The significance of flavobacteria as proteolytic psychrotrophs in milk. *Milchwissenschaft*, 41, 1986, s. 615-621.
- KADLEC, I.: Jakost syrového kravského mléka vzhledem k vývozu mléka a mlékárenských výrobků. *Prům. Potravn.*, 41, 1990, s. 189.17-192.20.
- MALÍKOVÁ, M. - URBANOVÁ, E. - VYHNÁLKOVÁ, J. - RŮŽIČKOVÁ, V. - MAŠEK, J. - BARTOŠ, J. - JANKOVÁ, B. - DOČEKALOVÁ, H. - PECHÁČEK, M. - TICHÁČEK, A. - DROZD, P.: Mikrobiologická problematika u mléčné výživy lidí. [Výzkumná zpráva.] Brno, Výzkumný ústav veterinárního lékařství 1987. 31 s.
- MALÍKOVÁ, M. - VYHNÁLKOVÁ, J. - URBANOVÁ, E. - RŮŽIČKOVÁ, V. - GAJDŮŠKOVÁ, V. - MAŠEK, J. - JANKOVÁ, B. - TICHÁČEK, A. - PELIKÁN, J. - DROZD, P. - SMÉKAL, L. - GRULICH, J.: Podmínky produkce výběrového mléka ve VKK s volným bezstelivým ustájením. [Výzkumná zpráva.] Brno, Výzkumný ústav veterinárního lékařství 1988. 33 s.
- MATOUŠKOVÁ, O. - CIGLER, M.: Systém programů pro základní statistiku STAT. Brno, Výzkumný ústav veterinárního lékařství 1990. 30 s.
- URBANOVÁ, E. - MALÍKOVÁ, M. - VYHNÁLKOVÁ, J.: Rychlé způsoby zjišťování úrovně mikrobiální kontaminace. [Výzkumná zpráva.] Brno, Výzkumný ústav veterinárního lékařství 1988. 48 s.
- URBANOVÁ, E. - VYHNÁLKOVÁ, J. - MALÍKOVÁ, M.: Závislost počtu mezofilních a psychrotrofních bakterií u vzorků z prvovýroby mléka. *Potravn. Vědy*, 11, 1993, s.
- URBANOVÁ, E.: Hodnocení metod stanovení počtu psychrotrofních bakterií v syrovém mléce. *Potravn. Vědy*, 11, 1993, č. 2.
- VETERINÁRNÍ LABORATORNÍ METODIKY VI. Hygiena potravin. SVS ČS a ŠVS SR, Bratislava 1990, 130 s.

Došlo 7. 5. 1992

URBANOVÁ, E. (Veterinary Research Institute, Brno):

An accelerated procedure of determination of psychrotrophic bacteria in raw milk.

Vet. Med. - Czech, 38, 1993 (2): 83-88.

Determination of the counts of psychrotrophic bacteria offers an important indicator of the technological quality of purchased raw milk, and also an indicator of the hygienic level of its production in agricultural primary production, particularly with respect to the sanitation of milking machines. The applied and published methods of determination of the counts of psychrotrophic microbial contaminants have revealed large differences, multiplied by insufficient legislation in this country, by vague and even wrong definition of the given group of bacteria, and/or by the misuse of the concepts psychrotrophic and psychrophil bacteria.

Since the level of the microbial quality of raw milk should be increased, we investigated and developed convenient methods of determination of psychrotrophic bacterium counts in the last years (Urbanová et al., 1988; Urbanová, in print): these methods should facilitate the reasonable control applying an expeditious procedure. A long incubation time of standard procedure is a disadvantage complicating the practical use of the previous procedure (10 days at a temperature of 7 °C). An accelerated procedure of psychrotrophic bacterium cultivation to determine their counts in raw milk is described in this paper.

After thorough stirring, a raw milk sample is diluted with sterile physiological solution (pH 7.2) pursuant to the standard ČSN 57 0101. The dilutions 10^{-2} , 10^{-3} , 10^{-4} were the most convenient for inoculation when the counts of psychrotrophic contaminants were determined in raw milk. The dilutions 10^{-3} , 10^{-4} , 10^{-5} were inoculated if higher milk contaminations were expected. Glucose at the end concentration of 1 % in the medium was added to the culture medium (meat-peptone agar - MPA) after sterilization in autoclave (15 min at a temperature of 121 °C). The warm medium (45 °C) was filled in sterile Petri dishes (Ø 90 mm) by 20 ml in each. After medium solidification the dishes were pre-dried at thermostat at a temperature of 37 °C for 60 minutes. Two dishes were parallelly inoculated. An amount of 0.2 ml of the given dilution was transferred by sterile pipette to a solid medium and smeared homogeneously with sterile glass spatula. The cultivation took place at laboratory temperature (LT) for three days. Grown colonies were identified after cultivation. The results of this accelerated procedure were compared with traditional cultivation (7 °C/10 days). A correlation coefficient was determined as the rate of correlation between the results of tested methods and statistical significance was evaluated.

The accelerated method of determination of the counts of psychrotrophic bacteria was tested in 32 samples of raw milk. Statistically significant high correlation rates were demonstrated. Comparison of the results of determination of psychrotrophic bacteria by means of tests on MPA with glucose, cultivation at LT for three days and at 7 °C for 10 days, showed the high rate of correlation ($r = 0.972$, Fig. 1). This correlation is statistically significant at $P = 0.01$. The accelerated method was also compared with the traditional method of incubation on MPA with 1 % lactose (7 °C/10 days). In this case the comparison of the results also showed the high rate of correlation ($r = 0.954$), statistically significant ($P = 0.01$) - Fig. 2. The accelerated method of determination of the counts of psychrotrophic bacteria was demonstrated to correlate with the methods of incubation at a temperature of 7 °C for ten days.

The described procedure can be applied at food-control and veterinary control laboratories on a large scale as commonly accessible media are used and no costly apparatuses are necessary. The shortening of incubation time is a very important feature in view of practical application of this procedure.

microbial quality of milk; psychrotrophic microflora; methods of determination; cultivation regime

Kontaktní adresa:

RNDr. Eva Urbanová, CSc., Výzkumný ústav veterinárního lékařství, Hudcova 70,
621 32 Brno
Tel. 05/747493, fax 05/752240

ETOLOGICKÁ DETERMINÁCIA MATERSKÉHO SPRÁVANIA U OŠÍPANÝCH

A. Hvozďík

Univerzita veterinárskeho lekárstva, Košice

Študovali sme epimeletické prejavy ošípaných, ako formy materského správania a ich vplyvy na mláďatá. Cieľom bolo porovnávať určené fenomény v ich biologických, sociálnych a zážitkových premenných v správaní sa pozorovaných zvierat. Porovnávali sme dve kategórie matiek a ich mláďatá. Prvá skupina zvierat bola predstavovaná prvoroďičkami a druhú skupinu tvorili jedinci po treťom pôrode. Priemerný index sociability (IS), ako ukazovateľ materského správania mal v prvej skupine hodnotu $\bar{x} = 1,7$ a v druhej skupine $\bar{x} = 2,0$. Podobné rozdiely sme zistili aj u jednotlivých vrhov mláďat od týchto matiek, a to v hodnotách pre prvú skupinu $\bar{x}_A (a - g) = 1,8$ a pre druhú skupinu $\bar{x}_B (a - g) = 2,0$. Pri celkovom hodnotení porovnávací analyza ukázala pozitívnu koreláciu v prospech sociálnej adaptácie zvierat po treťom pôrode oproti jedincom prvej skupiny. V týchto záveroch je potrebné hľadať aj riziká negatívnych zážitkov zvierat v priebehu ich gravidity s následným distresovým vplyvom na ich mláďatá, ale aj na ich celkové reprodukčné prognózy.

ošípané; interakcie matka - mláďatá; etológia; epimeletické správanie; sociabilita; sociogenéza

Sociálne vzťahy matky a mláďat sú základnými predpokladmi ich biologického a psychosociálneho vývoja. Otázkou však ostáva, ako tieto skutočnosti vyznievajú v ich preddomestikačných a domestikovaných konfrontáciách. Etologická výbava súčasných foriem domestikovaných ošípaných sa totiž nevymyká všeobecnému riziku etopatie u všetkých domestikovaných zvierat. Plemenitba a jej experimentovanie s ekonomickým a pragmatickým cieľom ešte viacej exponuje túto realitu.

Ošípané majú svoje etologické špecifiká. Či už sú to sklony ku infrašpecifickej agresivite, alebo ich zvýšená excitabilita v ich správaní. Fyziologické, imunologické a produkčné súvislosti týchto charakteristík len dokresľujú celkový profil tohto druhu zvierat a obzvlášť oprávňujú k štúdiu tak senzitívneho obdobia, akým je sociálna adaptácia matky a mláďat, zo všetkými dôsledkami čo tieto interakcie so sebou prinášajú. Preto neprekvapuje ani pozornosť odborníkov, ktorí sa z rôznych hľadísk venujú týmto problémom (Shillito - Valser, 1978; Jensen, 1988; Hvozďík, 1991).

Preto aj našim cieľom bolo etologicky študovať a porovnávať správanie sa matiek ku mláďatám u prvôstok a u zvierat, ktoré majú reprodukčnú skúsenosť z troch po sebe idúcich pôrodov. V týchto intenciách ďalej študovať dôsledky na sociogenézu mláďat a zamýšľať sa nad genézou agresívneho správania sa u tohto druhu zvierat.

MATERIÁL A METÓDY

Celé etologické štúdium zahŕňovalo 40 matiek a 280 mláďat, landrase x biela ušľachtilá, rozmnožovacieho chovu. Zohľadňujúcimi kritériami bol dobrý zdravotný stav a kondícia zvierat. Pozorovania boli realizované vo veľkochovných podmienkach, zo skrytého miesta. Ustajňovacie priestory mali rozmery 3,55 x 2 m. Kŕmny režim bol konvenčný pre dané chovné podmienky. Zvieratá boli rozdelené do dvoch kategórií.

Kategória A (1 - 20) sa skladala z 20 matiek, ktoré boli prvôtky (prvý pôrod) a ich 140 mláďat. Snímkovacia jednotka sa skladala z jednej matky a jej siedmich mláďat, označenými podľa ich kategórie, napr. A1 (a - g), A2 (a - g) atď. Druhá kategória B (1 - 20) bola analogická prvej skupine, ale matky boli treťorodičky (tretí pôrod). Pozorovania trvali od narodenia až do odstavy zvierat, t. j. do 28 dňa. Snímkovania boli vykonávané u každej matky so svojimi mláďatmi v čase od 8,00 do 10,00 h, od 14,00 do 16,00 h a od 19,00 do 20,00 hodín. V týchto časových jednotkách boli zaznamenané všetky určené formy správania. Frekvencia pozorovaní bola každý deň do 10. dňa života mláďat a v ďalšom období do odstavy; snímkovania boli realizované každý druhý deň u každého vrhu.

Keďže materské správanie je sociálnou aktivitou zvierat, index sociability matiek, ako jeho indikátor sme získali výpočtom z dvoch postulátov. Epimeletické správanie matiek - počet invitačných reakcií k mláďatom (kontakt, vokalizácia, kŕmenie) a et-epimeletického správania, t. j. počtom vyžadovaných reakcií mláďat k matke (počet kontaktov, digestívne pokusy, digescie). Ďalším našim záujmom bolo sledovať a porovnávať sociabilitu mláďat u týchto dvoch kategórií matiek. To znamená študovať ich korelácie ako výsledok ich sociálneho vplyvu a či prípadné rozdiely sú štatisticky významné. Za týmto účelom bol u každého mláďaťa tiež vypočítaný index sociability v procese utvárania sociálnej hierarchie, ktorá vznikala prostredníctvom agonistických stretov s následným obsadzovaním mliečnych cisterien. Mláďatá boli samičieho pohlavia a všetky sledované formy správania boli zaznamenávané zápisom do etogramov.

Škálovanie jednotlivých foriem správania bolo: epimeletické aktivity - 2 body, et-epimeletické aktivity - 1 bod. Výpočtom sme získali index sociability matky (IS), ktorý čím mal vyššiu hodnotu, tým materské správanie bolo adaptabilnejšie. Škálovanie agonistických interakcií u mláďat bolo: otvorený útok - 5 bodov, ustúpenie - 3 body a útek - 1 bod.

Index sociability u každého zvierťa bol vypočítaný z pomeru súčtu súčinov sociálnej aktivity a príslušnej bodovej hodnoty pre danú aktivitu k súčtu sociálnych aktivít hodnoteného zvierťa. Vyššie hodnoty IS určovali dominantných jedincov a naopak.

$$IS = \frac{\sum_{i=1}^n (\text{sociálna aktivita} \times \text{bodová hodnota})}{\text{súčet sociálnych aktivít}}$$

pre IS mláďat: i = 1 - otvorený útok
i = 2 - ustúpenie
i = 3 - útek

pre IS matiek: $i = 1$ - epimeletické správanie
 $i = 2$ - et-epimeletické správanie

VÝSLEDKY

Priemerný index sociability u matiek skupiny A (1 - 20) bol $\bar{x} = 1,7$ a u skupiny B (1 - 20) mal hodnotu $\bar{x} = 2,0$ (tab. I). Pre štatistické spracovanie výsledkov sme použili dvojvýberový t -test pre porovnanie obidvoch výberových premien. Predpokladom použitia tohto testu je homogenita rozptylu s_1^2 a s_2^2 , ktorá bola určená F -testom pre rozptyl. Zistený rozdiel rozptylov nie je štatisticky významný, čo znamená, že podmienky pre použitie t -testu boli splnené. Na základe jeho vyhodnotenia možno konštatovať, že medzi výberovými priermi IS v obidvoch skupinách matiek je signifikantný rozdiel (obr. 1).

I. Indexy sociability (IS) matiek skupín A (1 - 20) a B (1 - 20) - The indexes of sociability (IS) of the sows of groups A (1 - 20) and B (1 - 20)

A	IS	B	IS
A ₁	1,33	B ₁	1,83
A ₂	1,71	B ₂	2,30
A ₃	1,23	B ₃	2,10
A ₄	1,00	B ₄	1,60
A ₅	1,62	B ₅	1,20
A ₆	1,33	B ₆	1,20
A ₇	1,90	B ₇	2,60
A ₈	1,78	B ₈	2,32
A ₉	2,00	B ₉	1,90
A ₁₀	2,10	B ₁₀	1,98
A ₁₁	1,44	B ₁₁	1,99
A ₁₂	1,58	B ₁₂	2,43
A ₁₃	1,90	B ₁₃	1,93
A ₁₄	1,73	B ₁₄	2,60
A ₁₅	1,33	B ₁₅	2,10
A ₁₆	1,66	B ₁₆	2,22
A ₁₇	1,80	B ₁₇	1,90
A ₁₈	2,00	B ₁₈	2,20
A ₁₉	1,79	B ₁₉	1,60
A ₂₀	1,96	B ₂₀	1,98
$\bar{x}_A$	1,7	$\bar{x}_B$	2,0

Táto zistená diferencia epimeletických aktivít v prospech matiek kategórie B (1 - 20) nás motivovala sledovať a porovnávať aj jednotlivé vrhy mláďat, to znamená do akej miery materské správanie determinuje sociogenézu ciciakov. Zo zistených priemerných hodnôt IS jednotlivých vrhov skupín A (1 - 20) a B (1 - 20) bol vypočítaný index sociability v rámci týchto dvoch skupín, pričom v prvej kategórii bola hodnota $\bar{x}_A(a - g) = 1,8$ (tab. II) a v druhej kategórii B(1 - 20) bola hodnota $\bar{x}_B(a - g) = 2,0$ (tab. III). Aj v týchto postulátoch boli použité tie isté testovacie kritéria ako u matiek. Na základe vyhodnotenia *t*-testu sme konštatovali aj v tomto prípade štatisticky významný rozdiel v prospech skupiny $\bar{x}_B(a - g)$ - obr. 2. Pri celkovom hodnotení porovnávacia analýza ukázala pozitívnu koreláciu pre matky kategórie B (1 - 20) a ich jednotlivých vrhov mláďat, oproti druhej skupine matiek A (1 - 20) so svojimi

II. Indexy sociability (IS) mláďat matiek skupiny A (1 - 20) - The indexes of sociability (IS) of the young of the sow group A (1 - 20)

Matky ¹	Mláďatá ²							$\bar{x}_{A(a-g)}$
	a	b	c	d	e	f	g	
A ₁	1,20	1,90	2,13	2,18	1,90	1,63	2,11	1,721
A ₂	2,18	2,13	1,16	1,92	1,82	2,00	1,92	1,875
A ₃	2,10	2,08	2,19	1,83	1,90	1,22	1,11	1,775
A ₄	2,13	2,20	2,25	1,12	1,13	1,85	2,20	1,840
A ₅	2,25	1,31	2,29	1,11	2,45	2,26	1,45	1,881
A ₆	2,30	1,12	1,40	1,37	1,38	1,93	1,94	1,634
A ₇	1,32	2,14	2,23	1,13	1,17	2,12	2,16	1,752
A ₈	1,30	1,40	1,97	1,83	1,73	2,00	1,54	1,681
A ₉	1,64	1,54	1,85	1,66	1,77	1,88	2,23	1,795
A ₁₀	1,12	1,85	2,33	2,22	1,16	2,22	1,98	1,828
A ₁₁	1,80	1,93	2,10	2,00	1,99	2,45	1,75	2,002
A ₁₂	2,47	1,89	1,90	1,00	2,68	2,80	1,49	2,032
A ₁₃	2,90	1,80	1,10	1,20	1,34	1,84	1,93	1,730
A ₁₄	2,33	1,42	1,88	1,23	1,11	2,40	2,10	1,781
A ₁₅	1,80	2,33	2,22	2,80	1,30	1,20	1,14	1,827
A ₁₆	1,28	1,63	2,73	2,82	2,01	1,74	1,58	1,970
A ₁₇	1,66	1,73	1,20	1,20	1,31	1,41	1,33	1,405
A ₁₈	2,23	2,44	1,33	1,27	1,22	1,18	2,01	1,668
A ₁₉	1,33	1,66	2,11	1,33	1,28	1,99	2,23	1,704
A ₂₀	1,18	1,93	1,22	1,11	2,11	2,18	2,22	1,707
$\bar{x}$								1,8

¹sows, ²youngs

ciciakmi. Behaviorálny obraz pozorovaných zvierat korešpondoval s uvedenými výsledkami. U skupiny matiek A (1 - 20) IS kolísal v rozpätí 1,33 - 2,10 (tab. I). Zvieratá s nižším IS sa prejavovali s málo expresívnymi vzorcami správania. Či už to boli invitačné reakcie vokalizačného, alebo kontaktného charakteru. Zvieratá s extrémne nízkymi hodnotami, napr. jedinci A₃ a A₄, pôsobili v prvých dňoch po pôrode až katalepticky s difúznymi prejavmi správania. Motorika u týchto matiek bola málo špecifická a bola pre samotné mláďatá riziková. Laktačné invitačné stereotypy boli tiež priamo úmerné jednotlivým koeficientom materského správania. Zvieratá s vyššími IS boli v tomto smere adaptované v priemere na 6. deň po pôrode (napr. A₈, A₉, A₁₉, A₂₀) a naopak problémy s epimeleticko-digestívnymi prejavmi sme pozorovali u zvierat s nižšími IS, keď k adaptácii dochádzalo na 13. - 15. deň po pôrode (napr. A₃, A₄, A₁₅).

III. Indexy sociability (IS) mláďat skupiny matiek B (1 - 20) - The indexes of sociability (IS) of the young of the sow group B (1 - 20)

Matky ¹	Mláďatá ²							$\bar{x}_{B(a-g)}$
	a	b	c	d	e	f	g	
B ₁	2,11	1,72	2,31	1,92	1,84	2,40	1,78	2,011
B ₂	1,63	1,88	2,60	2,30	1,55	1,71	1,99	1,951
B ₃	2,60	1,30	1,44	1,73	1,63	2,70	2,60	2,000
B ₄	2,64	2,89	1,66	1,83	2,12	2,45	2,66	2,321
B ₅	1,83	1,63	1,74	1,85	2,60	2,80	2,64	2,155
B ₆	1,30	1,67	2,69	2,73	2,24	2,30	1,95	2,125
B ₇	1,66	1,90	2,00	2,12	2,60	2,81	1,66	2,170
B ₈	1,67	1,73	2,84	2,60	2,73	1,93	2,15	2,235
B ₉	3,67	2,75	1,67	1,83	1,12	1,16	1,19	1,912
B ₁₀	1,81	2,30	3,64	2,70	2,84	1,60	1,74	2,375
B ₁₁	1,66	1,73	2,85	2,00	2,10	2,14	1,22	1,957
B ₁₂	1,94	1,84	1,99	1,30	2,70	1,40	2,20	1,910
B ₁₃	2,60	2,83	1,99	2,32	1,67	1,99	2,13	2,218
B ₁₄	2,11	1,40	1,90	2,89	1,10	1,90	1,11	1,772
B ₁₅	2,03	2,11	1,80	2,30	1,35	1,74	2,13	1,922
B ₁₆	1,33	1,00	1,73	2,73	2,95	1,12	1,73	1,798
B ₁₇	2,11	2,55	1,11	1,22	1,17	2,45	2,34	1,850
B ₁₈	2,55	1,95	2,10	1,28	1,44	2,02	1,84	1,882
B ₁₉	1,73	1,28	2,65	2,88	2,73	1,11	1,55	1,847
B ₂₀	1,13	2,34	1,88	2,02	2,60	2,88	1,72	2,078
$\bar{x}$								2,021

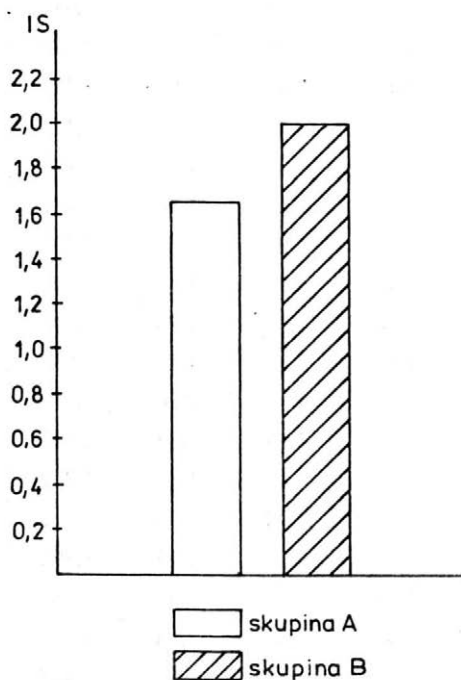
For 1 - 2 see Tab. III

Ako bolo spomínané, celkový obraz správania sa matiek determinoval aj správanie ich mláďat. Indexy sociability ciciakov v tejto kategórii prvôstok kolísali od 1,11 - 2,82 (tab. II). Prejavovalo sa to instabilitou sociálnej hierarchie. V tomto procese boli napr. jedinci známy v priemere na 8. deň života ako dominantní, t. j. zvieratá s vyššími hodnotami IS. Naopak submisívne zvieratá boli registrované v priemere na 6. deň a ich IS korešpondovali s touto skutočnosťou.

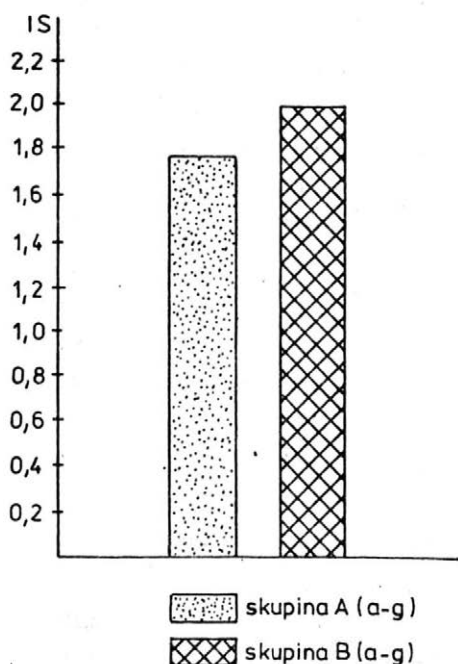
Hodnoty IS kategórie zvierat B (1 - 20) sa pohybovali v rozpätí 1,20 - 2,60 (tab. I). Adaptácia materského správania akcelerovala v priemere na 2. deň a táto behaviorálna hladina bola zachovalá v priebehu celého pozorovaného obdobia. IS ciciakov v tejto kategórii sa pohybovali od 1,00 do 2,95 (tab. III). Dominantné mláďatá boli známe v priemere na 4. deň života a submisívne zvieratá boli registrované v priemere na 2. deň života.

DISKUSIA

Poznatky o materskom správaní s ošípaných a ich epimeletických a et-epimeletických deriváciach sú z pohľadu modernej etológie predsa len nedostačujúce. Toto konštatovanie treba chápať v intenciách veterinárnej etológie vychádzajúcej zo svojej klinickej a medicínskej podstaty, rešpektujúc zviera ako jedinca a nie len jeho dru-



1. Porovnanie indexu sociability (IS) matiek skupín A a B - Comparison of the index of sociability (IS) of the sows of groups A and B



2. Porovnanie indexu sociability (IS) mláďat od matiek skupín A a B - Comparison of the index of sociability (IS) of the youngs from the sows of groups A and B

hovú príslušnosť. Táto skutočnosť ešte viac favorizuje funkčnosť väzby matka - mláďa a celého postnatálneho a juvenilného obdobia.

Aj naše štúdium potvrdilo zložitost týchto otázok a pestrosť vzťahov matky a mláďat, ale aj *vice versa*. Výber nášho študijného zamerania bol tiež podmienený skutočnosťou, do akej miery vrodené faktory materského správania sú posilňované učením a z tohto pohľadu ako ovplyvňujú mláďatá v ich sociogenéze. Poznatky, ktoré sme získali nám dávajú predpoklady sledovať etologický osud týchto mláďat samičieho pohlavia aj v dospelosti a tým kontrolovať ich reprodukčné prognózy. Celý komplex materského správania mal komplementárny charakter. Digestívna apetencia, ako primárny motivačný mechanizmus, zohráva významnú úlohu (F r a s s e r , 1973). Začiatky aktivít u matiek sme zaznamenali po narodení posledného mláďaťa. Ciciaky sa v tomto období skôr habituovali, ako zámerne správali. Obsadzovanie mliečnych cisterien sme zaznamenali v kategórii A (1 - 20) na 5. - 6. deň a v kategórii B (1 - 20) v priemere na druhý deň po pôrode. V oboch prípadoch sme pozorovali preferencie pektorálnych mliečnych cisterien. Motivácia digestívneho zážitku, ako novej hypotézy týchto tendencií, je z nášho hľadiska polemická. U matiek A₂, A₈, A₁₀, ale hlavne u zvierat B₂, B₃, B₇, B₈, bol objem pektorálnych cisterien výrazne menší, ako v strednej, alebo inguinálnej časti ventrálnej oblasti tela zvierat. Poznanie, že tento jav bol pozorovaný v významnej početnosti v kategórii B (1 - 20), naznačuje funkčný predpoklad skúsenosti matiek v behaviorálnej stimulácii k mláďatám, ktorá hypoteticky môže byť posilňovaná ich mne-mickou fixáciou rytmiky kardiovaskulárneho systému. Matky pritom ležali na jednej strane, hlavu a mliečnu žľazu vytáčali v exponovaný smer, nohami často pohybujúc, za neustálej vokalizácie. F r a s s e r (1973) vo svojej práci popisuje minútové intervaly vyúsťujúce do prudkého zvukového prejavu. Tento emocionálny prejav predchádza vlastnej ejakcii mlieka v jej priebehu ustáva. W h i t t e m o r e a F r a s s e r (1974) vo svojej práci upozornili na mnohé nejasnosti pri týchto procesoch rezonancií a dizonancií matky a mláďat. Riziká vidia aj v negatívnych emocionálnych reakciách (fóbia), čo môže neskôr vyústiť v dynamický stereotyp.

Pri mliečnej žľaze sa postupne vytvára stabilná sociálna hierarchia, a to formami sociálnych interakcií. S y m e a S y m e (1979) ich klasifikujú ako agresívne expresie. S a m b r a u s (1978) preferuje termín agonistické výboje. Genéza endogénnych agresívnych potencialít je dôležitým faktorom v etológii, v jej porovnávacích hľadáiskách a ošipaná je v tomto zmysle špecifickým druhom zvierat so svojimi puerperálnymi prekurzormi agresivity. Na druhej strane je potrebné byť rezervovaný pred unáhlenou generalizáciou o agresívnom „náboji“ v prvých dňoch života (H v o z d í k , 1982). Pri týchto úvahách musíme rešpektovať hru mláďat ako behaviorálny faktor, ktorý nesie so sebou simuláciu konfliktogénnych stretov. Indikátorom hry je v takom prípade náhle prerušenie komunikácie medzi dvoma jedincami, ktoré spontánne prechádza v inú aktivitu zvierat, bilančne neutrálnu (H v o z d í k , 1987).

Pri našich pozorovaniach ciciakov pri potravinových aktivitách do 15. dňa života, sme nezaznamenali direktívne behaviorálne prejavy konfliktogénnej schémy hlava - hlava. Mláďatá sa síce assertívne koncentrovali pri mliečnej žľaze, ale ich kontakty mali skôr somatický charakter, bez kefalických tendencií.

Naše štúdium epimeletických prejavov prasníc, ako derivátu ich materského správania, upozorňuje na kvantitatívny a kvalitatívny aspekt týchto problémov. Zdá sa, že tieto formy správania nie sú podmienené len laktáčnymi, biologickými dispozíciami, ale majú širšie etologické, zoopsychologické a biosociálne súvislosti u tohto druhu zvierat. V tomto kontexte aj behaviorálna genetika upozorňuje na svoju existenciu a len dokrešuje potrebu hlbšieho poznávania tejto problematiky.

Literatúra

- FRASER, D.: Early weaning behaviour at three weeks. *Pig Fmg.* 10, 1973, s. 61-63.
- HVOZDÍK, A.: Etologické štúdium deprivačných vplyvov foriem včasného odstavu ošípaných, so zameraním na ich sociabilitu v skupine. [Kandidátska dizertácia.] Košice 1982. 188 s. - Vysoká škola veterinárska.
- HVOZDÍK, A.: Social behaviour in farm animals and their maladaptation. In: International ethological conference XX, Madison, USA 1987.
- HVOZDÍK, A.: Ethological study of early weaned pigs. In: International ethological conference XXII, Kyoto, Japonsko, 1991.
- JENSEN, P.: Maternal behaviour and mother-young interaction during lactation in free-ranging domestic pigs. *Appl. Anim. Behav. Sci.*, 20, 1988, s. 297-308.
- SAMBRAUS, H. H.: *Nutztier Ethologie*. Berlin, Hamburg, Verlag Paul Parey 1978, 335 s.
- SHILLITO-VALSER, E.: Maternal behaviour and management to minimum postnatal deaths. In: 1st World congress on ethology applied to zootechnics, Madrid, Španielsko, 1978.
- SYME, G. J. - SYME, L. A.: *Social structure in farm animals*. Amsterdam, New York, Elsevier Scientific Publishing Company 1974, 186 s.
- WHITTEMORE, C. T. - FRASER, D.: The nursing and suckling behavior of pigs. II. Vocalization of the sow relation to suckling behavior and milk-ejection. *Brit. Veter. J.*, 130, 1974, s. 346-356.

Došlo 7. 5. 1992

HVOZDÍK, A. (University of Veterinary Medicine, Košice):

Ethological determination of maternal behaviour in pigs.

Vet. Med. - Czech, 38, 1993 (2): 89-97.

Care giving behaviour was investigated in pigs as a form of maternal behaviour and its effects on the young. The objective of observation was to compare the identified phenomena in their biological, social and experience variables of the behaviour of the investigated animals. The observations included 40 sows and 280 young of the Landrace x Large White breed, of the female sex. They took place in semi-natural conditions while the standard criteria of management were maintained. Two categories of sows and their young were investigated. The first group included 20 sows (first-litter gilts) and their young: A (1 - 20). A study unit comprised one sow and seven young. The other category, B (1 - 20), had analogous numbers of individuals but the sows were after their third parturitions.

As an indicator of maternal behaviour the average index of sociability (IS) had the value $\bar{x} = 1.7$ for the first category and the value $\bar{x} = 2.0$ for the second category. Evaluation of these differences enables to determine a significant difference between the average IS for both groups (Fig. 1). This fact, which spoke in favour of B (1 - 20) group,

made us follow the different litters. That means we wanted to know how the maternal behaviour determined piglet sociogenesis. IS was calculated from the average values of IS determined in both categories within their adequate litters. The value $\bar{x}A(a - g) = 1.8$ was determined for the first category (Tab. II) while for the second category B (1 - 20) the value $\bar{x}B(a - g)$ made 2.0 (Tab. III).

Evaluation of the *t*-test also revealed a statistically significant difference in favour of $\bar{x}B(a - g)$ group (Fig. 2). A comparative analysis performed within the overall evaluation revealed a positive correlation in favour of the social adaptation of animals after the third parturition, in comparison with the individuals of the first group. These conclusions point to the risk of negative experiences in this stage of ontogeny, and also to general reproductive predictions.

pigs; mother - young interaction; ethology; care giving; sociability; sociogenesis

Kontaktná adresa:

MVDr. Anton Hvozdík, CSc., Univerzita veterinárskeho lekárstva, Komenského 73,
041 81 Košice
Tel. 095/321 11 - 15, fax 095/767675

ZAHAJUJETE ŘEŠENÍ NOVÉHO VÝZKUMNÉHO ÚKOLU?

Potom budete zcela jistě potřebovat nejnovější domácí i zahraniční informace o stavu vědy a výzkumu v oblasti, kterou se zabýváte.

**Ústav zemědělských a potravinářských informací,
oddělení informačních systémů, Vám nabízí:**

Rešerše z mezinárodního informačního systému AGRIS. Báze dat AGRIS obsahuje téměř 2 000 000 záznamů z oblasti zemědělství, potravinářství a lesnictví s retrospektivou od roku 1975.

Retrospektivní rešerše se zpracovávají z kompaktních disků. Při formulaci dotazu se mohou kromě tematického zaměření zohlednit i další specifické požadavky uživatele (jazyk dokumentu, autor, země původu ap.). Doba dodání rešerše je jeden týden po obdržení objednávky. V případě zájmu se uživatel může zpracování zúčastnit osobně a upřesňovat v průběhu vyhledávání svůj dotaz. Rešerše dodáváme tištěné nebo na disketách.

Průběžné rešerše se zpracovávají na základě trvalé objednávky a pečlivě odladeného dotazu. Na požádání uživatelů je možné provádět v zadání potřebné změny. Rešerše dodáváme uživatelům jednou měsíčně v tištěné formě.

Rešerše ze zahraničníchází dat. Nabízíme zpracování retrospektivních rešerší z více než 500ází dat, uložených v databázových centrech v Evropě i v USA. Databázová centra zpřístupňují dokumentografické i faktografické informace, statistické a ekonomické údaje a informace o zahraničních firmách. Rešerše dodáváme tištěné nebo na disketách.

Veškeré informace Vám poskytne a Vaše objednávky přijme:

Ústav zemědělských a potravinářských informací
oddělení informačních systémů
120 56 Praha 2, Slezská 7
(metro A, stanice nám. Míru)

tel.: 25 14 21, 25 74 75, 25 75 41/274, 276, 340

fax: 25 70 90

VPLYV SUPERMETRÍNU NA AMONIAK - UTILIZUJÚCE ENZÝMY BACHOROVÝCH BAKTÉRIÍ

V. Lenártová¹, K. Holovská¹, E. Rybošová², P. Javorský², J. Legáth¹

¹Univerzita veterinárskeho lekárstva, Košice

²Ústav fyziológie hospodárskych zvierat SAV, Košice

Bol sledovaný účinok supermetrínu na enzymatickú aktivitu GDH a GS bachorových baktérií oviec. Supermetrín podávaný ovciam v krmive v subchronických dávkach 50 mg a 200 - 300 mg na kg živej hmotnosti významne neovplyvnil aktivitu enzýmov baktérií zmesnej populácie bachorového obsahu. Významne sa však znížila aktivita týchto enzýmov u baktérií adherovaných na bachorový epitel. Už prídavok 50 mg supermetrínu znížil aktivitu GDH-NADH z $1171,40 \pm 161,40$ na $302,80 \pm 118,73$; aktivitu GDH-NADPH z $240,29 \pm 120,61$ na $39,45 \pm 10,14$ nkat/mg bielkovín. Aktivita GS bola inhibovaná úplne. U čistých kultúr bachorových baktérií boli pozorované diferencie v citlivosti na supermetrín.

ovca; bachorové baktérie; glutamátdehydrogenáza; glutamínsyntetáza; supermetrín

Syntetické pyretroidy patria medzi insekticídy, ktoré majú vysokú selektivitu a toxicitu voči hmyzu a relatívne nízku toxicitu voči savcom, čo predurčuje ich významné využitie v humánnej a veterinárnej medicíne (Zebra, 1988). Bola syntetizovaná široká paleta týchto zlúčenín s rôznymi dihalovinyl analógmi cis a trans chryzantémovej kyseliny a 3-phenoxybenzyl alkoholu (Elliott, 1985). Zvlášť účinné sa ukázali pyretroidy typu II, ktoré obsahujú α -kyano-phenoxybenzylový zvyšok, avšak zároveň sa u nich prejavili aj niektoré vedľajšie nežiadúce účinky voči savcom (Taplina, 1990). Pyretroidy pôsobia na centrálny nervový systém hmyzu ako silné neurotické činidlá a ich účinok závisí od ich stereochemickej štruktúry a od modifikácií v uhľovodíkovom reťazci (Soderlund, 1989). Pyretroidy sa rýchlo degradujú štiepením esterovej väzby, oxidáciou a fotodegradáciou (Swaine, 1985). Bola zistená aj ich mikrobiálna degradácia predovšetkým hydrolýzou a oxidačnými mechanizmami (Hill, 1985). Relatívne nízka toxicita pyretroidov vyplýva z ich rýchleho metabolizmu, takže pri odporúčaných dávkach nehrozí riziko kontaminácie prostredia (Stephenson, 1985; Edwards a Millburn, 1985). Avšak pri porušení technologickej disciplíny pri aplikácii insekticídov môže dôjsť ku značne zvýšenému zaťaženiu potravinového reťazca a preto je nevyhnutné poznať ich účinok aj za zvýšených koncentrácií.

Keďže bachorová mikroflóra sa vo významnej miere podieľa na celkovom metabolizme prežúvavcov, v našej práci sme sa zamerali na sledovanie možného účinku supermetrínu a kľúčové enzýmy dusíkového metabolizmu bachorových baktérií glutamátdehydrogenázu (GDH-NADH E.C.1.4.1.2., GDH-NADPH E.C.1.4.1.4.) a glutamínsyntetázu (GS E.C.6.3.1.2.).

MATERIÁL A METÓDY

Experimenty boli robené na 15 ovciach plemena slovenské merino vo veku 8 mesiacov o hmotnosti 21 - 28 kg. Ovce boli rozdelené do troch skupín, ktorým boli po dobu 6 týždňov podávané subchronické dávky supermetrínu [(RS) - α -kyano-3-fenoxymetyl-(1 RS)-cis-3(2,2-dichlorvinyl)-2,2-dimetyl cyklopropán karboxylát čs. výroby] v melasovom krmive (ČSN 46 7070).

Prvá skupina dostávala supermetrín v dávkach 50 mg/kg ž. h., druhá skupina 200 mg/kg ž. h. a v poslednom týždni 300 mg/kg živej hmotnosti. Tretia skupina bola kontrolná. Krmivo s primiešaným supermetrínom bolo podávané v ranných hodinách a v odpoľudňajších hodinách boli zvieratá dokrmované lúčnym senom. K vode mali neobmedzený prístup.

Po odporazení oviec boli z bachora izolované dve bakteriálne frakcie - baktérie bachorovej tekutiny (Meyer a i., 1967) a baktérie adherované na ventrálnom vaku bachora (Javorský a i., 1983).

ČISTÉ KULTÚRY BAKTERIÁLNYCH KMEŇOV

Osem bakteriálnych kmeňov izolovaných z bachora bolo testovaných v citlivosti na supermetrín. Všetky kmene boli zo zbierky ÚFHZ SAV Košice.

METÓDA KULTIVÁCIE A MÉDIA

Bola použitá anaeróbná kultivačná technika podľa Hungate (1950) modifikovaná Bryantom (1972). *Fibrobacter succinogenes* 16 J, *Bacteroides ruminicola* 3/3 a *Megasphaera elsdenii* 4 MJ boli kultivované v médiu M 10 (Caldwell a Bryant, 1966), *Selenomonas ruminantium* A 17 rástol v M médiu podľa Tiwariho a i. (1969), *Staphylococcus xylosus* 310 a *Enterococcus faecium* 2 boli kultivované aeróbne na živnom bujóne č. 2 (Imuna, Šarišské Michaľany), *Streptococcus bovis* A O 24/84 v Todd-Hevittovom médiu (Imuna, Šarišské Michaľany) a *Lactobacillus plantarum* v MRS médiu (Man a i., 1960). Ako inokulum boli použité nočné kultúry, ktoré boli prenesené do 50 ml vhodného média v takom množstve, aby optická denzita pri 675 nm bola od 0,05 do 0,15. K médiu bol pridaný supermetrín v acetónovom roztoku v koncentráciách 66, 166, 660 mg/100 ml pôdy. Koncentrácia 660 mg/100 ml odpovedá toxickej dávke pre ovce (2500 mg/kg ž. h. pri hmotnosti ovce 40 kg). Kultúry boli inkubované bez trepania pri teplote 37 °C. Vzorky na stanovenie enzymovej aktivity boli odobrané v stacionárnej fáze.

Baktérie boli spracované ako v predchádzajúcich pokusoch (Lenártová a i., 1985). GDH aktivita bola stanovená spektrofotometricky z úbytku NADH a NADPH meranými pri 340 nm (Frieden, 1961). Biosyntetická GS aktivita bola stanovená metódou podľa Tachiki a i. (1983) na základe spektrofotometrického merania γ -glutamylhydroxamátu.

Enzymová aktivita bola vyjadrená v nkat/mg bielkovín. Štatistická významnosť rozdielov bola určená *t*-testom.

VÝSLEDKY

Supermetrín podávaný pokusným ovciam v krmive významne neovplyvnil aktivitu glutamátdehydrogenázy s koenzýmami NADH a NADPH v zmesnej populácii

bachorového obsahu (tab. I). Namerané aktivity GDH-NADH špecifickej boli niekoľko násobne vyššie ako aktivity GDH-NADPH špecifickej. Supermetrín významne neovplyvnil ani aktivitu glutamínsyntetázy. Rozdielny bol jeho účinok na baktérie adherované na bachorovej stene. Výrazné zníženie GDH aktivity s obidvoma koenzýmami sme pozorovali už pri koncentrácii 50 mg/kg živej hmotnosti. GDH-NADH aktivita sa znížila z $1171,40 \pm 161,44$ na $302,80 \pm 118,73$ nkat/mg bielkovín, GDH-NADPH aktivita z $240,29 \pm 120,61$ na $39,45 \pm 10,14$ nkat/mg bielkovín. GS aktivita bola inhibovaná úplne (obr. 1).

Aby sme zistili ako pôsobí supermetrín na jednotlivé bakteriálne kmene, sledovali sme jeho účinok na ôsmich vybraných čistých bakteriálnych kultúrach izolovaných z bachora. GDH-NADH aktivita, ktorú sme zistili len u *S. ruminantium* nebola ovplyvnená supermetrínom. GDH-NADPH aktivitu sme zistili u šiestich bakteriálnych kmeňov, a to u *S. bovis*, *E. faecium*, *L. plantarum*, *S. ruminantium*, *F. succinogenes* a *B. ruminicola*. Supermetrín ovplyvnil aktivitu len ju *F. succinogenes* (tab. II).

Účinky supermetrínu na GS aktivitu, ktorú sme zistili u všetkých baktérií, boli výraznejšie. Inhibíciu aktivity sme pozorovali u *S. xylosus*. Zvýšenie aktivity sme zaznamenali u *L. plantarum* a *M. elsdenii* (tab. III).

DISKUSIA

Na proteosyntéze a metabolizme dusíkatých látok u prežúvavcov sa v rozhodujúcej miere podieľajú bachorové baktérie (Bryant a Robinson, 1962). Pre syntézu proteínu je dôležitý mechanizmus inkorporácie amoniaku, ktorý je zabezpečovaný GDH a pri nízkych koncentráciách amoniaku v bachore systémom glutamínsyntetáza/glutamínsyntáza (Lenártová a i., 1985).

Bolo zistené, že niektoré toxické látky ako pentachlórfenol (PCP) znižujú účinnosť bachorovej fermentácie tým, že ovplyvňujú bachorové mikroorganizmy bez toho, aby boli toxické pre zvieratá (Yokoyama a i., 1988). Pri skrmovaní subchronických dávok supermetrínu sme pozorovali jeho inhibičný účinok na enzýmy GDH a GS len u baktérií adherovaných na bachorový epitel. Aktivita baktérií bachorovej tekutiny nebola ovplyvnená. Táto skutočnosť môže súvisieť s rôznou permeabilitou bunecných membrán mikroorganizmov. Podľa údajov autorov

I. Vplyv supermetrínu na GDH a GS aktivitu baktérií bachorového obsahu - The effects of supermethrin on the GDH and GS activities of rumen fluid bacteria

Enzým (nkat/mg bielkoviny) ¹	Kontrola ² (n = 5)	I. skupina ³ (n = 5)	II. skupina ⁴ (n = 5)
GDH (NADH)	290,76 ± 84,10	283,97 ± 38,17	274,78 ± 58,35
GDH (NADPH)	55,10 ± 0,95	51,97 ± 7,17	37,77 ± 4,17
GS	73,21 ± 23,48	31,30 ± 18,43	44,40 ± 18,34

¹ enzyme (nkat/mg of protein), ² control, ³ group I, ⁴ group II

II. Vplyv supermetrínu na aktivitu glutamátdehydrogenázy (nkat/mg bielkoviny) - The effects of supermethrin on the activity of glutamate dehydrogenase (nkat/mg of protein)

	GDH - NADH			GDH - NADPH		
	K	A	B	K	A	B
<i>Streptococcus bovis</i>	0	0	0	7,51 ± 4,02	2,53 ± 1,47 ⁺	9,50 ± 5,47
<i>Staphylococcus xylosus</i>	0	0	0	0	0 ⁺	0
<i>Enterococcus faecium</i>	0	0	0	2,48 ± 0,52	stopy ⁺¹	2,66 ± 1,13
<i>Lactobacillus plantarum</i>	0	0	0	0,72 ± 0,08	0,63 ± 0,22	2,31 ± 1,00
<i>Megasphaera elsdenii</i>	0	0	0	0	0	0
<i>Selenomonas ruminantium</i>	10,27 ± 5,28	8,09 ± 1,14	9,81 ± 2,07	8,70 ± 4,48	16,97 ± 7,00	15,63 ± 5,58
<i>Fibrobacter succinogenes</i>	0	0	0	stopy ¹	28,19 ± 3,91 a	6,86 ± 4,49 b
<i>Bacteroides ruminicola</i>	0	0	0	12,76 ± 2,44	6,81 ± 3,05	17,26 ± 8,40

¹traces

Vysoko významné rozdiely na hladine významnosti $\alpha = 0,1$ (a - b) - Highly significant differences at a significance level $\alpha = 0.1$ (a - b)

Vysvetlivky pre tab. II a III - Explanatory notes to Tabs. II and III:

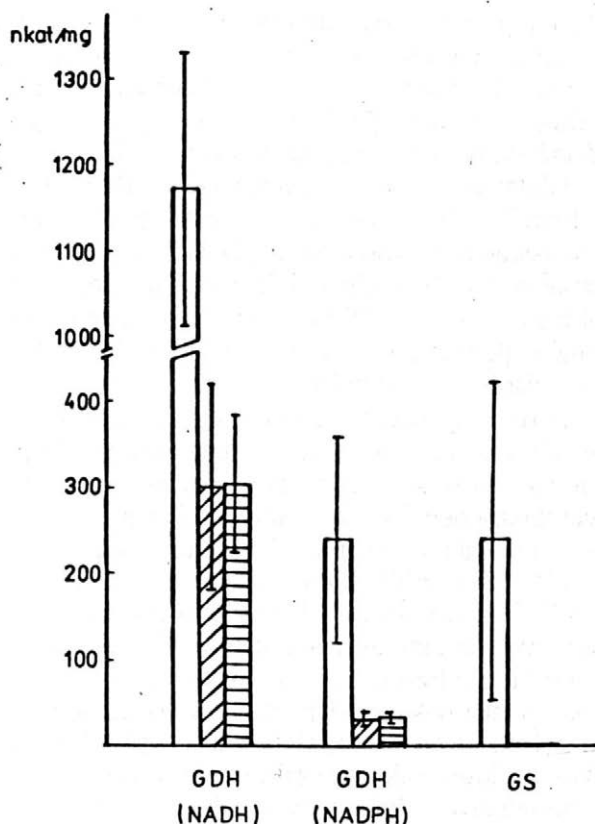
K = kontrola - control

A = prídavok 66 mg/100 ml pôdy - addition of 66 mg/100 ml of the medium

A⁺ = prídavok 166 mg/100 ml pôdy - addition of 166 mg/100 ml of the medium

B = prídavok 664 mg/100 ml pôdy - addition of 664 mg/100 ml of the medium

1. Vplyv supermetrínu na GDH a GS aktivitu adherentných baktérií (priemerné hodnoty $\pm$ S.E.M.); prázdne stĺpce = kontrolná skupina, priečne šrafované stĺpce = I. skupina, vodorovne šrafované stĺpce = II. skupina - The effects of supermethrin on the GDH and GS activities of adherent bacteria (average values $\pm$ S.E.M.); open columns = control group, crosshatched columns = group I, horizontally hatched columns = group II



III. Vplyv supermetrínu na aktivitu glutamínsyntetázy (nkat/mg bielkoviny) - The effects of supermethrin on the activity of glutamine synthetase (nkat/mg of protein)

	K	A	B
<i>Streptococcus bovis</i>	63,90 $\pm$ 0,12	68,15 $\pm$ 16,33 ⁺	105,30 $\pm$ 28,87
<i>Staphylococcus xylosus</i>	403,45 $\pm$ 130,58 a	129,80 $\pm$ 11,12 ⁺ b	140,50 $\pm$ 17,06 c
<i>Enterococcus faecium</i>	83,09 $\pm$ 19,90	201,28 $\pm$ 104,90 ⁺	71,08 $\pm$ 38,50
<i>Lactobacillus plantarum</i>	8,51 $\pm$ 4,48 a	19,69 $\pm$ 5,95	33,37 $\pm$ 9,12 e
<i>Selenomonas ruminantium</i>	53,74 $\pm$ 32,04	76,20 $\pm$ 33,03	121,79 $\pm$ 39,00
<i>Fibrobacter succinogenes</i>	68,69 $\pm$ 35,19	436,44 $\pm$ 234,95	79,89 $\pm$ 58,30
<i>Bacteroides ruminicola</i>	95,93 $\pm$ 47,95	72,21 $\pm$ 40,86	661,13 $\pm$ 378,71
<i>Megasphaera elsdenii</i>	282,59 $\pm$ 37,63 b	516,18 $\pm$ 55,53 g	310,85 $\pm$ 218,28

Vysoko významné rozdiely na hladine významnosti $\alpha = 0,1$ (f - g); $\alpha = 0,05$ (a - b, a - c, d - e) - Highly significant differences at a significance level $\alpha = 0,1$ (f - g); $\alpha = 0,05$ (a - b, a - c, d - e)

Cheng a i. (1980) adherentnú populáciu bachorovej steny tvorila väčšinou g^+ baktérie, ktorých membrána obsahuje menej lipoproteínov viazaných na peptidoglykanovú štruktúru, čo môže ovplyvňovať permeabilitu ich membrány. Tak napr. väčšiu rezistenciu g^- baktérií voči PCP pozorovali Izaki a i. (1981), avšak niektoré iné štúdie nepotvrdzujú túto teóriu (Sacher a i., 1985).

Glutamátdehydrogenáza baktérií sa líši od tkanivového enzýmu tým, že u väčšiny bakteriálnych kmeňov sa prejavuje špecifická len ku jednému z koenzýmov. Vo všeobecnosti možno povedať, že NADH - špecifická GDH má katabolickú funkciu, zatiaľ čo NADPH - špecifická GDH slúži pre biosyntetické ciele (Sawall 1961; Mustafa a i., 1978). Obidve tieto aktivity u adherentnej populácii boli inhibované supermetrínom už v koncentrácii 50 mg/kg živej hmotnosti. Úplnú inhibíciu sme zistili u GS aktivity.

Pyretroidy ako silné neurotoxické činidlá ovplyvňujú permabilitu bunčných membrán neurónov. Nedávne práce ukázali, že pyretroidy Typu I inhibujú Na^+ , K^+ - adenosintrifosfatázu, ktorá sa podieľa na udržiavaní iónového gradientu funkčnej membrány neurónov a iných buniek a pyretroidy Typu II s α -CN skupinou sa viac podieľajú na inhibícii mitochondriálnej Mg^{2+} - adenosintrifosfatázy, ktorá participuje na biosyntéze ATP (Soderlund, 1989). Nedostatok energie a nedostatočná recyklizácia nikotínových nukleotidov môže byť ďalším faktorom, ktorý môže ovplyvňovať aktivitu nami sledovaných enzýmov.

Pri metabolizácii α -kyano-pyretroidov dochádza k štiepeniu esterovej väzby, pričom vzniká α -kyano-3-phenoxybenzylalkohol, ktorý sa oxiduje na príslušnú kyselinu. Ďalším faktorom, ktorý môže ovplyvňovať bachorové mikroorganizmy je CN skupina, ktorú baktérie môžu uvoľňovať zo supermetrínu podobne ako je to v prípade kyanogénnych glykozidov z niektorých rastlín. Kyanovodík sa v bachorovom obsahu za prítomnosti síry a enzýmu rodanázy transformuje na netoxický rodanid. Detoxikačné schopnosti jednotlivých bakteriálnych kmeňov sú rôzne (Majak a Cheng, 1984).

Pri sledovaní účinku supermetrínu na enzymatickú aktivitu izolovaných bakteriálnych kmeňov sme zistili inhibičný vplyv len na aktivitu GDH i *B. succinogenes* a GS aktivitu *S. xylosus*. U *L. plantarum* a *M. elsdenii* sme pozorovali mierne zvýšenie aktivity. Tieto diferencie v citlivosti na toxické účinky boli pozorované u jednotlivých bakteriálnych bachorových kmeňov aj voči PCP (Yokoyama a i., 1988).

Autori usudzujú, že rôzne kmene sú schopné rôzne sa adaptovať voči škodlivým vplyvom keď majú k dispozícii fermentovateľné substráty pre svoj rast.

Literatúra

- BRYANT, M. P. - ROBINSON, I. M.: Some nutritional characteristics of predominant culturable ruminal bacteria. J. Bacteriol., 84, 1962, s. 605-614.
- BRYANT, M. P.: Commentary on the Hungate techniques for culture of anaerobic bacteria. Amer. J. clin. nutr., 25, 1972, s. 11324-11328.
- CALDWELL, D. R. - BRYANT, M. P.: Medium without rumen fluid for nonselective enumeration and isolation of rumen bacteria. Appl. Microbiol., 14, 1966, s. 794-801.
- ELLIOTT, M.: Pesticides group symposium. Pyrethroid insecticides in the environment. Pestic. Sci., 16, 1985, s. 192-215.

- EDWARDS, R. - MILLBURN, P.: Toxicity and metabolism of cypermethrin in fish compared with other vertebrates. *Pestic. Sci.*, 16, 1985, s. 201-202.
- FRIEDEN, C.: Coenzyme binding observed by fluorescence enhancement, apparently unrelated to the enzymic activity of glutamic dehydrogenase. *Biochem. Biophys. Acta*, 41, 1961, s. 428-430.
- HILL, I. R.: Pyrethroid residues in soil and aquatic environments. *Pestic. Sci.*, 16, 1985, s. 196-197.
- HUNGATE, R. E.: Anaerobic mesophilic cellulolytic bacteria. *Bacteriol. Rev.*, 14, 1950, s. 1-49.
- HUTSON, D. H. - GAUGHAN, L. C. - CASIDA, J. E.: Metabolism of the cis- and trans- isomers of cypermethrin in mice. *Pestic. Sci.*, 12, 1981, s. 385-398.
- CHENG, K. J. - COSTERTON, J. W.: Adherent rumen bacteria - their role in the digestion of plant material, urea and epithelial cells. In: RUCKELBUSH, Y. - THIVEND, P. (eds): Digestive physiology and metabolism in ruminants. MTP press limited 1980, s. 227-250.
- IZAKI, K. - TAKAHASHI, M. - SATO, Y. - SASAGAWA, Y. - SATO, K. - FURUSAKA: Some properties of pentachlorophenol - resistant gram-negative bacteria. *Agric. Biol. Chem.*, 45, 1981, s. 765-767.
- JAVORSKÝ, P. - KMEŤ, V. - HAVASSY, I. - KOČIŠOVÁ, J. - RYBOŠOVÁ, E.: Elution of adherent epithelial bacteria from the ovine rumen wall. *Biológia*, 38, 1983, s. 221-226.
- LENÁRTOVÁ, V. - HOLOVSKÁ, K. - HAVASSY, I. - JAVORSKÝ, P. - RYBOŠOVÁ, E.: Ammonia-utilizing enzymes of adherent bacteria in the sheep's rumen. *Physiol. bohemosl.*, 34, 1985, s. 512-517.
- MAJAK, W. - CHENG, K. J.: Cyanogenesis in bovine rumen fluid and pure cultures of rumen bacteria. *J. anim. Sci.*, 59, 1984, s. 784-790.
- MAN, J. C. - ROGOSA, M. - SHARPE, W. E.: A medium for the cultivation of lactobacilli. *J. appl. Bacteriol.*, 23, 1960, s. 130-135.
- MEYER, R. M. - BARTLEY, E. E. - DEYOE, C. W. - COLENBRANDER, V. F.: Feed processing I. Ration effect on rumen microbial protein synthesis and amino acid composition. *J. Dairy Sci.*, 50, 1967, s. 1328-1332.
- MUSTAFA, T. - KOMUNIECKI, R. - NETTRICK, D. F.: Cytosolic glutamate dehydrogenase in adult *hymonolepis diminuta*. *Comp. Biochem. and Physiol.*, 61B, 1978, s. 219-222.
- SACHER, D. I. - CRAWFORD, R. J.: Isolation and characterization of *Flavobacterium* strains that degrade pentachlorophenol. *Appl. Envir. Microbiol.*, 50, 1985, s. 1512-1518.
- SANWAL, B. D.: Diphosphopyridine nucleotide and triphosphopyridine nucleotide linked glutamic dehydrogenase of fusarium. *Arch. Biochem. Biophys.*, 93, 1961, s. 377-386.
- SODERLUND, D. M. - BLOOMQUIST, J. R.: Neurotoxic actions of pyrethroid insecticides. *Ann. Rev. Entomol.*, 34, 1989, s. 77-96.
- STEPHENSON, R. R.: Assessing the hazard of pyrethroid insecticides in the aquatic environment. *Pestic. Sci.*, 16, 1985, s. 199-201.
- SWAINE, H.: Residues of the synthetic pyrethroids on crops. *Pestic. Sci.*, 16, 1985, s. 197-198.
- TACHIKI, T. - WAKISAKA, S. - SUZUKI, H. - KUMAGAI, H. - TOCHIKURA, T.: Variation of properties of *Micrococcus glutamicus* glutamine synthetase brought about by divalent cations. *Agric. Biol. Chem.*, 47, 1983, s. 287-292.
- TAPLIŇ, D. - MEINKING, T. L.: Pyrethrins and pyrethroids in dermatology. *Arch. Derm.*, 126, 1990, s. 213-221.
- TIWARI, A. D. - BRYANT, M. P. - WOLFE, R. S.: Simple method for isolation of *Selenomonas ruminantium* and some nutritional characteristics of the species. *J. Dairy Sci.*, 52, 1969, s. 2054-2056.
- YOKOYANA, M. T. - JOHNSON, K. A. - GIERZAK, J.: Sensitivity of ruminal microorganism to pentachlorophenol. *Appl. Envir. Microbiol.*, 54, 1988, s. 2619-2624.
- ZEBRA, E.: Insecticidal activity of pyrethroids on insects of medical importance. *Parasitol. Today*, 4, 1988, s. 53-57.
- ČSN 46 7070 Potreba živín pre hospodárske zvieratá. 1982.

LENÁRTOVÁ, V. - HOLOVSKÁ, K. - RYBOŠOVÁ, E. - JAVORSKÝ, P. - LEGÁTH, J.
(University of Veterinary Medicine, Košice; Institute of Animal Physiology, Slovak Academy
of Sciences, Košice):

The effects of supermethrin on ammonia-utilizing enzymes of rumen bacteria.

Vet. Med. - Czech, 38, 1993 (2): 99-106.

Synthetic pyrethroids are neuroactive substances with high selectivity to insects. They are fast-degrading and show low toxicity to the other organisms. In spite of all these characteristics there are certain risks for ruminants in these chemicals because the ruminants as herbivorous animals consume large amounts of plants treated with insecticides.

As bacterial microflora plays an important role in ruminant physiology, the effects of supermethrin were investigated in relation to the activity of key enzymes of nitrogen metabolism of rumen bacteria, namely of glutamate dehydrogenase (GDH-NADH E.C.1.4.1.2., GDH-NADPH E.C.1.4.1.4.) and glutamine synthetase (GS E.C.6.3.1.2.).

Supermethrin (Czechoslovak product) was administered to 15 sheep of the Slovak Merino breed at the age of eight months, at subchronical doses (50 - 300 mg/kg live weight) for six weeks. Two bacterial fractions were isolated from rumen after sheep slaughter: rumen fluid bacteria and rumen-wall adhering bacteria, in which GDH and GS activities were determined.

The activities of these enzymes in eight pure bacterial rumen cultures were investigated to determine the effects of supermethrin on the different bacterial strains: *S. ruminantium* A 17, *F. succinogenes* 16 J, *B. ruminicola* 3/3, *M. elsdenii* 4 MJ, *L. plantarum* MRS, *S. bovis* A 24, *S. xylosus* 310 and *E. faecium* 2. The bacteria were cultivated in media with supermethrin additions at concentrations of 0.66; 1.66 and 6.6 mg/ml of the nutrient medium.

The results have demonstrated that the dietary supermethrin did not have any significant effects on the investigated enzymes in rumen fluid bacteria. The activities of specific GDH-NADH ranged from 274 ± 58 to 290 ± 84 nkat/mg of protein, the activities of specific GDH-NADPH ranged from 37 ± 4 to 55 ± 0.9 nkat/mg of protein.

The activity of the enzymes of rumen-wall adhering bacteria decreased significantly. An addition of 50 mg of dietary supermethrin decreased the activity of GDH-NADH from 1171 ± 161 to 302 ± 118 nkat/mg of protein, the activity of GDH-NADPH from 200 ± 120 to 39 ± 10 nkat/mg protein. The GS activity was fully inhibited.

Supermethrin exerted different effects on pure strains of rumen bacteria. The activity of GDH-NADPH was significantly inhibited only in *F. succinogenes* and the GS activity only in *S. xylosus*.

sheep; rumen bacteria; glutamate dehydrogenase; glutamate synthetase; supermethrin

Kontaktná adresa:

Doc. Ing. Viera Lenártová, CSc., Univerzita veterinárskeho lekárstva, Komenského 73,
041 81 Košice
Tel. 095/321 11 - 15, fax 095/767675

VLASTNOSTI ADHERENTNÝCH STAFYLOKOKOV IZOLOVANÝCH Z BACHOROVEJ STENY JAHNIAT

A. Lauková

Ústav fyziológie hospodárskych zvierat SAV, Košice

Šesť definovaných kmeňov adherentných, koaguláza-negatívnych a kataláza-pozitívnych stafylokokov bolo izolovaných z bachorovej steny jahniat. Na základe diagnostických testov, podľa identifikačného kľúča boli tri kmene priradené ku druhu *Staphylococcus warneri* (SW34, SW64, SW6), dva ku druhu *S. epidermidis* (SE30, SE49) a jeden ku druhu *S. cohnii* subsp. *urealyticum* (SCU32). Všetky izoláty sa vyznačovali nízkou, strednou až vysokou adherenciou na epiteliálne bunky bachorovej steny resp. ureázovou aktivitou ($1,9 \pm 0,02$ až $14,9 \pm 2,12$; $2,3 \pm 0,15$ až $29,3 \pm 1,16$ nkat/ml) a primeranou produkciou kyseliny mliečnej ($0,164$ až $0,687$ mol/l). Izolované kmene, s výnimkou kmeňa SE30, produkovali bacteriocin-like substancie, ktoré inhibovali rast najviac 4 zo 6 použitých indikátorových baktérií rovnakého a príbuzného druhu, pričom dosahovali síce malé, ale jasné zóny inhibície o veľkosti 2 až 5 mm. Všetky testované kmene boli rezistentné na sledované ťažké kovy.

jahňatá; bachorová stena; stafylokoky; adherencia; ureáza; bacteriocín; kyselina mliečna; rezistencia

Bachorová mikroflóra prežúvavcov predstavuje ucelený ekosystém, ktorý zahŕňa nielen mikroorganizmy prítomné v bachorovej tekutine, ale tiež baktérie asociované s čiastočkami krmiva a rovnako aj baktérie adherované na epitel bachorovej steny. Poznatky o adherentnej bachorovej mikroflóre sú v literatúre uvádzané len posledných desať rokov (K m e ě a i., 1990). Súčasná vedomosť o tejto subpopulácii bachorovej mikroflóry zásadne menia možnosti ovplyvňovania vývoja bachorovej mikroflóry u mláďat prežúvavcov, napr. pomocou kolonizačných preparátov. Význam adherentnej fakultatívne anaeróbnej mikrobiálnej populácie, ktorej počty dosahujú 10^7 až 10^8 baktérií (R i e u a. i., 1989) spočíva hlavne v jej aktívnej účasti v dusíkovom metabolizme. Ureáza produkovaná epimurálnou mikroflórou má dôležité miesto v recyklizácii endogénnej močoviny do bachora (C h e n g a C o s t e r t o n, 1980). V experimentoch na gnotobiotických jahňatách sa zistilo, že amoniak reguluje expresiu ureázovej aktivity adherentných fakultatívne anaeróbnych ureolytických baktérií (C h e n g a W a l l a c e 1979). Hydrolýza endogénnej močoviny ureázou na amoniak a oxid uhličitý na povrchu epitelu bachorovej steny vytvára priaznivý koncentračný gradient na prechod močovínového dusíka vo forme amoniaku do bachora prežúvavcov. A keďže medzi najviac zastúpené bachorové baktérie v období mliečnej výživy u mláďat prežúvavcov patria okrem fakultatívne anaeróbnych streptokokov a laktobacilov aj adherentné a ureázu produkujúce stafylokoky bolo zámerom tejto práce diferencovať druhové zastúpenie adherentných

stafylokokov, ako aj sledovať ich ďalšie vlastnosti a tým špecifikovať, rozšíriť a upresniť doterajšie poznatky o adherentnej bachorovej populácii.

MATERIÁL A METÓDY

Stafylokoky boli izolované z bachorovej steny 24 jahniat vo veku 2 až 8 týždňov v období mliečnej výživy. Bachorová stena bola odoberaná zo zvierat ihneď po zabíjaní a uložená do fyziologického roztoku. Ďalej boli vzorky spracované metódou podľa autorov J a v o r s k ý a i. (1983). Jednotlivé izoláty boli získané kultiváciou riedených vzoriek (1 : 9) na selektívnom médiu Mannitol Salt Agar (MSA, Oxoid). Zo 40 izolátov bolo pre ďalšie vyšetrenie vybraných 12, pričom na ich základnú diagnostiku bol použitý komerčne vyrábaný identifikačný mikrottest Staphytest (Lachema, Brno). Na detekovanie koagulázy bol použitý rovnako komerčný test Sevatest Staphylo PK (Imuna, Šarišské Michaľany). Hemolýza bola sledovaná na VL agare s prídavkom 10% defibrinovanej baranej krvi (Imuna, Šarišské Michaľany). Produkcia katalázy bola testovaná pridaním dvoch kvapiek 3% peroxidu vodíka ku suzpenzii príslušného kmeňa. Adherencia stafylokokov na epiteliálne bunky bachorovej steny bola sledovaná mikroskopicky podľa autorov K m e ľ a i. (1984), pričom adherenčný index predstavuje priemerný počet baktérií adherovaných na jednu epiteliálnu bunku bachorovej steny. Ureázová aktivita (E. C. 3. 5. 1. 5.) bola stanovená kvantitatívnou metódou podľa C o o k a (1976) a vyjadrená v nkat/ml. Produkcia kyseliny mliečnej bola determinovaná precipitačnou metódou (P r y c e , 1969) a vyjadrená v mol/l. Indikátorové kmene použité pri testovaní produkcie bacteriocin-like substancií sú zahrnuté v tab. III a metóda podľa S k a l k u a i. (1983) bola použitá na toto testovanie. *S. aureus* CB44 (VŠV Brno) bol pozitívnu kontrolou. Rezistencia na ťažké kovy (Cd-kadmium sulfát, Hg-chlorid ortuťnatý) bola detekovaná semikvantitatívnou dilučnou metódou. Každý kmeň bol testovaný na Živnom agare č. 2 (Imuna, Šarišské Michaľany) s doplnkom roztoku soli ťažkého kovu v príslušnej koncentrácii. Po 24-hodinovej kultivácii pri teplote 37 °C bola stanovená najnižšia koncentrácia ťažkého kovu, pri ktorej bol inhibovaný rast testovaného kmeňa (MIC). Izoláty boli potom vyhodnotené podľa autorov P o s t o n a L i S a w H e e (1991) a G r e w a l a T i w a r i (1990). Výsledky ureázovej aktivity a adherencie sú aritmetickým priemerom $\pm$ S. E. M. Reprodukateľné výsledky produkcie bacteriocin-like substancií a rezistencie na ťažké kovy boli získané po dvojnásobnom opakovaní testov.

VÝSLEDKY A DISKUSIA

Na základe diagnostických testov, podľa identifikačného kľúča bolo šesť izolátov adherentných, koaguláza-negatívnych, gram-pozitívnych kokov presne definovaných, pričom tri kmene boli priradené ku druhu *S. warneri* (SW34, SW64, SW6), dva ku druhu *S. epidermidis* (SE30, SE49) a jeden kmeň bol priradený ku druhu *S. cohnii* subsp. *urealyticum* (SCU32) - tab. I. Ostatné kmene neboli bližšie špecifikované. Všetky identifikované stafylokoky fermentovali maltózu a mali pozitívnu produkciu acetoinu a katalázy. V tab. II sú zahrnuté výsledky testovania adherenčnej schopnosti, ureázovej aktivity a produkcie kyseliny mliečnej u izolovaných baktérií.

I. Základné vlastnosti adherentných stafylokokov izolovaných z bachorovej steny jahniat - The basic properties of staphylococci isolated from the rumen wall of lambs

Fermentácia ¹	SW34	SE49	SW64	SW6	SCU32	SE30
Sacharóza ²	+	v	+	+	v	+
Trehalóza ³	+	-	+	+	v	-
Laktóza ⁴	+	v	v	+	+	+
Mannitol	+	-	+	+	(+)	-
Glycerol	+	-	+	+	-	(+)
Ostatné testy ⁵						
Alkalická fosfatáza ⁶	v	+	v	(+)	+	+
Redukcia nitrátov ⁷	+	-	-	-	+	+
Kataláza ⁸	+	+	+	+	+	+
Hemolýza ⁹	+	-	+	+	-	-

Všetky izoláty boli koaguláza-negatívne - All isolates were coagulase negative

Všetky kmene mali pozitívnu produkciu acetoinu a fermentovali maltózu - All strains were acetoin positive and all strains fermented maltose

+ = pozitívna reakcia - positive reaction

- = negatívna reakcia - negative reaction

(+) = slabo pozitívna reakcia - delayed reaction

v = variabilná reakcia - variability in the reaction

SW34 - *S. warneri*

SE49 - *S. epidermidis*

SW64 - *S. warneri*

SW6 - *S. warneri*

SCU32 - *S. cohnii* subsp. *urealyticum*

SE30 - *S. epidermidis*

¹fermentation, ²sucrose, ³trehalose, ⁴lactose, ⁵other tests, ⁶alkaline phosphatase, ⁷nitrate reduction,

⁸catalase, ⁹hemolysis

Adherentný index jednotlivých izolátov varíroval od $1,9 \pm 0,02$ do $14,9 \pm 2,12$ baktérií adherovaných na jednu epiteliálnu bunku bachorovej steny. V produkcii ureázy sa prejavili značné rozdiely medzi jednotlivými kmeňmi ($2,3 \pm 0,15$ až $29,3 \pm 1,16$ nkat/ml), pričom kmeň SCU32 sa prejavil ako silne ureolytický s dobrou adherenčnou schopnosťou. Silná ureázová produkcia u kmeňa SCU 32 je aj jedným z hlavných diagnostických znakov (K l o o s a W o l f s h o h l, 1991) tejto subspecie. Podľa klasifikácie autorov K m e ě ě a i. (1984) na základe namerných hodnôt je možné izoláty vyhodnotiť ako stafylokoky s nízkou, strednou a vysokou adherenčnou schopnosťou resp. ureázovou aktivitou. Zároveň možno vzájomne porovnať dosiahnuté hodnoty v produkcii ureázovej aktivity s podobnými výsledkami (W a l l a c e a i., 1979). Adherentné stafylokoky sú jedným z prvých producentov kyseliny mliečnej zo skupiny fakultatívne anaeróbných baktérií, a teda dosahovaná produkcia kyseliny mliečnej u získaných izolátov zodpovedá produkcii u jej hlavných producentov-laktobacilov (M a r o u n e k a i., 1988). V priemere rovnaké hodnoty kyseliny mliečnej boli namierané tiež u stafylokokov izolovaných

II. Adherencia, ureázová aktivita a produkcia kyseliny mliečnej u testovaných kmeňov - Adherence, urease activity and lactic acid production by the tested strains

Kmene ¹	Adherencia ^{*2}	Ureáza ³ [mkat.ml ⁻¹]	Kyselina mliečna ⁴ [mol.l ⁻¹]
<i>Staphylococcus warneri</i> SW34	8,0 ± 0,2	3,0 ± 0,02	0,338
WS64	14,9 ± 2,12	2,3 ± 0,15	0,687
SW6	1,9 ± 0,02	5,7 ± 0,74	0,441
<i>Staphylococcus epidermidis</i> SE30	3,7 ± 0,19	19,7 ± 2,71	0,436
SE49	6,7 ± 0,05	6,1 ± 0,08	0,164
<i>Staphylococcus cohnii</i> subsp. <i>urealyticum</i> SCU32	10,6 ± 1,25	29,3 ± 1,16	0,206

* priemerný počet baktérií adherovaných na jednu epiteliálnu bunku bachorovej steny - the average counts of bacteria adhered to one epithelial cell of the rumen wall

¹ strains, ² adherence, ³ urease, ⁴ lactic acid

z bachorového obsahu jahniat (L a u k o v á a K m e ě ě l, 1992). Testované baktérie produkovali bacteriocin-like substancie, ktoré inhibovali rast najviac 4 zo 6 použitých indikátorov. *S. epidermidis* SE30 bol bez bacteriocínovej produkcie (tab. III). Celkovo bola produkcia bacteriocin-like substancií vyrovnaná pri použití indikátora rovnakého druhu (stafylokoky) ako aj druhov príbuzných (streptokoky, enterokoky) pri dosahovaní síce malých, ale jasných zón inhibície o veľkosti 2 - 5 mm. Avšak uvedené izoláty je možné považovať za málo aktívnych producentov bacteriocínových substancií. Je potrebné však uvažovať o nižšej produkcii bacteriocínových substancií u adherentných stafylokokov v kontexte s variabilitnosťou v ich druhovom zastúpení ako aj v súvislosti s použitými indikátorovými kmeňmi. Pri sledovaní rezistencie na ťažké kovy (Cd, Hg) sa prejavili všetky izoláty ako rezistentné (MIC = 50 mg/l pri Hg a pri Cd MIC dosahovalo viac ako 5 g res. 2 - 5 g/l). Vysoká rezistencia na sledované ťažké kovy môže byť vysvetľovaná v súvislosti s prítomnosťou plazmidov kódujúcich rezistenciu na ťažké kovy (Hg, Cd) u stafylokokov ako o tom referujú B a b i c h a i. (1990) a F o s t e r (1983). S k a l k a (1991) diagnostikoval tu prezentované druhy koaguláza-negatívnych stafylokokov u hospodárskych zvierat významných pre človeka ako zdroj živočíšnych bielkovín. Etiologický význam niektorých koaguláza-negatívnych stafylokokov je problematika doposiaľ nedostatočne vyriešená a jej riešenie si vyžaduje dostatočný prehľad o výskyte takýchto stafylokokov u klinicky zdravých hospodárskych zvierat. Preto výskyt a charakteristika koaguláza-negatívnych, kataláza - pozitívnych stafylokokov prezentovaných v tejto práci prispieva ku rozšíreniu doterajších vedomostí o druhovom zastúpení stafylokokov u hospodárskych zvierat (D e v r i e s e a i., 1985; L a u k o v á a K m e ě ě l, 1992; L a u k o v á a M a r o u n e k, 1992) a zároveň

III. Bakteriocínová produkcia stafylokokov izolovaných z bachorovej steny jahniat - Bacteriocin production in staphylococci isolated from the rumen wall of lambs

Testovaný kmeň ¹	Indikátorové kmene ²					
	209P	SX63	SC7	SP10535	EF35	AO24/85
<i>Staphylococcus warneri</i> SW34	+	+	+	ND	+	ND
SW64	ND	+	-	+	+	+
SW6	-	+	-	+	+	+
<i>Staphylococcus epidermidis</i> SE30	-	-	-	-	-	-
SE49	-	+	-	-	+	-
<i>Staphylococcus cohnii</i> subsp. <i>urealyticum</i> SCU32	+	-	-	-	-	-

+ = prítomnosť zóny inhibície - presence of zone of inhibition

- = neprítomnosť zóny - no zone of inhibition

ND = nedeterminované - not determined

Staphylococcus aureus 209P (VŠV, Brno - University of Veterinary Medicine, Brno)

Streptococcus bovis A024/85 (ÚEVM, Košice - Research Institute of Experimental Veterinary Medicine, Košice)

Streptococcus pyogenes SP10535 (Fakulta zubného lekárstva, Michigan, USA - University of Dental Medicine, Michigan, USA)

Staphylococcus xylosus SX63, *Staphylococcus cohnii* SC7 a *Enterococcus faecium* EF35 (ÚFHZ - SAV, Košice - Institute of Animal Physiology of the Slovak Academy of Sciences, Košice)

¹tested strain, ²indicator strains

predkladá možnosti pre štúdium ďalších vlastností týchto zástupcov mikrobiálnej flóry u hospodárskych zvierat. Jedná sa najmä o detekciu plazmidovej DNA u bachorových stafylokokov. Pozitívne výsledky by tak prispeli ku dotvoreniu komplexu informácií o tejto skupine baktérií a jej zastúpení v bachore prežúvavcov, najmä keď u niektorých druhov stafylokokov humánneho pôvodu bola už plazmidová DNA determinovaná (Augustin a Götz, 1990; Archer a Scott, 1991).

Literatúra

ARCHER, G. L. - SCOTT, J.: Conjugative transfer genes in staphylococcal isolates from the United States. Antimicrob. Agents Chemother., 12, 1991, s. 2500-2504.

AUGUSTIN, J. - GÖTZ, F.: Transformation of *Staphylococcus epidermidis* and other staphylococcal species with plasmid DNA by electroporation. FEMS Microbiol. Lett., 66, 1990, s. 203-208.

BABICH, K. - ENGLE, M. - SKINNER, S. - LADAGGA, R. A.: Deletion mutant analysis of the *Staphylococcus aureus* plasmid p1258 mercury-resistance determinant. Can. J. Microbiol., 37, 1991, s. 624-631.

- COOK, A. R.: Urease activity in the rumen of sheep and the isolation of ureolytic bacteria. *J. Gen. Microbiol.*, 92, 1976, s. 32-48.
- DEVRIESE, L. A. - SCHLEIFER, K. H. - ADEGOKE, G. O.: Identification of coagulase-negative staphylococci from farm animals. *J. appl. Bacteriol.*, 58, 1985, s. 45-55.
- FOSTER, T. J.: Plasmid-determined resistance to antimicrobial drugs and toxic metal ions in bacteria. *Microbiol. Rev.*, 47, 1983, s. 388.
- GREWAL, J. S. - TIWARI, R. P.: Resistance to metal ions and antibiotics in *Escherichia coli* isolated from food-stuffs. *J. Med. Microbiol.*, 32, 1990, s. 223-226.
- CHENG, K. J. - COSTERTON, J. W.: Adherent rumen bacteria, their role in the digestion of plant material urea and epithelial cells. In: RUCKEBUCH, Y. - THIEVAND, P.: Digestive physiology and metabolism in ruminants. 1980, s. 227-250.
- CHENG, K. J. - WALLACE, R. J.: Mechanism passaging of endogenous urea across rumen wall and the role of epithelial bacteria in the production urea. *Brit. J. Nutr.*, 42, 1979, s. 553-557.
- JAVORSKÝ, P. - KMEŤ, V. - HAVASSY, E. - KOČIŠOVÁ, J. - RYBOŠOVÁ, E.: Elution of adherent epithelial bacteria from the ovine rumen wall. *Biológia*, 38, 1983, s. 221-226.
- KLOOS, W. E. - WOLFSHOHL, J. F.: *Staphylococcus cohnii* subspecies, *Staphylococcus cohnii* subsp. *cohnii* subsp. nov. and *Staphylococcus cohnii* subsp. *urealyticum* subsp. nov. *Int. J. System. Bacteriol.*, 4, 1991, s. 284-289.
- KMEŤ, V. - BOĎA, K. - KRAVJANSKÝ, I.: Adherencia baktérií na epiteliálne bunky bachorovej steny, *Veter. Med. (Praha)*, 29, 1984, s. 473-477.
- KMEŤ, V.: Oplyvňovanie bachorového ekosystému teliat a jahniat mikrobiálnymi preparátmi, *Veda*, 1990, s. 18-19.
- LAUKOVÁ, A. - KMEŤ, V.: Biochemické a fyziologické vlastnosti stafylokokov. *Živoč. Výr.*, 37, 1992, s. 103-108.
- LAUKOVÁ, A. - MAROUNEK, M.: Physiological and biochemical characteristics of staphylococci isolated from the rumen of young calves and lambs. *Zbl. Mikrobiol.*, 147, 1992, s. 489-494.
- MAROUNEK, M. - JEHLÍČKOVÁ, K. - KMEŤ, V.: Metabolism and characteristics of lactobacilli isolated from the rumen of young calves. *J. Appl. Bacteriol.*, 65, 1988, s. 43-47.
- POSTON, S. M. - LI SAW HEE, F. L.: Genetic characterization of resistance to metal ions in methicillin resistant *Staphylococcus aureus* elimination of resistance to cadmium, mercury and tetracycline with loss of methicillin resistance. *J. Med. Microbiol.*, 34, 1991, s. 193-201.
- PRYCE, J. D.: A Modification of the Barker-Summerson method for the determination of lactic acid. *Analyst*, 94, 1969, s. 1151-1152.
- RIEU, F. - FONTY, G. - GOUET, P.: Colony counts and characterization of bacteria adherent to the rumen wall and desquamated epithelial cells in conventional young lambs. *Can. J. Microbiol.*, 35, 1989, s. 698-705.
- SKALKA, B. - PILLICH, J. - POSPÍŠIL, L.: Further observations on *Corynebacterium renale* as an indicator organism in the detection of exfoliative-positive strains of *Staphylococcus aureus*. *Zbl. Bakteriolog. Hyg., A256*, 1983, s. 168-174.
- SKALKA, B.: Výskyt stafylokokových druhů u klinicky zdravých hospodářských zvířat. *Veter. Med. (Praha)*, 36, 1991, s. 9-19.
- WALLACE, R. J. - CHENG, K. J. - DINSDALE, D. - ORSKOV, E. R.: An independent microbial flora of the epithelium and its role in the ecomicrobiology of the rumen. *Nature*, 279, 1979, s. 424-426.

Došlo 17. 4. 1992

LAUKOVÁ, A. (Institute of Animal Physiology of the Slovak Academy of Sciences, Košice):
The properties of adherent staphylococci isolated from the rumen wall of lambs.
Vet. Med. - Czech, 38, 1993 (2): 107-113.

Six defined strains of adherent, coagulase-negative and catalase-positive staphylococci were isolated from the rumen wall of lambs. All the strains fermented maltose and had positive acetoin production. The strains were classified as follows on the basis of diagnostic tests, according to an identification key: three strains belonged to the species *Staphylococcus warneri* (SW34, SW64, SW6), two to the species *S. epidermidis* (SE30, SE49) and one to the species *S. cohnii* subsp. *urealyticum* (SCU32) - Tab. I. The adherence index of the different isolates ranged from 1.9 ± 0.02 to 14.9 ± 2.12 of bacteria adhering to one epithelial cell of the rumen wall. There were large differences in urease production (2.3 ± 0.15 to 29.3 ± 1.16 nkat/ml). But in general the isolated staphylococci can be taken as strains with low, medium or high adherence, and /or urease activity (Tab. II). In the group of facultative anaerobic bacteria the staphylococci are the first, lactic acid producing bacteria and the attained production (0.164 to 0.687 mol/l) is adequate to their portion in the rumen (Tab. II). The isolated strains produced bacteriocin-like substances which inhibited the growth of maximally four out of the six used indicator bacteria of the same species, and also of a related species (Tab. III) while they showed small but clear zones of inhibition of the size 2 to 5 mm. In general, the mentioned staphylococci can be considered as little active producers of bacteriocin-like substances. All the tested strains were resistant to the observed heavy metals.

lambs; rumen wall; staphylococci; adherence; urease; lactic acid; resistance

Kontaktná adresa:

MVDr. Andrea Lauková, CSc., Ústav fyziológie hospodárskych zvierat SAV, Palackého
12, 040 01 Košice
Tel. 095/36251, fax 095/24491

INSTITUTE OF AGRICULTURAL AND FOOD INFORMATION

Slezská 7 CS 120 56 Praha 2 ČR FAX: (00422) 25 70 90

In this institute scientific journals dealing with the problems of agriculture and related sciences are published on behalf of the Academy of Agricultural Sciences. The periodicals are published in the Czech or Slovak languages with long summaries in English or in English language with summaries in Czech or Slovak.

Subscription to these journals should be sent to the above-mentioned address.

Periodical	Number of	
	issues per year	pages
Rostlinná výroba (Plant Production)	12	96
Veterinární medicína (Veterinary Medicine)	12	64
Živočišná výroba (Animal Production)	12	96
Zemědělská ekonomika (Agricultural Economics)	12	96
Lesnictví (Forestry)	12	96
Zemědělská technika (Agricultural Engineering)	4	80
Ochrana rostlin (Plant Protection)	4	80
Genetika a šlechtění (Genetics and Plant Breeding)	4	80
Zahradnictví (Horticulture)	4	80
Potravinářské vědy (Food Sciences)	6	80

AKÚTNÁ ORÁLNA TOXICITA ČESKOSLOVENSKEHO VÝVOJOVÉHO HERBICÍDU BENTAZÓN U BAŽANTOV A KRÁLIKOV A KLINICKÁ SYMPTOMATOLÓGIA OTRAVY

J. Neuschl, P. Kačmár

Univerzita veterinárskeho lekárstva, Košice

V rámci záväznej toxikologickej testácie československého vývojového herbicídu bentazón (Výskumný ústav chemickej technológie, Bratislava) sa na dospelých králikoch plemena novozélandské biele a dospelých bažantoch obyčajných obojkových zisťovala miera jeho akútnej orálnej toxicity (LD_{50}) a klinická symptomatológia otravy po záťaži organizmu letálnymi dávkami. Súčasne sa sledovalo zotavenie sa intoxikovaných jedincov z toxických účinkov herbicídu po jeho podaní v subletálnej dávke. Akútna orálna toxicita (LD_{50}) bola u králikov stanovená na 1139 mg/kg a u bažantov na 2918 mg/kg živej hmotnosti. Z klinických príznakov akútnej orálnej intoxikácie (letálne dávky: 1110 a 1170 mg/kg u králikov, resp. 2750 a 3100 mg/kg ž. h. u bažantov) vystupovali do popredia plytké abdominálne zrýchlené, sťažené až prerušované dýchanie a cyanóza, apatia, somnolencia, zrýchlená nepravidelná srdcová činnosť, zvýšená telesná teplota, rýchly nástup a intenzívny rigor mortis. Úhyn nastal udusením v štádiu svalových záškľbov a klonicko-tonických kŕčov v závislosti od dávky medzi 6. - 20. hodinou. Z prejavov otravy dominovali hlavne poruchy dychu. Po jednorázovej subletálnej dávke (1000 mg/kg u králikov a 2200 mg/kg ž. h. u bažantov) došlo k úplnému uzdraveniu intoxikovaných zvierat po 2 - 4 dňoch. Mierne zrýchlené a sťažené dýchanie, slabá cyanóza, tachykardia a mierne zvýšená telesná teplota vymizli za 1 - 2 dni, nevýrazná apatia, somnolencia a hypodynamia za 2 - 3 dni. Za predpokladu, že sa dodrží doporučená technológia herbicídneho ošetrovania pestovaných kultúr (480 g na 100 m²) nebude pre králiky a bažanty, ale pravdepodobne tiež pre všetky druhy kurových vtákov a zajace, predstavovať faktor vyvolávajúci akútne intoxikácie. V zmysle klasifikácie WHO (1975) patrí predmetný herbicíd medzi málo toxické látky.

československý herbicíd bentazón; bažant; králik; stredná smrteľná dávka; klinické prejavy otravy

V posledných rokoch sa problematika možných negatívnych účinkov rôznych pesticídov na biologické systémy stáva stredobodom pozornosti viacerých medzinárodných organizácií a odbornej svetovej literatúry. V ČSFR sa rozsiahle využívajú pesticídy, z ktorých až 58 % tvoria herbicídy. Aktuálnosť uvedenej problematiky je umocnená skutočnosťou, že v súčasnosti väčšina používaných herbicídov nevyhovuje naliehavej požiadavke vysokej špecifickosti, čo je spojené s rizikom intoxikácií úžitkových zvierat. Riziko škodlivého účinku po plošnom ošetrovaní porastu pesticídmi je väčšie u voľne žijúcich zvierat. Tieto môžu konzumovať ošetrovaný

porast počas ochrannej lehoty i napriek tomu, že sa používajú rôzne spôsoby na ich odplašovanie.

Závážna toxikologická testácia nových pesticídov aj u voľne žijúcich zvierat sa stáva dôležitým faktorom prispievajúcim k objektivizácii miery ich toxikologického rizika a biologických účinkov hlavne z aspektu ich zásahu do produkčnej a reprodukčnej schopnosti zveri.

Z uvedeného aspektu v návaznosti na predchádzajúce toxikologické štúdie československého herbicídu bentazón u oviec (K a č m á r a i., 1988; N e u s c h l a K a č m á r, 1992a,b) prezentujeme v predloženej práci mieru jeho akútnej orálnej toxicity (LD_{50}), klinickú symptomatológiu otravy u králikov a bažantov po záťaži organizmu letálnymi dávkami a zotavenie sa intoxikovaných jedincov z toxických účinkov bentazónu po jeho podaní v subletálnej dávke.

Akútna orálna toxicita (LD_{50}) čs. bentazónu bola doposiaľ stanovená u potkanov (Č e r e y, 1987; I n c z i n g e r, 1987) a u oviec (N e u s c h l a K a č m á r, 1992a). Súčasne popísali aj klinickú symptomatológiu otravy. Z dostupných toxikologických údajov o bentazóne vyrábaného v SRN (na báze bentazónu sa vyrába prípravok Basagran) vyplýva, že jeho stredná smrteľná dávka bola stanovená iba u niektorých druhov laboratórnych zvierat, u ktorých bola zistená rozdielna citlivosť (M e l' n i k o v a i., 1980; S e d o k u r, 1986; Ž a v o r o n k o v a i., 1986). Klinické prejavy otravy bentazónom zahraničnej proveniencie popísal S e d o k u r (1986) u myšiek a potkanov.

Nami študovaný bentazón čs. proveniencie je technický produkt (Výskumný ústav chemickej technológie, Bratislava) a líši sa od bentazónu vyrábaného v SRN tým, že sa vyrába z iných východných komponentov a môže obsahovať iné vedľajšie produkty syntézy. Z chemického hľadiska patrí do širokej skupiny heterocyklických zlúčenín, k diazinom. Ide o 3-izopropyl 1-hydro-2,1,3-henztiadiazin-4-on-2,2-dioxid s molekulovou hmotnosťou 240,3. Veľmi slabo sa rozpúšťa vo vode, menej dobre v jedlom oleji a dobre v acetóne, benzíne, chloroforme, resp. v etanole.

MATERIÁL A METÓDY

STANOVENIE AKÚTNEJ ORÁLNEJ TOXICITY

Stredná smrteľná dávka (LD_{50}) bentazónu sa stanovovala dvojdávkovou interpolačnou metódou podľa autorov R o t h a i. (1962). Stanovovala sa na 22 dospelých králikoch plemena novozélandské biele obojakého pohlavia o hmotnosti 2,25 - 3,00 kg na základe exitu do 24 hodín a na 26 dospelých bažantoch obyčajných obojkových, oboch pohlaví, o hmotnosti 0,75 - 1,26 kg tiež na základe úhynu do 24 hodín. Súbežne pri stanovení strednej smrteľnej dávky bentazónu sa zisťovala aj klinická symptomatológia - otravy po dvoch odstupňovaných letálnych dávkach. Rozvoj príznakov intoxikácie sa registroval v pravidelných polhodinových intervaloch po aplikácii bentazónu v dávke 1110 mg/kg a 1170 mg/kg ž. h. u králikov, resp. v dávke 2750 a 3110 mg/kg ž. h. u bažantov. Pokusné skupiny zvierat, ktorým sa uvedené dávky aplikovali, pozostávali zo siedmich jedincov. Vzhľadom na jeho veľmi slabú rozpustnosť vo vode sa aplikoval v slnečnicovom oleji v pomere 1:5, sondou *per os*. K vode a krmivu mali zvieratá neobmedzený prístup.

REGISTRÁCIA ÚSTUPU PRÍZNAKOV INTOXIKÁCIE

V priebehu siedmich dní sme sledovali zotavenie sa intoxikovaných zvierat z toxických účinkov predmetného herbicídu po jeho podaní v subletálnej dávke. Časový sled vymiznutia príznakov otravy sme sledovali u siedmich dospelých králikov, oboch pohlaví o hmotnosti 1,90 - 2,15 kg po jednorázovej subletálnej dávke 1000 mg/kg ž. h. a u siedmich dospelých bažantov, oboch pohlaví o hmotnosti 0,93 - 1,47 kg po jednorázovej subletálnej dávke 2000 mg/kg živej hmotnosti. Testovaný herbicíd sa pokusným zvieratám aplikoval tiež v slnečnicovom oleji v pomere 1:5 sondou *per os*. Počas trvania experimentu boli pokusné zvieratá krmené granulovanou kŕmnom zmesou neobmedzene. Vodu mali k dispozícii *ad libitum*.

VÝSLEDKY

AKÚTNA ORÁLNA TOXICITA

Králiky: Stredná smrteľná dávka (LD_{50}) čs. bentazónu bola u králikov stanovená na 1139 mg/kg ž. h. s hornou medzou spoľahlivosti 1186 mg/kg a dolnou 1109 mg/kg živej hmotnosti.

Bažanty: Stredná smrteľná dávka bola u bažantov stanovená na 2918 mg/kg ž. h. s hornou medzou spoľahlivosti 3126 mg/kg a dolnou 2723 mg/kg živej hmotnosti.

Hodnoty akútnej orálnej toxicity (LD_{50}) bentazónu zahraničnej proveniencie a čs. bentazónu uvádzame v tab. I.

KLINICKÁ SYMPTOMATOLÓGIA INTOXIKÁCIE U KRÁLIKOV

Príznaky zo strany dýchacieho systému: Za 1 - 2 hodiny nastupuje tachypnoe a mierne dyspnoe. Súčasne sa pridružuje mierna cyanóza. V ďalšom priebehu intoxikácie sa tachypnoe a dyspnoe zintenzívňuje, prehĺbuje sa cyanóza a pozoruje sa plytšie abdominálne dýchanie. Po 1 a dve hodiny pred exitom sa zrýchlené, sťažené a prerušované dýchanie natoľko zintenzívňuje, že zvieratá dýchajú s otvoreným pyskom. Tesne pred exitom pozorovať svalové záškľby, resp. tonickoklonické kŕče a zvieratá hynú udusením medzi 6 - 20 hodinou.

Príznaky zo strany CNS: Po 1 - 2 hodinách nastupuje apatia, somnolencia a hypodynamia. Útlm CNS sa postupne prehĺbuje a 1 - 2 hodiny pred exitom dochádza k relaxácii svalstva na panvových končatinách, na brušnom a chrbtovom svalstve.

Príznaky zo strany srdcovej činnosti: Za 2 - 4 hodiny sa pridružuje tachykardia, ktorá sa v ďalšom priebehu intoxikácie zintenzívňuje natoľko, že pred exitom sú srdcové ozvy neohraničené.

Telesná teplota: Začína sa zvyšovať za 2 - 4 hodiny a pred exitom hodnoty dosahujú až 42 - 43 °C.

Rigor mortis: Nastupuje veľmi rýchlo (po 3 - 4 minútach) a je veľmi výrazný.

KLINICKÁ SYMPTOMATOLÓGIA INTOXIKÁCIE U BAŽANTOV

Klinické príznaky sú v podstate zhodné s klinickou symptomatológiou otravy králikov. Príznaky otravy nastupujú za 1 - 2 hodiny prejavujúce sa somnolenciou, zníženou pohyblivosťou až adynamiou a našuchoreným perím. V ďalšom priebehu

intoxikácie sa dostavuje zrýchlené a sťažené dýchanie s výraznou cyanózou. Telesná teplota vystupuje až na 45 °C. Tesne pred exitom v podstate nepozorovať výraznejšie klonicko-tonické kŕče, ale obvykle 2 - 4 svalové záškľby a zvieratá hynú udusením v závislosti od dávky medzi 6 - 20 hodinou. Rigor mortis nastupuje rýchlejšie ako u králikov (1 - 3 minúty) a je výraznejší.

ČASOVÝ SLED VYMIZNUTIA PRÍZNAKOV INTOXIKÁCIE

Po jednorázovej perorálnej subletálnej dávke (100 mg/kg u králikov a 2200 mg/kg ž. h. u bažantov) došlo k úplnému uzdraveniu zvierat po 2 - 4 dňoch. Mierne zrýchlené a sťažené dýchanie, slabá cyanóza a mierne zvýšená telesná teplota vymizli za 1 - 2 dni, nevýrazná apatia, somnolencia a hypodynamia za 2 - 3 dni, nechutenstvo pretrvalo 2 - 4 dni. Doba latencie klinických príznakov otravy bola 1,5 - 3,0 hodiny.

DISKUSIA

Dostupné toxikologické štúdie s bentazónom zahraničnej proveniencie (SRN) na laboratórnych zvieratách poukazujú na ich rozdielnu druhovú citlivosť. M e ľ n i k o v

I. Hodnoty akútnej orálnej toxicity (LD₅₀) bentazónu zahraničnej proveniencie (SRN) a československého bentazónu - The values of acute oral toxicity (LD₅₀) in bentazon of foreign provenance (FRG) and in Czechoslovak bentazon

Druh zvierat ¹	LD ₅₀ (mg.kg ⁻¹ ž.h.)	Autor ⁷
Bentazón zahraničnej proveniencie ⁸		
Potkan ²	1050	Sedokur (1986)
	1100	Mefnikov a i. (1980)
	1100	Agrochemicals Handbook (1983)
	1100	Pesticide Manual (1979)
Mys ³	428	Sedokur (1986)
	400	Mefnikov a i. (1980)
Králik ⁴	750	Agrochem Handbook (1983)
	750	Mefnikov a i. (1980)
Mačka ⁵	500	Mefnikov a i. (1980)
	500	Agrochemicals Handbook (1983)
Čs. vývojový bentazón ⁹		
Potkan ²	1650	Čerey (1987)
Ovce - jarky ⁶	1950	nami stanovená LD ₅₀ ¹⁰

¹ animal species, ² sewer-rat, ³ mouse, ⁴ rabbit, ⁵ cat, ⁶ ewe-hoggs, ⁷ author, ⁸ bentazon of foreign provenance, ⁹ Czechoslovak developmental bentazon, ¹⁰ determined LD₅₀

a i. (1980) uvádzajú pre potkany 1100 mg, myši 400 mg, králikov 750 mg a mačky 500 mg/kg živej hmotnosti. Rovnaká LD₅₀ zahraničného bentazónu pre uvedené druhy zvierat je uvedená v *Agrochemicals Handbook* (1983). Jeho orálna akútna toxicita pre potkany uvedená v *Pesticide Manual* (1979) je tiež zhodná s LD₅₀ uvádzanou Meľníkovo a i. (1980). Podľa Sedokura (1986) LD₅₀ pre potkany činí 1050 mg/kg živej hmotnosti.

Miera akútnej orálnej toxicity československého bentazónu u potkanov stanovená Čereyom (1987) na 1650 mg/kg poukazuje, že pre potkany je menej toxický ako bentazón zahraničnej proveniencie. Porovnaním nami stanovenej strednej smrteľnej dávky čs. bentazónu u králikov (1139 mg/kg) s orálnou LD₅₀ bentazónu zahraničnej výroby (750 mg/kg) uvádzanou Meľníkovo a i. (1980) vyplýva, že aj pre králikov je menej toxický. Skutočnosť, že aj u bažantov sme zistili jeho nízku akútnu orálnu toxicitu (LD₅₀ = 2918 mg/kg) nasvedčuje, že v porovnaní so zahraničným sa javí ako bezpečnejší herbicíd. Poukazujú na to i naše predchádzajúce toxikologické štúdie u oviec (Neuschla Káčmár, 1992a) u ktorých LD₅₀ činí 1950 mg/kg živej hmotnosti. Z výsledkov stanovenia LD₅₀ čs. bentazónu vyplýva, že v zmysle klasifikácie WHO (1975) patrí medzi málo toxické látky.

Keďže odlišné vehikulum môže do značnej miery ovplyvniť hodnoty LD₅₀ v dôsledku ovplyvnenia resorpčných pochodov, zohľadnili sme túto skutočnosť pri aplikácii tohto herbicídu. Pre možnosť exaktného porovnania nami získaných hodnôt LD₅₀ testovanej látky s hodnotami uvádzanými inými autormi sme preto použili obdobné vehikulum. Voľba použitého vehikula napokon súvisí s fyzikálno-chemickými vlastnosťami bentazónu. Tieto sú rovnaké u domáceho i v zahraničí vyrábaného bentazónu.

Z výsledkov tiež vyplýva, že klinické príznaky otravy sú u oboch druhov zvierat zhodné. Zaznamenané klinické príznaky otravy poukazujú na to, že testovaný bentazón vo vysokých dávkach popri útlmu CNS, ovplyvnenia srdcovej činnosti a zvýšenia telesnej teploty pôsobí negatívne hlavne na respiračný aparát. Skutočnosť, že patanatomickým vyšetrením bola pravidelne registrovaná výrazná hyperémia a edém pľúc, registrované poruchy respirácie dávame primárne do súvislosti s jeho rozvojom. Rovnaký obraz otravy sme zaznamenali aj u oviec (Neuschla Káčmár, 1992a), Nami registrované príznaky otravy zo strany dýchacieho aparátu sú zhodné z príznakmi, ktoré u potkanov popísal Čerey (1987). Podobné príznaky intoxikácie po bentazónu zahraničnej výroby popísal Sedokur (1986) u potkanov a myšiek. Uvádza zrýchlené povrchové dýchanie a dýchavičnosť. Chýbajú akékoľvek údaje, ktoré by potvrdili naše zistenia, že v letálnych a subletálnych dávkach bentazón zvyšuje telesnú teplotu, resp. že rigor mortis nastupuje rýchlo a je výrazný.

Zistenia, že po relatívne vysokých subletálnych dávkach došlo po 2 - 4 dňoch k úplnému uzdraveniu pokusných zvierat svedčí o tom, že čs. bentazón je uvedenými druhmi zvierat dobre znášaný. Na dobrú znášanlivosť subletálnej dávky poukazujú aj výsledky súčasne sledovaných biochemických a hematologických ukazovateľov a histopatologické vyšetrenia, ktorá sú predmetom samostatných publikácií. Tieto zistenia ako aj skutočnosť, že u pokusných zvierat sme súčasne zaznamenali aj jeho nízku LD₅₀ svedčia, že testovaný bentazón sa javí ako bezpečný herbicíd nielen pre

bažanty a králiky, ale pravdepodobne tiež pre zajace a všetky druhy kurovitých vtákov. Pri dodržaní doporučenej technológie a zásad herbicídneho ošetrovania porastu (predpokladá sa použiť 480 g na 100 m²) nebude pre uvedené druhy zvierat predstavovať faktor vyvolávajúci akútne intoxikácie.

Literatúra

AGROCHEMICALS HANDBOOK, The Royal Soc. of Chemistry. The University Nottingham NG 7 2 RD England, 1983, s. 113-114.

ČEREY, K.: Toxikologické zhodnotenie prípravku Bentazon-technický produkt. [Záverečná správa.] Bratislava, VÚPL 1987.

INCZINGER, F.: 13 týždňová chronická perorálna toxicita Bentazonu u potkanov kmeňa Wistar. [Záverečná správa.] Bratislava, Farmaceutická fakulta UK. Katedra farmakodynamiky a toxikológie UK 1987.

KAČMÁR, P. - NEUSCHL, J. - VRZGULA, L. - KONRÁD, V. - JANTOŠOVIČ, J. - MIKULA, J. - ORIŇÁK, A. - BALÁŽ, J. - SITKO, M.: Toxikologická testácia pesticídu bentazonu u oviec v podmienkach subchronickej intoxikácie. [Záverečná správa.] Košice, Vysoká škola veterinárska 1988.

MEENIKOV, N. N. - NOVOŽILOV, K. V. - PYLOVA, T. N.: Chimičeskije svedstva zaščity rastenij. Spravočnik. Moskva, Izd. Chimija 1980, s. 30.

NEUSCHL, J. - KAČMÁR, P.: Akútna orálna toxicita čsl. vývojového herbicídu bentazonu u oviec a klinická symptomatológia otravy. Veterinářství, 42, 1992a, č. 6, s. 215-216.

NEUSCHL, J. - KAČMÁR, P. - LEGÁTH, J. - TOMÁŠ, J.: Vplyv čs. vývojového herbicídu bentazon na niektoré ukazovatele zdravotného stavu oviec v podmienkach subchronickej intoxikácie. Veter. Med. (Praha), 37, 1992b, č. 3, s. 161-167.

PESTICIDE MANUAL, 6th Edition, 1979.

ROTH, Z. a kol.: Statistické metody v experimentální medicíně. Praha, Státní zdravotnické nakladatelství 1962, s. 297-299.

SEDOKUR, K. L.: Spravočnik po pesticidam. Kijev, Izd. Urožaj 1986, s. 218.

WHO CHRONICLE: Recommended classification of pesticides by hazard, 29, 1975, s. 397-401.

ŽAVORONKOV, N. I. - ANTSIFOROV, S. D. - KOVAL, V. A. - MAKHNE, P. M.: Toxic effect of Basagran of fish. In: Amer. Chem. Soc., 1986.

Došlo 27. 5. 1992

NEUSCHL, J. - KAČMÁR, P. (University of Veterinary Medicine, Košice):

Acute oral toxicity of bentazon, Czechoslovak developmental herbicide, to pheasants and rabbits and clinical symptomatology of poisoning.

Vet. Med. - Czech, 38, 1993 (2): 115-121.

Adult rabbits of the New Zealand White breed and pheasants were used to determine the rate of acute oral toxicity (LD₅₀), clinical symptomatology of poisoning of organisms loaded with lethal doses, and the recovery of intoxicated individuals from the toxic effects of bentazon, Czechoslovak developmental herbicide (Research Institute of Chemical Technology, Bratislava), administered at sublethal doses within the framework of obligatory toxicological testing of this herbicide.

The determined acute oral toxicity (LD_{50}) was 1139 mg/kg in rabbits and 2918 mg/kg of live weight in pheasants. The table shows LD_{50} of the tested herbicide for various animal species. The LD_{50} values of bentazon produced abroad (Germany) are also shown for comparison in this table. If the LD_{50} values of both herbicides are compared, Czechoslovak developmental bentazon appears safer. The administration of lethal doses (1110 and 1170 mg/kg in rabbits, 2750 and 3100 mg/kg of live weight in pheasants) resulted in clinical symptoms of poisoning detected predominantly in the respiratory system. Shallow accelerated breathing and dyspnoea, CNS suppression, pronounced increase in body temperature, rapid onset and high intensity of rigor mortis were observed. Animals which died as a result of asphyxia induced by the sublethal doses (1000 mg/kg in rabbits and 2200 mg/kg in pheasants) were observed after 2 - 4 days. Difficult accelerated breathing and increased body temperature disappeared after 1 - 2 days while the remaining symptoms after 2 - 3 days. The loss of appetite persisted for 2 - 4 days.

The results of the LD_{50} determinations of the tested herbicide indicate that it will not produce acute intoxications in pheasants and rabbits provided the recommended technology of herbicidal treatments of crops (480 g per 100 m²) is observed. The above mentioned aspects as well as the findings that the given animal species tolerate this herbicide easily lead to a conclusion that it is safe for rabbits and pheasants. It may likely be safe for all gallinaceous birds and hares. It belongs to the low-toxic substances according to the WHO classification (1975).

bentazon - Czechoslovak developmental herbicide; pheasant; rabbit; medium lethal dose; symptoms of intoxication

Kontaktná adresa:

MVDr. Jozef Neuschl, CSc., Univerzita veterinárskeho lekárstva, Komenského 73,
041 81 Košice
Tel. 095/321 11 - 15, fax 095/767675



**VÝHODNÝ LEASING
STROJŮ A ZAŘÍZENÍ
NEJEN PRO ZAČÍNÁJÍCÍ
PODNIKATELE**

ADEKO a. s. Vám nabízí

- ☐ kapitálovou účast v jiných podnikatelských subjektech
- ☐ společné podnikání
- ☐ poradenskou, konzultační a zprostředkovatelskou činnost v oboru ekologie
- ☐ investorskou a investiční činnost
- ☐ řešení odbytových potíží výrobcům a obchodním organizacím formou leasingového financování

**ADEKO a. s.
Slezská 7
120 56 Praha 2**

**tel.: 258 342
fax: 207 229**



VÝSKYT PROTILÁTEK PROTI LEPTOSPIRÁM V KREVNÍCH SÉRECH LOVNÉ ZVĚŘE

F. Tremel, E. Nesňalová

Vysoká škola veterinární a farmaceutická, Brno

Sérologicky reakcí mikroaglutinace lýze (RMAL) s 12 kmeny leptospir bylo vyšetřeno 792 krevních sér lovné zvěře, náležející k 14 zoologickým druhům. Protilátky pouze proti leptospirám sérovaru *L. grippotyphosa* byly prokázány v krevních sérech šesti vyšetřovaných zoologických druhů zvířat, a to v 50 případech (6,31 %). Krevní séra jelenů (*Cervus elephas*) reagovala v 3,76 %, smců (*Capreolus capreolus*) v 6,61 %, muflonů (*Ovis musimon*) v 2,5 %, divokých prasat (*Sus scrofa*) v 13,93 %, ondatr (*Ondatra zibethica*) v 14,28 %, lišek (*Vulpes vulpes*) v 5,26 %.

lovná zvěř; sérologie; protilátky; leptospiry; *L. grippotyphosa*

Patogenní leptospiry způsobují různě závažná onemocnění lidí, hospodářských zvířat i zvířat volně žijících.

Při rozboru epidemiologie a epizootologie leptospirozy je třeba vycházet ze známého faktu, že leptospiry jsou primárními parazity zvířat, především volně žijících hlodavců, kteří se pak podílejí na vzniku a přetrvávání přírodních a synantropních ohnisek nákazy (A n j a n i n, 1971; Š e b e k, 1985).

Mnohé sérovary leptospir jsou však značně rozšířeny i u některých druhů domácích zvířat, kde pak vytvářejí ohniska anthropológická (S o s o v, 1974; Š e b e k a R o s i c k ý, 1974; E l l i s aj., 1982 a další).

Vzhledem k široké ekologické valenci hlavních rezervoárových zvířat, ale i k velmi širokému okruhu potencioánlních rezervoárů můžeme ohniska leptospirozy nacházet na nejrůznějších typech stanovišť - pole, louky, pastviny, lesy, přírodní, ale i městské parky apod.

Proto je kromě drobných zemních savců věnována pozornost i větším druhům volně žijících savců. Poměrně vysokou séropozitivitu zjistili např. Š e b e k a V o š t a (1958) na Tábořsku u zajíců (kolem 25 %). H o r s c h aj., (1970) u zajíců zjišťovali protilátky proti leptospirám sérovaru *L. grippotyphosa* v 22,5 %. Problematikou leptospiroz lovné zvěře se u nás zabývali především Š e b e k (1960) a Š e b e k a R o s i c k ý (1975). Sérologickým vyšetřením krevních sér lovné zvěře zjistili, že nejčastěji se vyskytujícím sérovarem, který se podílí na infekci zvířat, je sérovar *L. grippotyphosa*. H o r s c h aj. (1970) u lovné zvěře zjistili sporadický výskyt protilátek proti leptospirám sérovaru *L. pomona* a *L. grippotyphosa* u černé zvěře a jelenů. H ü b n e r a H o r s c h (1977) při sérologickém vyšetření volně žijících zvířat nacházeli protilátky proti leptospirám 14 sérovarů u 14,5 % vyšetřovaných zvířat. Převládaly reakce s leptospirami sérovaru *L. grippotyphosa*. Po-

zitivně reagovalo 3,55 % vyšetřovaných srnců, 3,45 % jelenů, 13,4 % černé zvěře a 24,3 % zajíců. Weber a Christoph (1981) zjistili protilátky proti leptospirám šesti sérovarů u jelenů v 2,1 %, srnců v 1,8 %, černé zvěře v 18,6 %. Sérologicky negativní byla vyšetřovaná séra daňků a muflonů. Witt aj. (1986) prokázali protilátky v 9,86 % při vyšetřování sér černé zvěře. Nejčastěji byly reakce prokazovány se sérovarem *L. grippotyphosa*. Witt aj. (1988) v rámci sérologického průzkumu spárkaté zvěře v oblastech, kde již dříve byla prokázána leptospiroza černé zvěře, zjistili protilátky u jelenů v 8,3 % a u srnců v 4,9 %.

Vzhledem k možnosti vyšetřovat séra lovné zvěře v letech 1987 - 1989 jsme se zaměřili na zjišťování etiologické struktury a výskytu protilátek proti leptospirám v těchto sérech.

MATERIÁL A METODA

V průběhu let 1987 - 1989 jsme získali a vyšetřili krevní séra lovné zvěře pocházející z různých honiteb ČR. Počty i druhová pestrost vyšetřované lovné zvěře závisely na iniciativě pracovníků lesních závodů pověřených spoluprací s námi. Celkem bylo vyšetřeno 792 jedinců náležejících k 14 zoologickým druhům.

Séra na přítomnost protilátek proti leptospirám jsme vyšetřovali podle standardní metodiky (Šebek, 1979). K reakci aglutinace lýze bylo použito těchto kmenů leptospir: *L. grippotyphosa* - P 125; *L. icterohaemorrhagiae* - Fryšava; *L. sejroe* - M 84; *L. canicola* C 7; *L. jež bratislava* - Jež Bratislava; *L. pomona* - Šimon; *L. arbores* - M 7; *L. bataviae* - Moldava; *L. bulgarica* - Nikolaevo; *L. sorex jalná* - Sorex Jalná; *L. pyrogenes* - Salinem; *L. tarassovi* - S 42.

Séra reagující v základním ředění 1 : 100 byla vyšetřována s příslušným kmenem do titru.

V žádném případě u vyšetřovaných zvířat nebylo z klinického hlediska podezření na leptospirozu.

VÝSLEDKY

Výsledky vyšetření jsou shrnuty v tab. I, z které je patrné, že v průběhu let 1987 - 1989 bylo vyšetřeno 792 krevních sér lovné zvěře náležejících ke 14 zoologickým druhům a protilátky byly prokazovány v 50 vzorcích, tj. v 6,31 %.

Celkem bylo vyšetřeno: 398 krevních sér jelenů (*Cervus elephas*), tj. 50,2 %; 165 krevních sér divokých prasat (*Sus scrofa*), tj. 20,8 %; 136 krevních sér (*Capreolus capreolus*), tj. 18,6 %; 40 krevních sér muflonů (*Ovis musimon*), tj. 5,0 % z počtu vyšetřovaných. Krevní séra ostatních zvířat byla vyšetřována v menších počtech.

Protilátky byly prokazovány v krevních sérech zvířat šesti zoologických druhů, a to pouze proti leptospirám sérovaru *L. grippotyphosa*.

Nejčastěji byly protilátky prokázány v krevních sérech ondatr (*Ondatra zibethica*), a to ve 14,28 %; divokých prasat (*Sus scrofa*) ve 13,93 %; srnců (*Capreolus capreolus*) v 6,61 %; lišek (*Vulpes vulpes*) v 5,26 %; jelenů (*Cervus elephas*) v 3,76 %; muflonů (*Ovis musimon*) v 2,5 %.

V krevních sérech zvířat ostatních zoologických druhů nebyly protilátky prokázány.

DISKUSE

V práci byl sledován výskyt protilátek proti leptospirám v krevních sérech lovné zvěře. Protilátky byly prokázány v 50 případech vyšetřovaných vzorků, tj. 6,31 %, a to u šesti zoologických druhů ze 14 vyšetřovaných. Vyšetřovaná séra reagovala pouze s leptospirami sérovaru *L. grippotyphosa*.

Výrazně nejčastější výskyt protilátek byl zaznamenán u prasete divokého (13,93 %). Obdobné výsledky publikovali Š e b e k (1960), H ü b n e r a H o r s c h (1977), W e b e r a C h r i s t o p h (1981) a W i t t aj. (1986), kteří při sérologickém vyšetřování více druhů lovné zvěře nacházeli u prasete divokého nejvyšší sérologickou pozitivitu.

Stejně tak výskyt protilátek u srnců (6,61 %) a jelenů (3,76 %) přibližně odpovídá výsledkům výše uvedených autorů. V jejich šetřeních sice také dominoval výskyt protilátek proti leptospirám sérovaru *L. grippotyphosa*, přesto však prokazovali protilátky i k jiným sérovarům leptospi, např. *L. interohaemorrhagiae*, *L. ballum* a *L. pomona* (W e b e r a C h r i s t o p h, 1981; W i t t aj., 1988).

I. Výsledky sérologického vyšetření krevních sér lovné zvěře na přítomnost protilátek proti leptospirám - The results of serological examination of blood sera of the game for the presence of antibodies to *Leptospiras*

Vyšetřovaný druh ¹	Celkem vyšetřeno ²	Pozitivní ³	%
Jelen lesní (<i>Cervus elephas</i>)	398	15	3,76
Srnc obecný (<i>Capreolus capreolus</i>)	136	9	6,61
Muflon (<i>Ovis musimon</i>)	40	1	2,50
Daněk skvrnitý (<i>Dama dama</i>)	10	0	0
Prase divoké (<i>Sus scrofa</i>)	165	23	13,93
Zajíc polní (<i>Lepus europaeus</i>)	3	0	0
Králík divoký (<i>Oryctolagus cuniculus</i>)	1	0	0
Ondatra pižmová (<i>Ondatra zibethica</i>)	7	1	14,28
Liška obecná (<i>Vulpes vulpes</i>)	19	1	5,26
Tchoř tmavý (<i>Putorius putorius</i>)	1	0	0
Kuna skalní (<i>Martes foina</i>)	1	0	0
Kuna lesní (<i>Martes martes</i>)	7	0	0
Lasice kolčava (<i>Mustela nivalis</i>)	3	0	0
Jezevec lesní (<i>Meles meles</i>)	1	0	0
Celkem ⁴	792	50	6,31

¹examined zoo-species, ²total number of examined animals, ³positive, ⁴total

Protilátky proti leptospirám nejsou prokazovány jenom u lovné zvěře, ale vyskytují se i u škodné. Naše šetření však prokazují pouze sporadický výskyt protilátek proti leptospirám u lišky. Je však třeba brát v úvahu, že byly vyšetřovány relativně malé soubory zvířat. Š e b e k a R o s i c k ý (1975) prokázali u škodné (lišky, tchoři, kuny) podstatně vyšší séropozitivitu, a to od 34,3 % do 46,8 %. H a t h a - w a y a j. (1983) často prokazovali protilátky proti leptospirám u jezevců, vyder, lišek a poukazovali přitom na zvláštnosti ekologických podmínek ve Velké Británii.

Vysoké procento séropozitivity jsme zjistili u ondatr (14,28 %). I v tomto případě je zapotřebí výsledky hodnotit obezřetně, neboť byl vyšetřován pouze malý počet jedinců. Avšak podle našich dřívějších šetření, ale i prací Š e b e k a a R o - s i c k é h o (1975), popřípadě D e s m e c h t a a C o l i n a (1988), je možno řadit ondatru mezi potencionální zdroje onemocnění leptospirami, způsobované především sérovarem *L. grippotyphosa*. Uvedení autoři prokazovali při vyšetřeních vysokou sérologickou pozitivitu a podařila se i izolace původce z vyšetřovaných zvířat.

Námi dosažené výsledky v porovnání s našimi a zahraničními autory ukazují značnou vnímavost lovné zvěře k infekci různými sérovary leptospir. Je však možno konstatovat, že tato zvířata, až na malé výjimky, nemají významnou roli v epizootologii leptospirozy. Spíše je možno předpokládat, že se tato zvířata, podobně jako i ostatní domácí zvířata a člověk, infikují v prostředí, které je kontaminováno rezervoárovými zvířaty patogenních leptospir, jimiž jsou, jak u nás tak i v jiných státech, především volně žijící drobní zemní savci. K infekci dochází především z nekontrolovaných vodních zdrojů, ale i z vnějšího prostředí kontaminovaného močí infikovaných mikromamalií.

Literatura

- ANJANIN, V. V.: Leptospiroz lidí a životných. Moskva, Medicina 1971, 352 s.
- DESMECHT, M. - COLIN, G.: Isolement en Belgique d'un leptospire du serogroupe grippotyphosa chez 1 ondatra. Ann. Méd. vétér., 1988, s. 693-696.
- ELLIS, W. A. - O BRIEN, J. J. - NEILL, S. D. - FERGUSON, H. W. - HANNA, J.: Bovine leptospirosis. Veter. Rec., 13, 1982, s. 147-150.
- HATHAWAY, S. C. - LITTLE, T. W. A. - HEADLAM, S. A. - STEVENS, A. S.: Infection free-living carnivores of the Australis serogroup. Veter. Rec., 113, 1983, s. 233-235.
- HORSCH, A. - KLOCKMANN, J. - JANETZKY, B. - DRECHSLER, H. - LÖBNITZ, P.: Untersuchungen von Wildtieren auf Leptospirose. Mh. Veter. - Med. (Jena), 25, 1970, s. 634-639.
- HÜBNER, J. - HORSCH, P.: Untersuchungen zum Leptospirosegeschehen unter heimischen Wildtieren. Mh. Veter. - Med. (Jena), 32, 1977, s. 175-177.
- SOSOV, R. F.: Leptospiroz. In.: Infekcionnye bolezni krupnogo rogatogo skota. Moskva, 1974, s. 294-309.
- ŠEBEK, Z.: Leptospirose - untersuchungen beim Jagdwild. Angew. Parasitol., 1, 1960, s. 52-56.
- ŠEBEK, Z.: Standardní metoda laboratorní diagnostiky leptospirozy. Acta hyg. epidem. microbiol., příloha č. 2, 1979, 18 s.
- ŠEBEK, Z.: Problematika přírodní ohniskovosti epizootologie a epidemiologie leptospiroz v ČSR. Veterinářství, 35, 1985, s. 512-544.
- ŠEBEK, Z. - ROSICKÝ, B.: K rozšíření, charakteristice a struktuře ohnisek leptospirozy v ČSSR. Českoslov. Epidem., Mikrobiol., Imunol., 23, 1974, s. 10-21.

- ŠEBEK, Z. - ROSICKÝ, B.: Die Verbreitung und biotische Struktur der Leptospiroseherde in einigen Europäischen Staaten. Zbl. Bakt. Hyg., I. Abt. Orig. A, 233, 1975, s. 380-399.
- ŠEBEK, Z. - VOŠTA, J.: Výsledky sérologického vyšetřování zajíců na leptospiry. Českoslov. Epidem., Mikrobiol., Imunol., 7, 1958, s. 336-338.
- WEBER, A. - CHRISTOPH, H.: Seroepidemiologische Untersuchungen zum Vorkommen von Leptospirosen bei Schalenwild in der Bundesrepublik Deutschland. Z. Jagdwiss., 27, 1981, s. 283-287.
- WITT, W. - FREDEL, U. - WINTER, E.: Zum Vorkommen von Leptospiiren - Antikörpern bei Wildschweinen. Mh. Veter. - Med., 41, 1986, s. 153-155.
- WITT, W. - DEDEK, J. - LOPELMANN, H.: Zum Vorkommen von Leptospiiren - Antikörpern beim Rot-, Reh-, Dam-, und Muffewild. Mh. Veter. - Med., 43., 1988, s. 65-67.

Došlo 27. 4. 1992

TREML, F. - NESŇALOVÁ, E. (University of Veterinary and Pharmaceutical Sciences, Brno):

The occurrence of antibodies to *Leptospira* in the blood serum of game.

Vet. Med. - Czech, 38, 1993 (2): 123-127.

The blood serum of game was examined for the presence of antibodies to *Leptospiras* in 1987 - 1989. A total of 792 blood sera from animals belonging to 14 zoo-species were examined (Tab. I). The blood serum of red deer (*Cervus elephus*) was examined the most often within the group of animals, in 398 cases, i.e. 50.2 %, followed by 165 blood sera of wild boar (*Sus scrofa*), representing 20.8 %, and by 136 blood sera of roedeer (*Capreolus capreolus*), representing 18.6 %. Small numbers of blood sera of the other animals were examined.

A serological reaction of microagglutination - lysis revealed the antibodies to *Leptospiras* in fifty examined samples, i.e. 6.31 %, of the six examined zoo-species: muskrat (*Ondatra zibethica*) 14.28 %, wild boar (*Sus scrofa*) 13.93 %, roedeer (*Capreolus capreolus*) 6.76 %, fox (*Vulpes vulpes*) 5.26 %, red deer (*Cervus elephus*) 3.76 %, mouflon (*Ovis musimon*) 2.50 %. No antibodies to *Leptospiras* were found in the blood serum of the other animal species (Tab. I).

Twelve strains of *Leptospira* were used for serological examination according to the standard method (Š e b e k , 1979). The examined blood sera of game reacted only with *Leptospiras* of the serotype L. grippotyphosa. No reaction with other *Leptospira* serotypes was observed.

Our results have demonstrated, in comparison with the results of foreign authors, great susceptibility of the game to infection with different serotypes of *Leptospira*. But it is possible to say that with certain exceptions these game species do not play an important role in the epidemiology of Leptospirosis.

game; serology; antibodies; *Leptospiras*; *Leptospira grippotyphosa*

Kontaktní adresa:

Doc. MVDr. František T r e m l , CSc., Vysoká škola veterinární a farmaceutická, Palackého 1 - 3, 612 42 Brno
Tel. 05/7110

Upozornění pro přispěvatele časopisu

Veterinární medicína

V rámci modernizace výroby přechází naše redakce na vydávání časopisu pomocí DTP. Autory, kteří chtějí publikovat svoje příspěvky v časopise Veterinární medicína a mají možnost je pořizovat na PC, proto žádáme, aby texty příspěvků posílali současně s disketou. Po zkopírování textu bude diske-
ta vrácena zpět autorům.

Pro zpracování textu pomocí DTP je pro nás nejvhodnější textový editor T602. Pokud používáte jiný editor, prosíme o převedení do souboru v ASCII kódu. Obrázky pořizované počítačem je možno publikovat přímo, pokud jsou v souboru .TIF.

Pořizování příspěvků na PC není podmínkou pro přijetí do tisku, to znamená, že redakce bude i nadále přijímat příspěvky pořizované na psacím stroji.

Doufáme, že toto opatření se u autorů setká s příznivým ohlasem.

Redakce časopisu

OBSAH — CONTENTS

Jalč D., Baran M., Siroka P.: Vplyv flavomycínu, salinomycínu a lasalocidu na fermentáciu kŕmnej dávky <i>in vitro</i> — The effects of flavomycin, salinomycin and lasalocid on the fermentation of feed ration <i>in vitro</i>	65
Jonecová Z., Mareková M., Kmeť V.: Výskyt kmeňov streptokokov rezistentných na antibiotiká v bachorovom obsahu teliat — The occurrence of antibiotic-resistant strains of streptococci in the ingesta of calves	75
Urbanová E.: Zrychlená metóda stanovení psychrotrofních baktérií v syrovém mléce — An accelerated procedure of determination of psychrotrophic bacteria in raw milk	83
Hvozdík A.: Etologická determinácia materského správania u ošípaných — Ethological determination of maternal behaviour in pigs	89
Lenártová V., Holovská K., Rybošová E., Javorský P., Legáth J.: Vplyv supermetrinu na amoniak-utilizujúce enzýmy bachorových baktérií — The effects of supermethrin on ammonia-utilizing enzymes of rumen bacteria	99
Lauková A.: Vlastnosti adherentných stafylokokov izolovaných z bachorovej steny jahniat — The properties of adherent staphylococci isolated from the rumen wall of lambs	107
Neuschl J., Kačmár P.: Akútna orálna toxicita československého vývojového herbicidu bentazón u bažantov a králikov a klinická symptomatológia otravy — Acute oral toxicity of bentazon, Czechoslovak developmental herbicide, to pheasants and rabbits and clinical symptomatology of poisoning	115
Tremel F., Nesňalová E.: Výskyt protilátok proti leptospirám v krvných sérech lovné zvěře — The occurrence of antibodies to <i>Leptospira</i> in the blood serum of game	123

Vědecký časopis VETERINÁRNÍ MEDICÍNA ● Vydává Česká akademie zemědělských věd a Slovenská akadémia pôdohospodárskych vied - Ústav zemědělských a potravinářských informací ● Vychází měsíčně ● Redaktorka: ing. Zdenka Radošová ● Redakce: Slezská 7, 120 56 Praha 2, tel.: 02/257541 ● Sazba: Studio DOMINO - ing. Jakub Černý, Popovice 144, 267 01 Králův Dvůr, tel.: 0311/22959 ● Tisk: OSTRAVSKÉ TISKÁRNY, Novinářská 7, 709 00 Ostrava 1 ● © Ústav zemědělských a potravinářských informací, Praha 1993

Rozšiřuje PNS. Informace o předplatném podá a objednávky přijímá každá administrace PNS, doručovatel tisku a Administrace centralizovaného tisku, Kafkova 19, 160 00 Praha 6.